

**НАМАНГАН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ  
ДАРАЖА БЕРУВЧИ PhD.28.09.2018.V.76.01  
РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**НАМАНГАН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ**

**БАКИЕВА МУАЗЗАМ ШАРИФЖОНОВА**

**АЙРИМ ДИТЕРПЕНОИД АЛКАЛОИДЛАРНИНГ (АТИЗИН,  
ДИГИДРОАТИЗИН, ГЕТЕРАТИЗИН, 6–О–БЕНЗОИЛГЕТЕРАТИЗИН)  
ВАЗОРЕЛАКСАНТ ТАЪСИРИНИ ТАВСИФЛАШ**

**03.00.08 – Одам ва ҳайвонлар физиологияси**

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

**Наманган – 2019**

**Биология фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси  
автореферати мундарижаси**

**Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD) по  
биологическим наукам**

**Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD) on biological  
sciences**

**Бакиева Муаззам ШАРИФЖОНОВНА**

Айрим дитерпеноид алкалоидларнинг (атизин, дигидроатизин, гетератизин, 6-О-бензоилгетератизин) вазорелаксант таъсирини тавсифлаш.....3

**Бакиева Муаззам ШАРИФЖОНОВНА**

Характеристика вазорелаксантное действие некоторых дитерпеноидных алкалоидов (атизина, дигидроатизина, гетератизина, 6-О-бензоилгетератизина).....21

**Bakieva Muazzam Sharifdjanovna**

The characteristic of vasorelaxant effects of the some diterpene alkaloids (atisine, dihydroatisine, heteratisine, 6-O-benzoyl heteratisine).....39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works.....43

**НАМАНГАН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ  
ДАРАЖА БЕРУВЧИ PhD.28.09.2018.V.76.01  
РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**НАМАНГАН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ**

**БАКИЕВА МУАЗЗАМ ШАРИФЖОНОВНА**

**АЙРИМ ДИТЕРПЕНОИД АЛКАЛОИДЛАРНИНГ (АТИЗИН,  
ДИГИДРОАТИЗИН, ГЕТЕРАТИЗИН, 6–О–БЕНЗОИЛГЕТЕРАТИЗИН)  
ВАЗОРЕЛАКСАНТ ТАЪСИРИНИ ТАВСИФЛАШ**

**03.00.08 – Одам ва ҳайвонлар физиологияси**

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

**Наманган – 2019**

**Биология фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2019.1.PhD/B276 рақам билан рўйхатга олинган.**

Диссертация иши Наманган давлат университетида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифасида ([www.namdu.uz](http://www.namdu.uz)) ва «ZiyoNet» Ахборот-таълим порталида ([www.ziyounet.uz](http://www.ziyounet.uz)) жойлаштирилган.

<b>Илмий раҳбар:</b>	<b>Зайнабидинов Анвар Эркинжанович</b> биология фанлари доктори, доцент
<b>Расмий оппонентлар:</b>	<b>Саидбаева Лола Мухамедовна</b> биология фанлари доктори, профессор <b>Гайибов Улуғбек Гаппаржанович</b> биология фанлари бўйича фалсафа доктори
<b>Етакчи ташкилот:</b>	<b>Тошкент давлат педагогика университети</b>

Диссертация ҳимояси Наманган давлат университети ҳузуридаги илмий даража берувчи PhD.28.09.2018.B.76.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2019 йил «\_\_» \_\_\_\_\_соат \_\_\_\_ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 160119, Наманган шаҳри, Уйчи кўчаси, 316–уй. Тел.: (+99869) 227–06–12; факс: (+99869) 227–07–61; E-mail: [info@namdu.uz](mailto:info@namdu.uz)).

Диссертация билан Наманган давлат университетининг Ахборот–ресурс марказида танишиш мумкин (\_\_\_\_ рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 160119, Наманган шаҳри, Уйчи кўчаси, 316–уй. Тел.: (+99869) 227–29–81.).

Диссертация автореферати 2019 йил «\_\_» \_\_\_\_\_ куни тарқатилди.  
(2019 йил «\_\_» \_\_\_\_\_ даги №\_\_\_\_ рақамли реестр баённомаси).

**А.Э.Зайнабидинов**  
Илмий даража берувчи  
илмий кенгаш раиси, б.ф.д.  
**Х.Э.Эргашева**  
Илмий даража берувчи  
илмий кенгаш илмий  
котиби, биология фанлари  
бўйича фалсафа доктори  
**А.Р.Батошов**  
Илмий даража берувчи  
илмий кенгаш қошидаги  
илмий семинар раиси, б.ф.д

## КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

**Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати.** Дунё миқёсида кардиоваскуляр тизим касалликлари долзарб тиббий–ижтимоий, иқтисодий масалаларидан бири саналади. Ушбу касалликлар орасида артериал гипертониянинг учраш частотаси юқори бўлиб, терапевтик мақсадларда ~200 дан ортиқ фармакологик препаратлардан фойдаланилади. Бирок, бу препаратларнинг 3/2 қисмини қўшимча салбий таъсири хам мавжуддир. Ўз навбатида синтетик аналогларига нисбатан токсик таъсир даражаси паст бўлган, ўсимлик хомашёси асосида яратилган импорт ўрнини босувчи фармакологик препаратларни яратиш давр талаби ҳисобланади. Айниқса, маҳаллий ўсимликлардан ажратиб олинган биологик фаол моддалар асосида самарали фармакологик препаратларни яратиш муҳим аҳамиятга эга.

Бугунги кунда жаҳонда юрак қон-томир касалликларни олдини олиш ва даволашда таркибида табиий бирикмалар сақлаган препаратларни ўрганишга катта эътибор қаратилмоқда. Кучли кардиопротектор хусусиятларини намоён қиладиган биологик фаол моддалардан бири бу дитерпеноид алкалоидлар бўлиб, уларнинг ҳозирда 400 дан ортиқ турлари фанга маълум. Ушбу алкалоидларнинг асосий потенциал манбаларидан бири *Aconitum L* ўсимлик турлари бўлиб, улардан ажратиб олинган дитерпеноид алкалоидлар юрак-қон томир касалликларини даволашда ва дори воситаларини яратишда истиқболли манба бўлиб хизмат қилмоқда. Лекин шундай бўлишига қарамай уларнинг айримларигина кардиотроп, спазмолитик ва гипотензив таъсирга эга бўлиб, тажрибаларда вазорелаксант фаоллигини намоён қилади. Бу йўналишда илмий тадқиқотларни янада изчил давом эттириш, кардиоваскуляр терапия амалиётида самарали даволаш чора–тадбирлари комплексини ишлаб чиқиш ва амалиётга жорий қилиш долзарб муаммолардан бири ҳисобланади.

Республикамызда кардиоваскуляр касалликларни даволашда сезиларли ислохотлар амалга оширилмоқда жумладан, маҳаллий ўсимликларидан кўплаб дитерпеноид алкалоидлар ажратиб олинган ва улар асосида «Аллапинин», «Цитизин» ва «Галантамин» каби препаратлар ишлаб чиқилган. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси 4-йўналишида «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларни арзон, сифатли дори воситалари билан таъминланишини яхшилаш»<sup>1</sup> юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган. Ушбу вазифалардан келиб чиккан холда, *Aconitum L*. ўсимлик турларидан ажратиб олинган атизин, дигидроатизин, гетератицин ва б-О-бензоилгетеротицин дитерпеноид алкалоидларининг кимёвий структурасига боғлиқ вазорелаксант таъсирини қиёсий тавсифлаш муҳим аҳамиятни касб этади.

---

<sup>1</sup> Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони ҳамда Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 ноябрдаги ПФ-4947-сон «Фармацевтика тармоғини бошқариш тизимини тубдан такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида» Фармони ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

**Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги.** Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялари ривожлантиришнинг VI «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.** Дунё миқёсида *Aconitum L.* (*Ranunculaceae*) ўсимлик турларидан дитерпеноид алкалоидларни ажратиб олиш, кимёвий идентификациялаш ва фармакологик фаоллигини ўрганиш йўналишида Benn M.H. ва Jacyno J.M. (1983), Chen D. (1984), Martinsen A. et al. (2010), Oliveira A.P. et al. (2006), Ribeiro L.A. et al. (2007), Kour G.D. et al. (2016) каби кўплаб тадқиқотларчилар иш олиб боришган. МДХ миқёсида ушбу йўналишда Nesterova Yu.V. et al. (2010), Terenteva E.O. et al. (2011), Юнусов М.С. (2014) томонидан амалга оширилган.

Республикамиз миқёсида *Aconitum L.* ўсимлик турларидан ажратиб олинган дитерпеноид алкалоидлар кимёси/фармакологияси йўналишида Салимов Б.Т., (2007), Sultankhodzhaev M.N. et al. (2002), Джахангиров Ф.Н. (2001), Валиев Н.В. ва бошқ. (2018) томонидан кенг спектрдаги илмий-амалий тадқиқотлар амалга оширилган. Шунингдек, *Aconitum L.* ўсимлик турларидан ажратиб олинган бир қатор дитерпеноид алкалоидларнинг кимёвий структурасига боғлиқ кардиоваскуляр таъсир механизмлари Есимбетов А.Т. (2007), Хушматов Ш.С. (2010), Zaynabiddinov A.E. et al. (2015), Usmanov P.V. et al. (2017) томонидан ўрганилган. Ҳозирги вақтда *Aconitum L.* (*Ranunculaceae*) ўсимлик турларидан ажратиб олинган кўпгина дитерпеноид алкалоидлар амалий фармацевтика ва экспериментал тадқиқотларда кенг миқёсда фойдаланилади. Жумладан, республикамизда ЎЗРФА Ўсимлик моддалари кимёси институти ходимлари томонидан маҳаллий ўсимлик турларидан ~200 дан ортиқ дитерпеноид алкалоидлар ажратиб олинган ва кимёвий идентификацияланган. Бироқ, ушбу алкалоидларнинг кўпчилигининг фармакологик фаоллиги, жумладан вазорелаксант таъсир механизмлари тўлиқ аниқланмаган ва шу сабабли, илмий тадқиқотларни давом эттириш назарий-амалий нуқтаи назардан долзарб аҳамиятга эга.

**Тадқиқотнинг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги.** Диссертация тадқиқоти Ўзбекистон Миллий университети ҳузуридаги Биофизика ва биокимё институтининг илмий-тадқиқот ишлари режасининг ФА-ФЗ-Т144 «Табиий биологик фаол моддалар юрак ва силлиқ мускул

хужайралари ион каналларининг модуляция механизмларини ўрганиш» (2007-2011) мавзусидаги илмий лойиҳа доирасида бажарилган.

**Тадқиқотнинг мақсади** *Aconitum* L. ўсимлик турларидан ажратиб олинган атизин, дигидроатизин, гетератизин, 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидларининг кимёвий структурасига боғлиқ вазорелаксанти таъсирини қиёсий тавсифлашдан иборат.

**Тадқиқотнинг вазифалари:**

атизин, гетератизин, дигидроатизин, 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидларининг вазорелаксанти таъсирида  $Ca^{2+}$ -каналларининг иштирокини аниқлаш;

атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоилгетератизин дитерпеноид алкалоидларининг вазорелаксанти таъсирида SOCC/ROCC нинг иштирокини ўрганиш;

гетератизин ва 6-О-бензоилгетератизин дитерпеноид алкалоидларининг вазорелаксанти таъсирида NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG реакциялар каскадининг иштироки асослаш;

гетератизин ва 6-О-бензоилгетератизин дитерпеноид алкалоидларининг вазорелаксанти таъсирида  $K^{+}$ -каналларининг иштирокини аниқлаш;

атизин, гетератизин, дигидроатизин, 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидларнинг кимёвий структурасига боғлиқ фармакологик фаоллигини тавсифлаш.

**Тадқиқотнинг объекти** *Aconitum* L. (*Ranunculaceae*) ўсимлик турларидан ажратиб олинган атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидлари, каламуш аорта қон томир препаратлари ҳисобланади.

**Тадқиқотнинг предмети** *Aconitum* L. (*Ranunculaceae*) ўсимлик турларидан ажратиб олинган атизин, гетератизин, дигидроатизин ва 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидларининг *in vitro* шароитида механография ҳамда ингибиторли таҳлил услублари ёрдамида вазорелаксанти таъсирини қиёсий тавсифлаш ҳисобланади.

**Тадқиқотнинг усуллари.** Тадқиқот давомида стандарт биофизик-физиологик тадқиқот услублари, жумладан *in vitro* шароитда қон томир препаратининг изометрик қисқариш фаоллигини қайд қилиш (механография), ингибиторли таҳлил услубларидан ҳамда олинган натижаларни қайта ишлашда OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060-4401, АҚШ) математик-статистик таҳлил дастур пакетидан фойдаланилган.

**Тадқиқотнинг илмий янгилиги** қуйидагилардан иборат:

атизин, гетератизин, дигидроатизин, 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидлари яққол ифодаланган вазорелаксанти фаолликка эга бўлиб, бу таъсир уларнинг кимёвий структураси ва фойдаланилган концентрациясига боғлиқлиги аниқланган;

атизин, гетератизин, дигидроатизин ва 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидларининг вазорелаксанти таъсири  $Ca^{2+}_L$ -каналлари, шунингдек SOCC/ROCC блокадаси билан боғлиқлиги очиби берилган;

атизин ва дигидроатизин дитерпеноид алкалоидларининг вазорелаксанти таъсири қисман  $Na^+$ -каналлари блокадаси билан боғлиқлиги исботланган;

кимёвий структурасида С(6)-позицияда бензоил гуруҳи жойлашганлиги фарқланувчи 6-О-бензоилгетератизиннинг вазорелаксанти таъсири  $Ca^{2+}_L$ -каналлари, SOCC/ROCC блокадаси билан биргаликда, NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG реакциялар каскади билан комплекс ҳолатда  $K^+$ -каналлари ( $K_V$ -канал,  $K_{ATP}$ -канал) активацияси билан боғлиқлиги очиби берилган.

**Тадқиқотнинг амалий натижалари** қуйидагилардан иборат:

*Aconitum* L. ўсимлик турларидан ажратиби олинган атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидлари кимёвий структурасига ва фойдаланилган концентрациясига боғлиқ вазорелаксанти таъсири аниқланган;

*Aconitum* L. ўсимлик турларидан ажратиби олинган 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидининг қон томир силлиқ мускул хужайраларида  $Ca^{2+}_L$ -каналлари, SOCC/ROCC, NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG реакциялар каскади ва  $K^+$ -каналлари фаоллиги коррекцияси орқали  $[Ca^{2+}]_{in}$  динамикаси модуляцияси асосида вазорелаксанти таъсири очиби берилган.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги** замонавий биофизик-физиологик тадқиқот усуллари қўллаш орқали олинган натижаларни назарий маълумотларга мос келади. Назорат ва тажриба ўртасидаги фарқ t-Стьюдент критерийси ва ишончлилик кўрсаткичи (P) ёрдамида аниқланган. Олинган натижаларнинг исботи уларнинг республика ва ҳалқаро анжуманлардаги муҳокамаси, натижаларнинг рецензияланган илмий нашрларда чоп этилиши билан изоҳланади.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти қон томир силлиқ мускул хужайраларида  $[Ca^{2+}]_{in}$  гомеостазининг доривор ўсимликлардан ажратиби олинган дитерпеноид алкалоидлар ёрдамида фармакологик регуляция механизмлари бўйича назарий билимлар диапазонини кенгайтириши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти *Aconitum* L. ўсимлик турларидан ажратиби олинган атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидларининг фойдаланилган концентрацияси ва кимёвий структурасига боғлиқ аниқланган вазорелаксанти таъсир механизмлари, гипертония терапияси мақсадида самарали вазорелаксанти фармакологик препаратлар яратишга хизмат қилиши билан изоҳланади.

**Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши.** *Aconitum* L. ўсимлик турларидан ажратиби олинган дитерпеноид алкалоидларининг фойдаланилган концентрацияси ва кимёвий структурасига боғлиқ вазорелаксанти таъсирини қиёсий тавсифлаш бўйича олинган натижалар асосида:

атизин, дигидроатизин алкалоидларининг  $\text{Ca}^{2+}$ -каналли фаоллигини сусайтирувчи таъсири ФА-А10-Т086 рақамли «Алкоголизм ва унга боғлиқ асоратларни даволаш ва профилактика қилишнинг янги услубларини ишлаб чиқиш» фундаментал лойиҳасида атизин ва дигидроатизиннинг кардиоинотроп таъсирини тавсифлаш учун фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2019 йил 19 июлдаги 4/1255-1738-сон маълумотномаси). Натижалар атизин ва дигидроатизиннинг релаксант таъсирида  $\text{Ca}^{2+}$ -каналли блокадасининг иштирокини тавсифлаш имконини берган;

6-О-бензоилгетеротизин алкалоидининг кимёвий структурасига боғлиқ вазорелаксант таъсири ФА-А11-Т060 рақамли «Перспектив иммуномодулятор ва саратонга қарши препаратлар сифатида хужайра ҳажм бошқарилиши ва ҳажмга боғлиқ анион каналларининг янги модуляторларини излаш» лойиҳасида иммуномодулятор ва саратонга қарши препаратларнинг хужайра ҳажм бошқарилиши ва ҳажмга боғлиқ анион каналлари янги модуляторларининг хусусиятларини тавсифлашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2019 йил 23 сентябрдаги 4/1255–2532-сон маълумотномаси). Натижалар 6-О-бензоилгетеротизиннинг вазорелаксант таъсирида иммуномодулятор ва саратонга қарши препаратларнинг хужайра ҳажм бошқарилиши ва ҳажмга боғлиқ анион каналлари янги модуляторларининг хусусиятларини тавсифлаш имконини берган.

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Мазкур тадқиқот натижалари 2 та халқаро ва 3 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги.** Диссертация мавзуси бўйича жами 10 та илмий иши чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларларнинг асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 5 та мақола, жумладан 3 таси республика ва 2 таси хорижий журналларда нашр этилган.

**Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми.** Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, хулосалар ва фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 116 бетни ташкил этган.

## ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

**Кириш** қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурати асосланган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объект ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «Дитерпеноид алкалоидларнинг қисқача фармакологияси» деб номланган биринчи бобида *Aconitum L.* (*Ranunculaceae*) ўсимлик турларидан ажратиб олинган дитерпеноид алкалоидларнинг кимёвий классификацияси, фармакологияси, шунингдек дитерпеноид алкалоидлар асосида кардиоваскуляр фармакологик препаратлар ишлаб чиқиш истиқболлари ҳақида маълумотлар келтирилган.

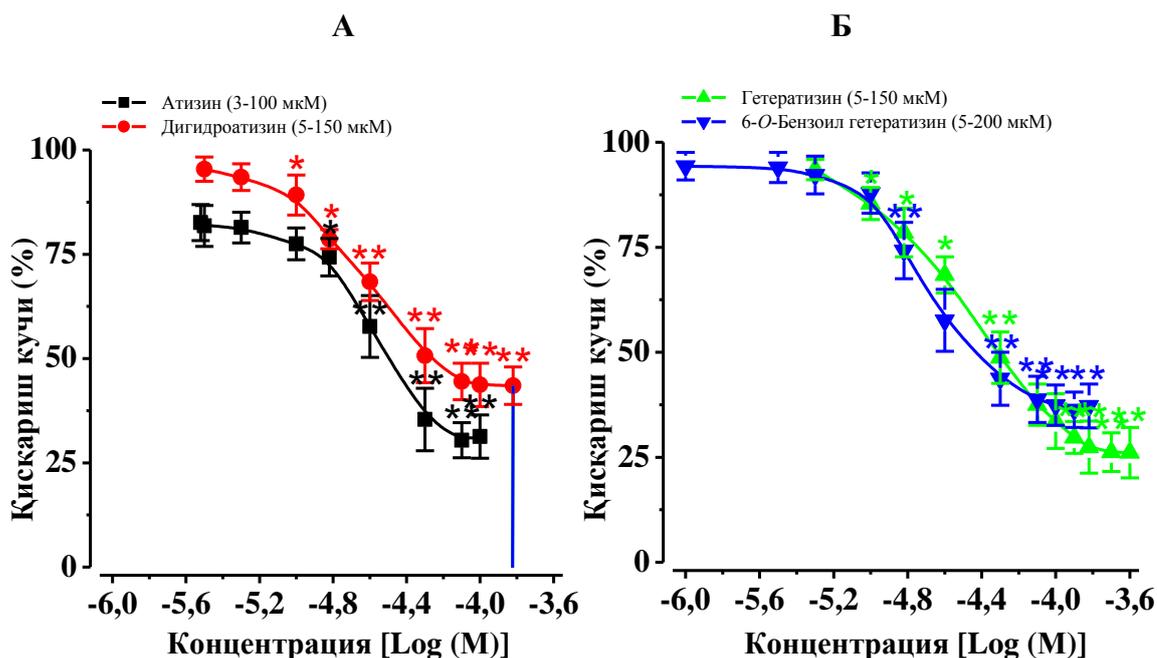
Диссертациянинг «Қон томир девори силлиқ мускул хужайралари функционал фаоллигининг регуляция механизмлари» деб номланган иккинчи бобида қон томир девори силлиқ мускул хужайраларининг тузилиши, функцияси, силлиқ мускул хужайраси плазмолеммасида жойлашган ион-транспорт тизимлари ( $\text{Ca}^{2+}$ -каналлари,  $\text{Na}^+$ -каналлари,  $\text{K}^+$ -каналлари,  $\text{Cl}^-$ -каналлари, TRPV4-каналлари,  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашув тизими,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза), саркоплазматик ретикулумда (СПР) жойлашган ион-транспорт тизимлари ( $\text{IP}_3$ -рецептори, рианодин рецептори,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазаси), қон томир эндотелий хужайраларининг фермент ва ион-транспорт тизимларининг структураси, функцияси ва фармакологик регуляция механизмлари ҳақида маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «Қон томир силлиқ мускул хужайралари функционал фаоллигини қайд қилиш услублари» деб номланган учинчи бобида тадқиқот шароити ва материаллари, ўрганилган дитерпеноид алкалоидлар, тажриба ҳайвонлари, аорта қон томир препаратини тайёрлаш ва изометрик шароитда қисқариш фаоллигини қайд қилиш услуби, ҳамда тажрибаларда фойдаланилган кимёвий реактивлар ҳақида батафсил маълумотлар келтирилган. Шунингдек, тажриба протоколлари (схемалари), жумладан  $\text{Ca}^{2+}$ -каналли фаоллигини ўрганиш, SOCC/ROCC фаоллигини ўрганиш,  $\text{K}^+$ -каналлари фаоллигини ўрганиш, эндотелийга боғлиқ қисқариш фаоллигини ўрганиш, олинган натижаларни математик-статистик қайта ишлаш услублари баён қилинган.

Диссертациянинг «Дитерпеноид алкалоидларнинг (атизин, дигидроатизин, гетератизин, 6-О-бензоилгетератизин) вазорелаксант таъсири» деб номланган тўртинчи бобида амалга оширилган тажриба натижалари ва уларнинг таҳлили келтирилган.

Атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоилгетератизин дитерпеноид алкалоидларининг аорта силлиқ мускул препаратидида *KCl* таъсирида чақирилган қисқаришга таъсири. Тажрибаларда атизин (3-100 мкМ), дигидроатизин (5-150 мкМ), гетератизин (5-150 мкМ) ва 6-О-бензоилгетератизин (5-200 мкМ) дитерпеноид алкалоидлари каламуш аорта қон томирининг *KCl* (50 мМ) ёрдамида юзага келтирилган изометрик қисқариш фаоллигига (*in vitro*) сезиларли даражада вазорелаксант таъсир кўрсатиши аниқланди. Жумладан, атизин 3 мкМ концентрацияда қисқариш кучини назоратга нисбатан  $17,4 \pm 4,3\%$  га камайтириши ва максимал 100 мкМ концентрацияда  $68,7 \pm 5,2\%$  га камайтириши аниқланди. Шунингдек, дигидроатизин 5 мкМ концентрацияда қисқариш кучини назоратга нисбатан  $6,5 \pm 3,2\%$  га ва максимал 150 мкМ концентрацияда  $56,5 \pm 4,5\%$  га

камайтириши аниқланди. Гетератизин 5 мкМ концентрацияда аорта препарати қисқариш кучини назоратга нисбатан  $6,5 \pm 2,4\%$  га, максимал 150 мкМ концентрацияда эса  $73,9 \pm 6,4\%$  га камайтириши, шунингдек 6-О-бензоилгетеротизин 5 мкМ концентрацияда аорта препаратининг қисқариш кучини назоратга нисбатан  $6,5 \pm 2,4\%$  га, максимал 200 мкМ концентрацияда эса назоратга нисбатан  $73,8 \pm 4,6\%$  га камайтириши аниқланди ( $n=4-6$ ). Бунда атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоилгетеротизин учун  $EC_{50}$  (қисқариш кучини максималга нисбатан 50% га камайтирувчи концентрацияси) қиймати мос равишда 32,6 мкМ ёки  $pD_2(-\log EC_{50})=4,494$ ; 54,7 мкМ ёки  $pD_2(-\log EC_{50})=4,262$ ; 36,9 мкМ ёки  $pD_2(-\log EC_{50})=4,433$  ва 50,47 мкМ ёки  $pD_2(-\log EC_{50})=4,297$  га тенглиги аниқланди (1. А, Б-расм).

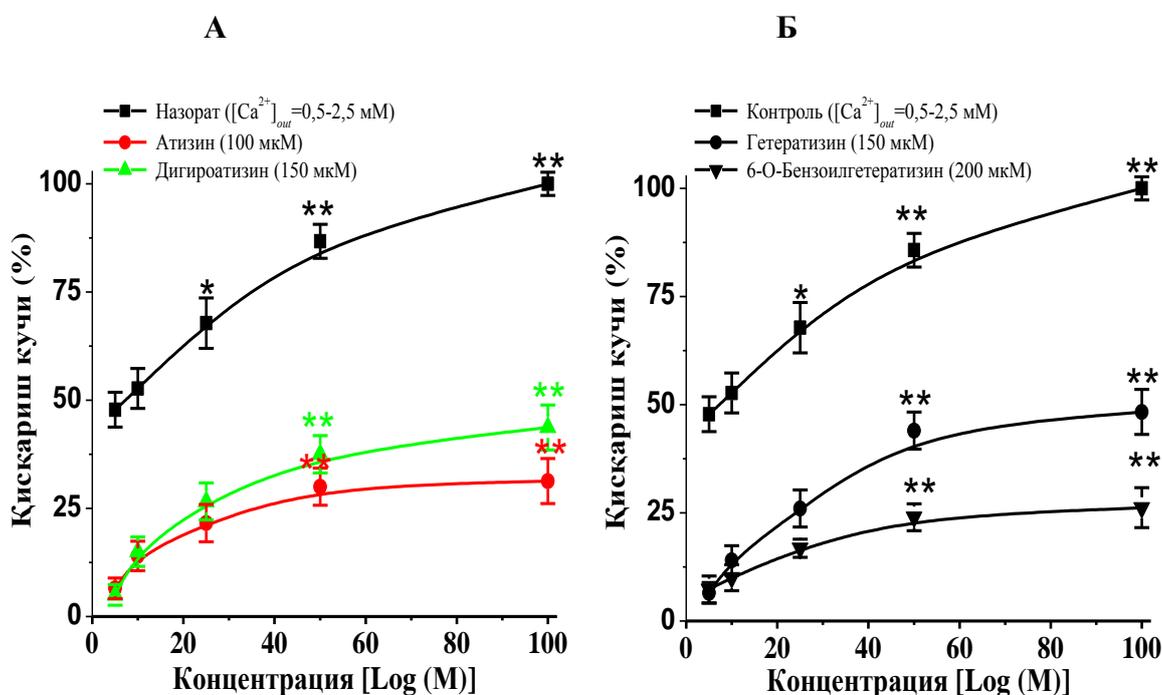


1-расм. А) Атизин, дигидроатизин, Б) гетератизин ва 6-О-бензоилгетеротизин алкалоидларининг каламуш аорта препаратиди KCl (50 мМ) ёрдамида юзага келтирилган қисқариш фаоллигига концентрацияга боғлиқ вазорелаксат таъсири. KCl (50 мМ) ёрдамида юзага келтирилган қисқариш кучи назорат (100%) сифатида қабул қилинган (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n=4-6$ ).

Қон томир силлиқ мускул хужайралари функционал фаоллиги таъминланишида  $[Ca^{2+}]_{in}$  динамик ўзгариши марказий аҳамиятга эга бўлиб (Ozaki et al., 1990; Бирулина, 2016), айрим вазорелаксат агентлар силлиқ мускул хужайраси плазмолеммасида жойлашган  $Ca^{2+}_L$ -канални блокадаси орқали вазорелаксат таъсир кўрсатиши қайд қилинади (Cherkaoui–Tangi et al., 2016). Аорта силлиқ мускул препаратиди KCl (50 мМ) ёрдамида юзага келтирилган қисқариш  $[K^+]_{out}$  миқдори ортиши шароитида плазматик мембрана деполяризацияси орқали  $Ca^{2+}_L$ -каналлари активацияси билан боғлиқ ҳисобланади (Ozaki et al., 1990; Berridge, 2008;) ва шунингдек, айрим дитерпеноид алкалоидларнинг релаксат (*in vitro*) таъсирида  $Ca^{2+}_L$ -канални блокадаси эҳтимоллиги мавжудлиги қайд қилинганлиги (Torres et al., 2000;

Martinsen et al., 2010) асосида, атизин, дигидроатицин, гетератицин ва 6-О-бензоилгетеротизин алкалоидларининг вазорелаксат таъсири  $Ca^{2+}_L$ -канални блокадаси ва ўз навбатида,  $[Ca^{2+}]_{in}$  миқдори камайиши билан боғлиқлиги тахмин қилинди.

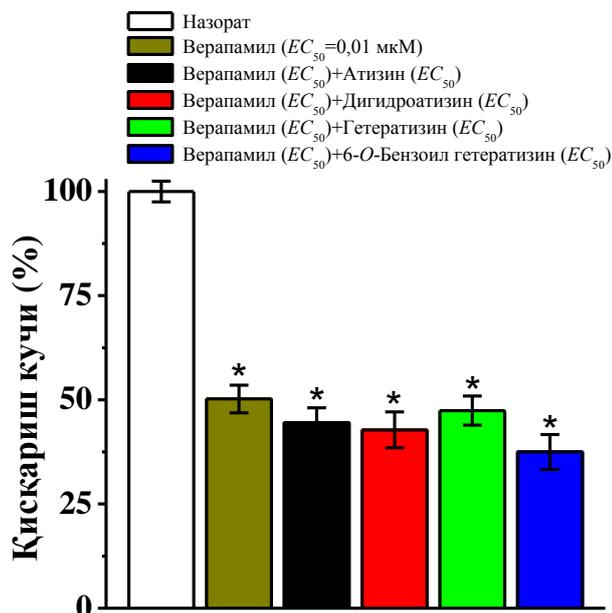
Ушбу тахминни текшириб кўриш учун, навбатдаги тажрибаларда таркибида  $[Ca^{2+}]_{out}=0,5-2,5$  мМ диапазондаги Кребс–Хензелейт физиологик эритмасидан фойдаланиб, атизин алкалоидининг (100 мкМ) вазорелаксат таъсири таҳлил қилинди. Маълумки,  $[Ca^{2+}]_{out}=2,5$  мМ шароитда қон томир силлиқ мускул препаратининг изометрик қисқариш кучи амплитудаси максимал қийматни ташкил қилади (Nishimura et al., 2002). Тажрибаларда Кребс-Хензелейт физиологик эритмаси таркибида  $[Ca^{2+}]_{out}=0,5-2,5$  мМ диапазондаги шароитда (Nishimura et al., 2002) атизин (100 мкМ), дигидроатицин (150 мкМ), гетератицин (150 мкМ) ва 6-О-бензоилгетеротизиннинг (200 мкМ) вазорелаксат таъсири  $[Ca^{2+}]_{out}$  миқдorigа бевосита боғлиқлиги аниқланди (2-расм, А ва Б).



2-расм. А) Атизин, дигидроатицин Б) гетератицин ва 6-О-бензоилгетеротизин алкалоидларининг аорта силлиқ мускул препаратидида КСI (50 мМ) ёрдамида юзага келтирилган қисқариш фаоллигига  $[Ca^{2+}]_{out}$  концентрациясига боғлиқ релаксат таъсири. КСI (50 мМ) ёрдамида юзага келтирилган қисқариш кучи назорат (100%) сифатида қабул қилинган (\* –  $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$ ;  $n=4-6$ ).

Шунингдек,  $Ca^{2+}_L$ -каналининг специфик блокатори верапамил ( $EC_{50}=0,01$  мкМ) ёрдамида амалга оширилган стандарт тажрибаларда (Cleary et al., 2004), атизин ( $EC_{50}=32,6$  мкМ), дигидроатицин ( $EC_{50}=54,7$  мкМ), гетератицин ( $EC_{50}=36,9$  мкМ) ва 6-О-бензоилгетеротизин ( $EC_{50}=50,47$  мкМ) аорта силлиқ мускул препаратининг қисқариш кучини қўшимча мос равишда

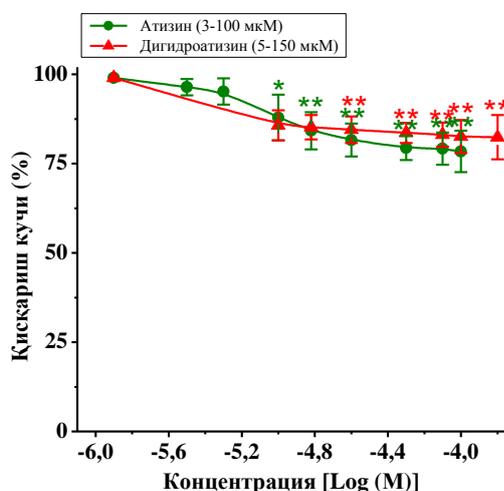
5,7±3,6%, 7,4±4,3%, 2,4±1,6% ва 12,3±4,2% гача сусайтириши аниқланди (3-расм).



**3-расм.** Атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоилгетератизиннинг каламуш аорта препаратиди  $Ca^{2+}_L$ -канални блокатори верапамил ( $EC_{50}=0,01$  мкМ) инкубацияси шароитида КСI (50 мМ) ёрдамида юзага келтирилган қисқариш фаоллигига вазорелаксант таъсири. КСI (50 мМ) ёрдамида юзага келтирилган қисқариш кучи назорат (100%) сифатида қабул қилинган (\* –  $p < 0,05$ ;  $n=4-6$ ).

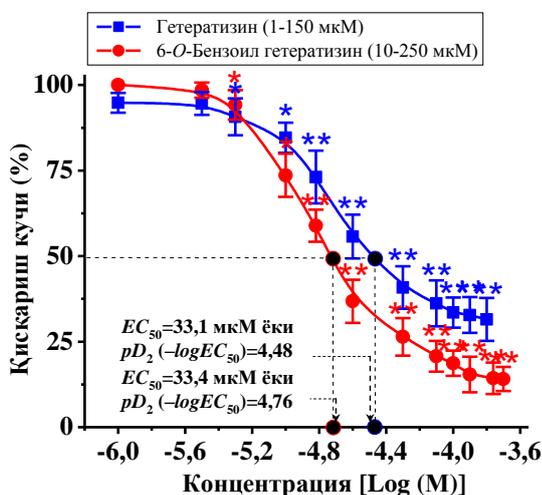
Атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоилгетератизин дитерпеноид алкалоидларининг вазорелаксант таъсирида SOCC/ROCC нинг иштироки. Силлиқ мускулнинг қисқариш фаоллиги  $Ca^{2+}_L$ -канални, захирадан ишга тушувчи  $Ca^{2+}$ -канални (SOCC; store-operated  $Ca^{2+}$ -channels) ва рецепторга боғлиқ функция бажарувчи  $Ca^{2+}$ -каналлари (ROCC; receptor-operated  $Ca^{2+}$ -channels), шунингдек СПР  $IP_3R$  активацияси билан боғлиқ ҳисобланади (Savineau and Martahn, 2000; Соловьев, 2013). Одатда, тажрибаларда (*in vitro*) кон томир силлиқ мускули препаратининг изометрик қисқаришига фармакологик агентларнинг таъсирида СПР  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимлари, SOCC/ROCC нинг эҳтимоллиги мавжуд иштирокини таҳлил қилишда индуктор сифатида  $\alpha_1$ -адренорецептор ( $\alpha_1$ -АР) агонисти фенилэфриндан (1 мкМ) фойдаланилади (Karakı, 2004). Фенилэфрин (1 мкМ) таъсирида  $\alpha_1$ -АР активацияси G-оқили орқали фосфолипаза С (PLC) фаоллашиши, ўз навбатида фосфатидилинозитол 4,5-дифосфатдан инозитол 1,4,5-трифосфат ( $IP_3$ ) ва диацилглицерол (DAG) ҳосил бўлиши амалга ошади (Berrige, 1993). Бунда ҳосил бўлган  $IP_3$  СПР мембранасида инозитол 1,4,5-трифосфат рецепторини ( $IP_3R$ ) фаоллаштиради ва  $[Ca^{2+}]_{CP}$  цитозолга чиқиши қайд қилинади. DAG протеинкиназа С (PKC) активацияси орқали қисқариш механизмида иштирок этади (Berrige, 1993).

Навбатдаги тажрибаларда атизин (100 мкМ) ва дигидроатицин (150 мкМ) аорта силлик мускул препаратининг фенилэфрин (1 мкМ) таъсирида юзага келтирилган қисқариш кучини назоратга нисбатан мос равишда  $21,6 \pm 5,8\%$  ва  $17,6 \pm 6,2\%$  га камайтириши аниқланди (4-расм).



4-расм. Атизин ва дигидроатицин дитерпеноид алкалоидларининг каламуш аорта қон томири силлик мускул препаратидида  $\alpha_1$ -адренорецептор агонисти фенилэфрин (1 мкМ) таъсирида юзага келтирилган қисқариш фаоллигига вазорелаксант таъсири. Фенилэфрин (1 мкМ) ёрдамида юзага келтирилган қисқариш кучи назорат (100%) сифатида қабул қилинган (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 4-6$ ).

Навбатдаги тажрибаларда гетератизин (1-150 мкМ) ва 6-О-бензоилгетеротизин (10-250 мкМ) фенилэфрин (1 мкМ) ёрдамида юзага келтирилган қисқариш кучига сезиларли даражада вазорелаксант таъсир кўрсатиши, бунда гетератизин (150 мкМ) ва 6-О-бензоилгетеротизин (250 мкМ) аорта силлик мускул препарати қисқариш кучини назоратга нисбатан мос равишда  $68,5 \pm 6,3\%$  ва  $85,9 \pm 3,5\%$  га камайтириши аниқланди. Ушбу шароитда гетератизин ва 6-О-бензоилгетеротизин учун  $EC_{50}$  қиймати мос равишда 33,1 мкМ ёки  $pD_2(-\log EC_{50}) = 4,48$  ва 33,4 мкМ ёки  $pD_2(-\log EC_{50}) = 4,76$  га тенглиги аниқланди (5-расм).

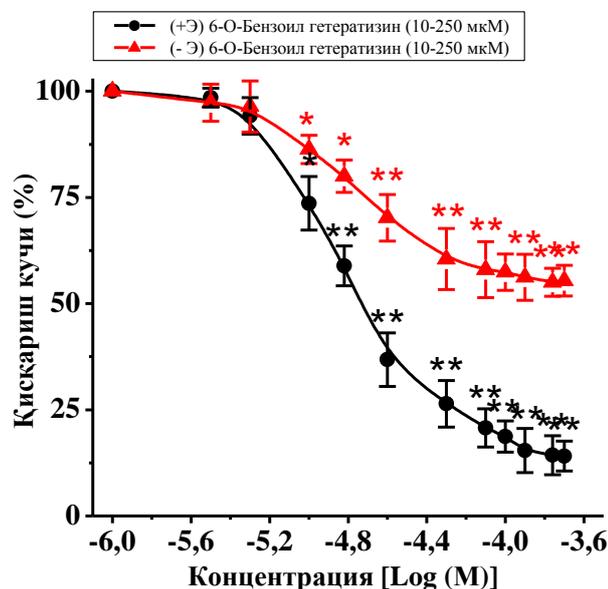


**5-расм. Гетератизин ва 6-О-бензоилгетератизиналкалоидларининг каламуш аорта препаратида фенилэфрин (1 мкМ) ёрдамида юзага келтирилган қисқариш фаоллигига концентрацияга боғлиқ вазорелаксанти таъсири.** Фенилэфрин (1 мкМ) ёрдамида юзага келтирилган қисқариш кучи назорат (100%) сифатида қабул қилинган (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 4-6$ ).

Юқорида таъкидланганидек, қон томир силлиқ мускул препаратида  $\alpha_1$ -АР агонисти фенилэфрин (1 мкМ) таъсирида юзага келтирилган қисқариш жараёнида СПР  $IP_3$ -рецептори, ROCC/SOCC функция бажаради (Ozaki et al., 1990; Karaki et al., 1997; Berridge, 2008). Шунингдек, тадқиқотларда дигидроатизин, 6-О-бензоилгетератизин алкалоидлари кардиомиоцитларда СПР даражасида  $Ca^{2+}$ -транспорт динамикасига таъсир кўрсатиши орқали  $[Ca^{2+}]_{in}$  миқдорини камайтириши аниқланган (Sagdullaev et al., 1998). Ушбу маълумотлар ва олинган тажриба натижалари таҳлили асосида, гетератизин (1-150 мкМ) ва 6-О-бензоилгетератизиннинг (10-250 мкМ) вазорелаксанти таъсири  $Ca^{2+}_L$ -канал билан биргаликда,  $IP_3$ -рецептори, ROCC/SOCC блокадаси билан боғлиқлиги тахмин қилинди (Bakieva et al., 2019). Шунингдек, атизин (3-100 мкМ) ва дигидроатизиннинг (5-150 мкМ) вазорелаксанти таъсири  $IP_3$ -рецептори, ROCC/SOCC функцияси модуляцияси билан боғлиқ эмаслиги қайд қилинди.

*Гетератизин ва 6-О-бензоилгетератизин дитерпеноид алкалоидларининг вазорелаксанти таъсирида NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG реакциялар каскадининг иштироки.* Маълумки, қон томир эндотелий қавати хужайраларининг ион-транспорт тизимлари дисфункцияси кардиоваскуляр тизим касалликлари патогенезида муҳим ўрин тутди (Vanhoutte, 1997; Brunner et al., 2005; Luna-Vazquez et al., 2017) ва айрим вазорелаксанти агентлар таъсирида айнан, қон томир эндотелий хужайраларида эндотелиал азот оксид синтаза (eNOS) активацияси орқали NO генерацияси ва ўз навбатида, гуанилатциклаза (ГЦ) фаоллашиши ва  $[цГМФ]_{in}$  миқдори ортиши, PKG реакциялар каскади активацияси вазорелаксация жараёнини индукциялаши қайд қилинади (Drewett and Garbers, 1994; Andreopoulos and Papapetropoulos, 2000; Северина, 2002; Cherkaoui-Tangi et al., 2016). Шунингдек, айрим дитерпеноид алкалоидларнинг силлиқ мускул препаратида релаксанти таъсири  $Ca^{2+}_L$ -канал блокадаси ва NO/[цГМФ]<sub>in</sub> реакциялар каскади активацияси билан боғлиқлиги тахмин қилинган (Mitamura et al., 2002; Martinsen et al., 2010). Шу сабабли, навбатдаги тадқиқотларда гетератизин ва 6-О-бензоилгетератизиннинг вазорелаксанти таъсирида NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG реакциялар каскади активациясининг эҳтимоллиги мавжуд иштироки ўрганилди. Тажрибаларда эндотелий қавати олиб ташланган ва шунингдек, инкубация муҳитида NO-синтаза блокатори L-NAME (100 мкМ) ва циклооксигеназа ингибитори индометацин (10 мкМ) мавжуд шароитда гетератизиннинг (5-200 мкМ) вазорелаксанти таъсири сезиларли даражада ўзгармаслиги, бироқ 6-О-бензоилгетератизиннинг (10-250 мкМ) таъсири камайиши аниқланди. 6-О-бензоилгетератизиннинг (250 мкМ) вазорелаксанти таъсири эндотелий қавати олиб ташланган ҳолатда

85,9±3,5% дан 44,6±3,6% гача камайиши, шунингдек, eNOS блокатори L-NAME (100 мкМ) ва циклооксигеназа ингибитори индометацин (10 мкМ) инкубацияси шароитида 85,9±3,5% дан 35,2±4,2% гача камайиши аниқланди (6-расм ва 1-жадвал).



**6-расм. 6-О-бензоилгетератизин алкалоидининг каламуш аорта силлик мускул препарати қисқариш кучига эндотелийга боғлиқ вазорелаксант таъсири.** Фенилэфрин (1 мкМ) таъсирида юзага келтирилган қисқариш кучи 100% (+Э - эндотелий қавати мавжуд; назорат) сифатида қабул қилинган. -Э – Эндотелий қавати олиб ташланган ҳолатни ифодалайди (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ;  $n=4-6$ ).

1-жадвал

**6-О-бензоилгетератизиннинг eNO-синтаза блокатори L-NAME (100 мкМ) ва циклооксигеназа ингибитори индометацин (10 мкМ) инкубацияси шароитида вазорелаксант таъсири ( $M \pm m$ )**

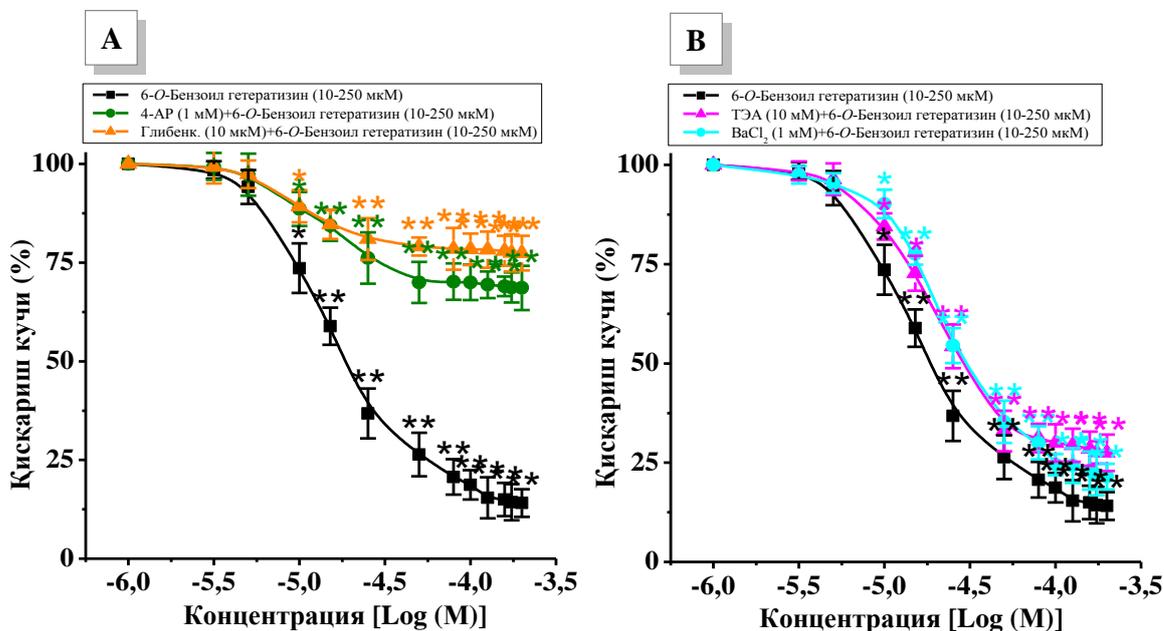
	Тажриба гуруҳи	Концентрация (мкМ)				
		10	50	100	200	250
6-О-Бензоил гетератизин	Эндотелий қавати мавжуд (назорат)	73,6±6,3	26,4±5,5	18,7±3,7	14,3±4,6	14,1±3,5
	L-NAME (100 мкМ)+ Индометацин (10 мкМ)	88,5±7,3	70,2±7,6*	67,3±4,7*	65,9±3,8**	64,8±4,2**

**Изоҳ:** Фенилэфрин (1 мкМ) таъсирида юзага келтирилган қисқариш кучи 100% (назорат) сифатида қабул қилинган (\* –  $p < 0,05$  ва \*\* –  $p < 0,01$ ;  $n=4-6$ ).

Олинган натижалар ва адабиёт маълумотлари таҳлили 6-О-бензоилгетератизиннинг вазорелаксант таъсири  $NO/\Gamma\Gamma/[Ca^{2+}]_{in}/PKG$  реакциялар каскади активацияси билан боғлиқлигини кўрсатади.  $NO/[Ca^{2+}]_{in}$  реакциялар каскади активацияси  $Ca^{2+}_L$ -канални блокадаси шароитида кузатиловчи вазорелаксация эффеќтини кучайтириши қайд қилинади (Salomone et al., 1995; Salomone et al., 1996). Айрим фармакологик

агентларнинг аорта препаратида вазорелаксат таъсири  $\text{NO}/[\text{цГМФ}]_{in}/\text{PKG}$  реакциялар каскади орқали  $\text{K}^+$ -каналлари активацияси билан боғлиқлиги тахмин қилинади (Lozano–Cuenca et al., 2017).  $\text{K}^+$ -каналлари  $\text{NO}/\text{ГЦ}/[\text{цГМФ}]_{in}/\text{PKG}$  реакциялар каскади активацияси орқали регуляция қилиниши мумкинлиги таъкидланган (Eichhorn and Dobrev, 2007). Шунингдек, тадқиқотларда дитерпеноид алкалоидларнинг вазорелаксат таъсири қон томир силлиқ мускул хужайраларида  $\text{Ca}^{2+}$ -каналлари блокадаси,  $\text{K}^+$ -каналлари активацияси,  $\text{NO}/\text{цГМФ}$  реакциялар каскади активацияси орқали амалга ошиши аниқланган (Wada, 2002; Ogura et al., 2004; Tirapelli et al., 2010; Luna–Vazquez et al., 2013). Шу сабабли, навбатдаги тадқиқотларда 6-О-бензоилгетератизиннинг вазорелаксат таъсирида  $\text{K}^+$ -каналларининг эҳтимоллиги мавжуд иштироки ўрганилди.

6-О-бензоилгетератизин дитерпеноид алкалоидининг вазорелаксат таъсирида  $\text{K}^+$ -каналларининг иштироки. Тажрибаларда 6-О-бензоилгетератизиннинг вазорелаксат таъсири эгри чизиғи инкубация муҳитида потенциалга боғлиқ фаоллашувчи  $\text{K}^+$ -каналлари ( $\text{K}_V$ -каналлари) блокатори 4-аминопиридин (4-АП; 1 мМ) ва  $\text{K}_{ATP}$ -каналлари блокатори глибенкламид (10 мкМ) мавжуд шароитда сезиларли даражада ўннга силжиши аниқланди (7-расм, А). Бунда 6-О-бензоилгетератизин алкалоидининг вазорелаксат таъсири эгри чизиғи  $\text{VK}_{Ca}$ -каналлари носпецифик блокатори тетраэтиламмоний (ТЭА; 10 мМ),  $\text{K}_{IR}$ -каналлари носпецифик блокатори  $\text{BaCl}_2$  (1 мМ) инкубацияси шароитида эса сезиларли даражада ўзгармаслиги аниқланди (7-расм, Б).



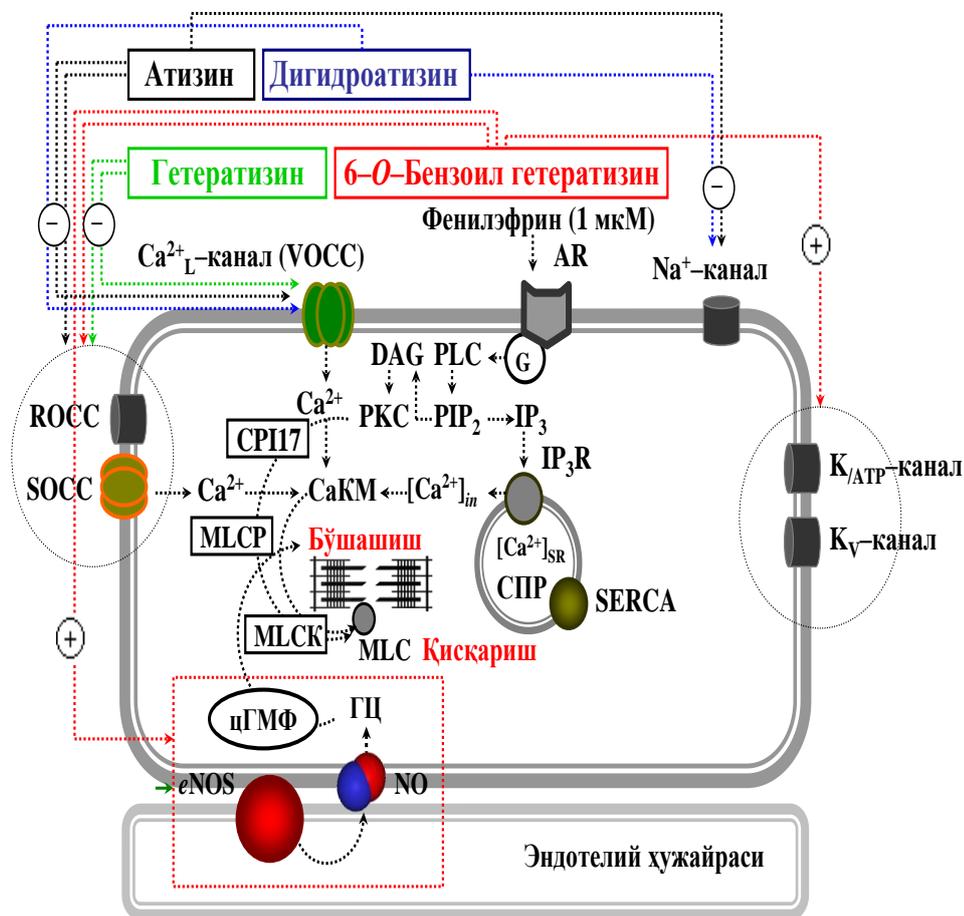
7–расм. А) 6-О-бензоилгетератизиннинг  $\text{K}_V$ -каналлари блокатори 4-АП (1 мМ) ва  $\text{K}_{ATP}$ -каналлари блокатори глибенкламид (10 мкМ) инкубацияси шароитида каламуш аорта препарати қисқариш кучига вазорелаксат таъсири. Б) 6-О-бензоилгетератизиннинг  $\text{VK}_{Ca}$ -каналлари носпецифик блокатори ТЭА (10 мМ),  $\text{K}_{IR}$ -каналлари носпецифик блокатори  $\text{BaCl}_2$  (1 мМ) инкубацияси шароитида

**вазорелаксант таъсири.** Фенилэфрин (1 мкМ) таъсирида юзага келтирилган қисқариш кучи 100% (назорат) сифатида қабул қилинган (\* –  $p < 0,05$  ва \*\* –  $p < 0,01$ ;  $n=4-6$ ).

Меъёрий физиологик ва патологик шароитларда қон томир функционал фаоллиги таъминланишида  $K^+$ -каналлари муҳим аҳамиятга эга бўлиб, кўпгина вазорелаксант агентлар айнан,  $K^+$ -каналлари активацияси орқали таъсир кўрсатиши қайд қилинган (Calderone et al., 2004; Dong et al., 2004; Cogolludo et al., 2007). Ҳозирги вақтда таъсир механизми батафсил ўрганилган биологик фаол моддаларнинг вазорелаксант таъсирида  $Ca^{2+}_L$ -каналлари блокадаси,  $NO/[Ca^{2+}]_i/PKG$  реакциялар каскади ва кейинги ўринда  $K^+$ -каналлари активацияси муҳим ўрин тутди (Luna–Vazquez et al., 2013). Қон томир силлиқ мускулларида  $K^+$ -каналлари активацияси плазматик мембрана гиперполяризацияси ва  $Ca^{2+}_L$ -каналлари блокадаси орқали вазорелаксант таъсир эффекига эга ҳисобланади (Ko et al., 2008; Al-Habib et al., 2013). Айрим тадқиқотларда дитерпен қаторига кирувчи моддаларнинг релаксант таъсири  $Ca^{2+}_L$ -каналлари блокадаси билан биргаликда,  $K^+$ -каналлари активацияси билан боғлиқлиги қайд қилинган (Santos et al., 2012; Rieg et al., 2013; Martins et al., 2013). Жумладан, *Aconitum* L. ўсимлик турларидан ажратиб олинган дитерпеноид алкалоидларнинг фармакологик таъсирида  $K^+$ -каналлари фаоллиги модуляцияси ҳам муҳим аҳамиятга эга бўлиши мумкинлиги тахмин қилинган (Wang et al., 1996; Song et al., 2006; Li et al., 2010; Vakhitova et al., 2013; Kiss et al., 2017). Тадқиқотларда айрим дитерпеноид алкалоидларнинг кимёвий структурасига боғлиқ ҳолатда GIRK ва hERG типдаги  $K^+$ -каналлари фаоллигига сезиларли даражада таъсир кўрсатиши аниқланган (Kiss et al., 2017). Шунингдек, ГЦ активацияси орқали  $[Ca^{2+}]_i$  миқдорини ошириши ва  $[Ca^{2+}]_i$  таъсирида PKG активацияси ва фосфорланиши орқали  $K_{ATP}$ -каналлари активацияси вазорелаксацияга олиб келиши қайд қилинган (Davie et al., 1998; Minamiyama et al., 2007). Плазмолеммада жойлашган  $K^+$ -каналлари ( $BK_{Ca}$ -канал ва  $K_V$ -канал) активациясида PKG орқали релаксация муҳим ўрин тутиши аниқланган (Zhao et al., 1997; Tanaka et al., 2006; Cairrao et al., 2010). Амалга оширилган тажрибаларда олинган натижалар ва адабиётлар таҳлили асосида, 6-О-бензоилгетератизиннинг вазорелаксант таъсири  $NO/GC/[Ca^{2+}]_i/PKG$  реакциялар каскади билан комплекс ҳолатда  $K^+$ -каналлари ( $K_V$ -каналлари ва  $K_{ATP}$ -каналлари) активацияси билан боғлиқлиги тахмин қилинди.

*Aconitum* L. ўсимлик турларидан ажратиб олинган атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидлари кимёвий структураси ва фойдаланилган концентрациясига боғлиқ вазорелаксант таъсирга эга бўлиб, атизин ва дигидроатизиннинг вазорелаксант таъсири асосан  $Ca^{2+}_L$ -каналлари, SOCC/ROCC блокадаси билан биргаликда, қисман  $Na^+$ -каналлари блокадаси билан боғлиқлиги аниқланди. Гетератизиннинг вазорелаксант таъсири асосан  $Ca^{2+}_L$ -каналлари, SOCC/ROCC блокадаси билан боғлиқлиги, С(6)-позицияда бензоил гуруҳи жойлашганлиги билан гетаратизиндан фарқланувчи 6-О-бензоилгетератизиннинг вазорелаксант таъсири эса  $Ca^{2+}_L$ -каналлари ва SOCC/ROCC блокадаси билан

биргаликда, NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG реакциялар каскади ва комплекс ҳолатда K<sup>+</sup>-каналлари (K<sub>V</sub>-каналли ва K<sub>ATP</sub>-каналли) модуляцияси билан боғлиқлиги тахмин қилинди. Ўрганилган атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоилгетератизин дитерпеноид алкалоидларнинг вазорелаксанти таъсирининг тахминий гипотеза механизми қуйидаги 8-расмда келтирилган.



**8-расм.** Ўрганилган дитерпеноид алкалоидларнинг (атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоилгетератизин) тахминий вазорелаксанти таъсир механизми. Бу ерда СПР - саркоплазматик ретикулум; [Ca<sup>2+</sup>]<sub>in</sub> - цитозолдаги Ca<sup>2+</sup> концентрацияси; SERCA - CP Ca<sup>2+</sup>-АТФазаси; eNOS - эндотелиал NO-синтаза; NO - азот оксиди; ГЦ - гуанилатциклаза; цГМФ - циклик гуанозин монофосфат; CaMK - Ca<sup>2+</sup> ионлари таъсирида фаоллашувчи кальмодулин киназа ферменти; MLC - миозин енгил занжири; PLC - фосфолипаза C; DAG - диацилглицерол; IP<sub>3</sub> - инозитол 1,4,5-фосфат; VOCC - потенциалга боғлиқ Ca<sup>2+</sup><sub>L</sub>-каналлари; SOCC - захирадан ишга тушувчи Ca<sup>2+</sup>-каналлари; MLCK - MLC киназа; GPCR - G протеинга боғлиқ рецептор; IP<sub>3</sub>R - инозитол 1,4,5-фосфат рецептори; PIP<sub>2</sub> - фосфадитилинозитол 4,5-бифосфат; K<sub>ATP</sub>-канал АТФ га боғлиқ фаоллашувчи K<sup>+</sup>-каналли; K<sub>V</sub>-канал - потенциалга боғлиқ фаоллашувчи K<sup>+</sup>-каналлини ифодалайди.

Ушбу тадқиқот ишида олинган илмий, экспериментал натижалар дитерпеноид алкалоидлар асосида вазорелаксанти фармакологик препаратлар ишлаб чиқиш учун назарий асос сифатида хизмат қилиши мумкин. «Айрим дитерпеноид алкалоидларнинг (атизин, дигидроатизин, гетератизин, 6-О-бензоилгетератизин) вазорелаксанти таъсирини тавсифлаш» мавзусидаги

фалсафа доктори (PhD) диссертацияси бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижасида қуйидаги хулосалар тавсия этилди:

## ХУЛОСАЛАР

1. Атизин, гетератизин, дигидроатизин, 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидлари яққол ифодаланган вазорелаксант фаолликка эга бўлиб, бу таъсир уларнинг кимёвий структураси ва фойдаланилган концентрациясига боғлиқ ҳисобланади.

2. Атизин, гетератизин, дигидроатизин, 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидларининг вазорелаксант таъсири  $Ca^{2+}_L$ -каналлари, шунингдек SOCC/ROCC блокадаси билан боғлиқлиги очиқ берилди.

3. Атизин, гетератизин, дигидроатизин, 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидларининг токсик таъсир даражаси нисбатан паст бўлиб, келгусида кардиоваскуляр паталогиялар терапияси-профилактикасида фойдаланувчи фармакологик препаратлар ишлаб чиқиш учун потенциал агентлар ҳисобланишини кўрсатади.

4. Кимёвий структурасида C(6)-позицияда бензоил гуруҳи жойлашганлиги фарқланувчи 6-О-бензоилгетератизиннинг вазорелаксант таъсири  $Ca^{2+}_L$ -каналлари, SOCC/ROCC блокадаси билан биргаликда, NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG реакциялар каскади билан комплекс ҳолатда  $K^+$ -каналлари ( $K_V$ -канал,  $K_{ATP}$ -канал) активацияси билан боғлиқлиги изоҳланади.

5. Атизин, гетератизин, дигидроатизин, 6-О-бензоилгетеротизин дитерпеноид алкалоидларнинг вазорелаксант таъсир механизмлари, шунингдек уларнинг структураси ва фаоллиги ўртасидаги қонуниятлар таҳлили асосида, 6-О-бензоилгетеротизин алкалоиди гипертония касаллигини даволаш ва олдини олиш учун янги самарали дори препаратларини яратишда нисбатан истиқболли номзод сифатида тавсия этилади.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ PhD.28.09.2018.В.76.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ  
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ПРИ НАМАНГАНСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ  
УНИВЕРСИТЕТЕ**

---

**НАМАНГАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**БАКИЕВА МУАЗЗАМ ШАРИФЖОНОВНА**

**ХАРАКТЕРИСТИКА ВАЗОРЕЛАКСАНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ  
НЕКОТОРЫХ ДЕТЕРПЕНОИДНЫХ АЛКАЛОИДОВ (АТИЗИНА,  
ДИГИДРОАТИЗИНА, ГЕТЕРАТИЗИНА, 6-О-  
БЕНЗОИЛГЕТЕРАТИЗИНА)**

**03.00.08 – Физиология человека и животных**

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

**Наманган - 2019**

**Тема диссертации доктора философии (PhD) по биологическим наукам зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером В2019.1.PhD/В276.**

Диссертационная работа выполнена в Наманганском государственном университете.

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

**Научный руководитель:**

**Зайнабидинов Анвар Эркинжанович**  
доктор биологических наук, доцент

**Официальные оппоненты:**

**Саидбаева Лола Мухамедовна**  
доктор биологических наук, профессор

**Гайилов Улугбек Гаппаржанович**  
доктор философии (PhD) по биологическим наукам

**Ведущая организация:**

**Ташкентский государственный педагогический университет**

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 года в \_\_ часов на заседании Научного совета PhD.28.09.2018.В.76.01 при Наманганском государственном университете (Адрес: 160119, г. Наманган, ул. Уйчи, 316-дом. (+99869) 227-06-12; факс: (+99869) 227-07-61; e-mail: info@namdu.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Наманганского государственного университета (зарегистрировано под № \_\_\_\_). Адрес: 160119, г. Наманган, ул. Уйчи, 316-дом. Тел.: (+99869) 227-29-81.)

Автореферат диссертации разослан: «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г.  
(реестр протокола рассылки № «\_\_» от \_\_\_\_\_ 2019).

**А.Э.Зайнабидинов**  
Председатель научного совета по присуждению  
ученых степеней, д.б.н.

**Х.Э.Эргашева**  
Ученый секретарь научного совета по присуждению  
ученых степеней, доктор философии по  
биологическим наукам.

**А.Р.Батшов**  
Председатель научного семинара при научном  
совете по присуждению ученых степеней, д.б.н.

## ВВЕДЕНИЕ (Аннотации диссертации доктора философии (PhD))

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** На сегодняшний день в мире наблюдается широкое распространение заболеваний сердечно-сосудистой системы, которая является актуальной медико-социальной, экономической проблемой. Среди этих заболеваний высокий уровень составляет артериальная гипертония и используется в терапевтических целях с более чем 200 фармакологическими препаратами. Однако 3/2 из этих препаратов имеют побочные эффекты. В свою очередь, создание импортозамещающих фармакологических препаратов на основе растительного сырья, обладающих низким токсическим действием по сравнению с синтетическими аналогами, является требованием времени. Особенно, создание эффективных фармакологических препаратов на основе биологически активных веществ, выделенных из местных растений, имеет большое значение.

В мире на сегодняшний день большое внимание уделяется изучению лекарственных препаратов, содержащих природные соединения, для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний в мире. Одним из биологически активных веществ, проявляющих сильные кардиопротекторные свойства, являются дитерпеноидные алкалоиды, которые в настоящее время известны более 400 видами. Одним из основных потенциальных источников этих алкалоидов является вид растений *Aconitum L.*. Выделенные дитерпеноидные алкалоиды из данного растения являются многообещающим источником для лечения сердечно-сосудистых заболеваний и источником лекарств. Однако лишь немногие из них обладают кардиотропным, спазмолитическим и гипотензивным эффектами и проявляют вазорелаксантную активность. Одной из актуальных проблем является продолжение научных исследований в этой области, разработка и внедрение комплекса эффективных лечебных мероприятий в практику сердечно-сосудистой терапии.

В нашей республике проводятся значительные реформы в лечении сердечно-сосудистых заболеваний, включая производство многих дитерпеноидных алкалоидов из местных растений и на основе которых были разработаны такие препараты, как «Аллапинин», «Цитизин» и «Галантамин». Стратегия 4 по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определяет важные задачи для дальнейшего развития фармацевтической промышленности, улучшения доступа к недорогим, качественным лекарствам для населения и медицинских учреждений<sup>2</sup>. Основываясь на этих функциях, важно охарактеризовать вазорелаксантное действие дитерпеноидных алкалоидов на атизин, дигидроатицин, гетератицин и 6-О-бензоилгетеротицин, выделенные из видов растений *Aconitum L.*

---

<sup>2</sup> Указа Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года №-УП-4947 « Стратегия действий Республики Узбекистан »

Диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, указа Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года № УП-4947 «О стратегии дальнейшего развития Республики Узбекистан», Указа Президента Республики Узбекистан от 7 ноября 2017 года № УП-4947 «О мерах по коренному совершенствованию системы управления фармацевтической отраслью» а также изложенных в других правовых документах, связанных с этой деятельностью.

**Соответствие исследованиям приоритетным направлениям развития науки и технологий республики.** Данное исследование выполнено в соответствии приоритетным направлением развития науки и технологий республики VI «Медицина и фармакология».

**Степень изученности проблемы.** В мире такими учеными как Benn M.H. и Jacyno J.M. (1983), Chen D. (1984), Martinsen A. et al. (2010), Oliveira A.P. et al. (2006), Ribeiro L.A. et al. (2007), Kour G.D. et al. (2016) были выделены дитерпеноидные алкалоиды из растений *Aconitum* L. (*Ranunculaceae*), установлены их структуры и изучены фармакологические свойства. В странах СНГ Nesterova Yu.V. et al. (2010), Terenteva E.O. et al. (2011), Юнусов М.С. (2014) проводили исследования в этой области.

В нашей Республике Салимов Б.Т., (2007), Sultankhodzhaev M.N. et al. (2002), Джахангиров Ф.Н. (2001), Валиев Н.В. и др. (2018) выделили дитерпеноидные алкалоиды из растений *Aconitum* L. И провели научно-практические исследования широкого спектра. Кроме этого, со стороны Есимбетовым А.Т. (2007), Хушматовым Ш.С. (2010), Zaynabiddinov A.E. et al. (2015), Usmanov P.V. et al. (2017) были исследованы кардиоваскулярный свойства дитерпеноидных алкалоидов выделенных из растений *Aconitum* L. В зависимости от их структуры. На сегодняшний день дитерпеноидные алкалоиды выделенные из растений рода *Aconitum* L. (*Ranunculaceae*) в широком спектре используются в прикладной фармацевтике и экспериментальных исследованиях. В частности, в нашей республике в Институте химии растительных веществ (ИХРВ) Академии наук Республики Узбекистан (АН РУз) выделены свыше 200 дитерпеноидных алкалоидов и установлены их химические структуры. Однако, фармакологическое действие данных алкалоидов, особенномеханизмы вазорелаксантного действия не вполне изучены. В этом отношении исследования в данной области с теоритическо-прикладной точки зрения является актуальной.

**Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами научно-исследовательского учреждения, где выполнена работа.** Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательских проекта института Биофизика и биохимия при НУУз им. М.Улугбега ФА-ФЗ-Т144 «Изучение механизмов модуляции ионных каналов сердечных и гладкомышечных клеток природными биологически активными соединениями» (2007-2011).

**Целью исследования** является характеристика вазорелаксантного действия в зависимости от химической структуры дитерпеноидных

алкалоидов атизин, дигидроатицин, гетератицин, 6-*O*-бензоилгетератицин выделенных из растений рода *Aconitum* L.

**Задачи исследования:**

изучение  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов при вазорелаксантном действии дитерпеноидных алкалоидов атизин, гетератицин, дигидроатицин, 6-*O*-бензоилгетератицин;

изучение участия SOCC/ROCC при вазорелаксантном действии дитерпеноидных алкалоидов атизин, гетератицин, дигидроатицин, 6-*O*-бензоилгетератицин;

изучение участия NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG каскада реакций при вазорелаксантном действии дитерпеноидных алкалоидов атизин, гетератицин, дигидроатицин, 6-*O*-бензоилгетератицин;

изучение роли  $\text{K}^{+}$ -каналов при вазорелаксантном действии дитерпеноидных алкалоидов атизин, гетератицин, дигидроатицин, 6-*O*-бензоилгетератицин;

характеристика фармакологической активности дитерпеноидных алкалоидов атизин, гетератицин, дигидроатицин, 6-*O*-бензоилгетератицин в зависимости от их химической структуры.

**Объектами исследования** являются: дитерпеноидные алкалоиды атизин, гетератицин, дигидроатицин, 6-*O*-бензоилгетератицин выделенные из растений рода *Aconitum* L. (*Ranunculaceae*), препарат аорты крыс.

**Предметом исследования** является характеристика вазорелаксантного действия дитерпеноидных алкалоидов атизин, гетератицин, дигидроатицин, 6-*O*-бензоилгетератицин выделенных из растений рода *Aconitum* L. (*Ranunculaceae*) при помощи методов механографии, анализа ингибирования в условиях *in vitro*.

**Методы исследования.** В рамках исследования использовались стандартные биофизические/физиологические методы такие как регистрация активности изометрического сокращения (механография) препарата кровеносной соуды в условиях *in vitro*, метод анализа ингибирования. Полученные результаты обрабатывались метматическо-статистическим программным обеспечением OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060-4401, США).

**Научная новизна диссертационного исследования** заключается в следующем:

установлено вазорелаксантное действие дитерпеноидных алкалоидов атизин, гетератицин, дигидроатицин, 6-*O*-бензоилгетератицин. Их биологическая активность зависит от их химической структуры и использованной концентрации;

раскрыта вазорелаксантное действие дитерпеноидных алкалоидов атизин, гетератицин, дигидроатицин, 6-*O*-бензоилгетератицин зависит от блокады  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов и SOCC/ROCC;

доказано вазорелаксантное действие дитерпеноидных алкалоидов атизин и дигидроатицина в зависимости от блокады  $\text{Na}^{+}$ -каналов;

установлено вазорелаксантное действие 6-*O*-бензоилгетератизина, содержащий бензольное кольцо в положении С(6), в зависимости блокады  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов и SOCC/ROCC а также в комплексном состоянии с каскадом реакции NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG активацией  $\text{K}^{+}$ -каналов ( $\text{K}_{\text{V}}$ -канал,  $\text{K}_{\text{ATP}}$ -канал);

**Практические результаты исследования.** установлено вазорелаксантного действия дитерпеноидных алкалоидов выделенные из растений *Aconitum* L: атизин, гетератизин, дигидроатизин, 6-*O*-бензоилгетератизин в зависимости от их химической структуры и использованной концентрации.

Раскрыта эффект вазорелаксантного действия дитерпеноидных алкалоидов выделенных из местных растений рода *Aconitum* L: атизин, гетератизин, дигидроатизин, 6-*O*-бензоилгетератизин при помощи коррекции активности  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов, SOCC/ROCC, каскада реакций NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG и  $\text{K}^{+}$ -каналов ( $\text{K}_{\text{V}}$ -канал,  $\text{K}_{\text{ATP}}$ -канал) для модуляции  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$  динамики.

**Достоверность результатов исследования** подтверждается тем, что они получены с применением стандартных биофизических/физиологических экспериментальных методов и установок, а также математическо-статистической обработкой полученных результатов. Каждый эксперимент проводился как минимум в 6 кратном повторении. Для статистической обработки достоверности различий в сравниваемых показателях использовали коэффициент Стьюдента, компьютерные программы OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060-4401, США).

**Теоретическая и практическая значимость результатов исследования.** Научно-практическое значение результатов исследования характеризуется расширением диапазона теоретических знаний о механизмах фармакологической регуляции при помощи дитерпеноидных алкалоидов выделенных из лекарственных растений  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$  гомеостаза в клетках гладкой мускулатуры кровеносных сосудов.

Практическое значение исследования состоит в том, что результаты, полученные при изучении механизма вазорелаксантного действия дитерпеноидных алкалоидов атизин, дигидроатизин, гетератизин, 6-*O*-бензоилгетератизин выделенных из растений рода *Aconitum* L. могут служить при разработке фармакологических препаратов для терапии гипертонии.

**Внедрение результатов исследования.** На основании полученных данных по характеристике вазорелаксантного действия дитерпеноидных алкалоидов атизин, дигидроатизин, гетератизин, 6-*O*-бензоилгетератизин выделенных из растений рода *Aconitum* L. в зависимости от их химической структуры:

снижающее активность  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов свойства алкалоидов атизин, дигидроатизин использовано для описания кардиоинотропного влияния атизина, дигидроатизина в проекте ФА-Ф6-Т083 «Поиск и характеристика путей модуляции  $\text{Ca}^{2+}$ - гомеостаза сердечных и гладкомышечных клеток

биологически активными веществами» (Справка №-4/1255-1738 Академии Наук Республики Узбекистан от 19 июля 2019 года). В результате дала возможность охарактеризовать участия блокады  $Ca^{2+}_L$ -каналов под инотропным/антиаритмическим влиянием алкалоидов атизина и дигидроатизина;

вазореаксантное действие алкалоида 6-О-бензоилгетеротизин использовалось в рамках проекта ФА-А11-Т060 «Поиск новых модуляторов контроля объема клеток и объемзависимых анионных каналов как перспективных иммуномодуляторов и противораковых препаратов» для описание свойств новых модуляторов контроля объема клеток и объемзависимых анионных каналов в качестве иммуномодуляторов и противораковых препаратов (Справка Академии Наук Республики Узбекистан №-4/1255-2532 от 23 сентября 2019 года). Полученные результаты позволили охарактеризовать свойства новых модуляторов контроля объема клеток и объемзависимых анионных каналов при вазореаксантное действию алкалоида 6-О-бензоилгетеротизина.

**Апробация результатов исследования.** Результаты исследования диссертационной работы прошли апробацию на 2 международных и 3 республиканских научно–практических конференциях.

**Опубликованность результатов исследования.** По теме диссертации опубликованы 10 научных работ, из них 5 научных статей, в том числе 3 в республиканских и 2 в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций.

**Структура и объем диссертации.** Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 116 страниц.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

**Во введении** обосновывается актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, характеризуются объект и предмет, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «**Краткая фармакология дитерпеноидных алкалоидов**» на основе литературных данных последних лет приведены сведения о химической классификации, фармакологии дитерпеноидных алкалоидов выделенных из растений рода *Aconitum* L. (*Ranunculaceae*) а также перспективы разработки лекарственных фармакологических препаратов кардиоваскулярного действия на основе дитерпеноидных алкалоидов.

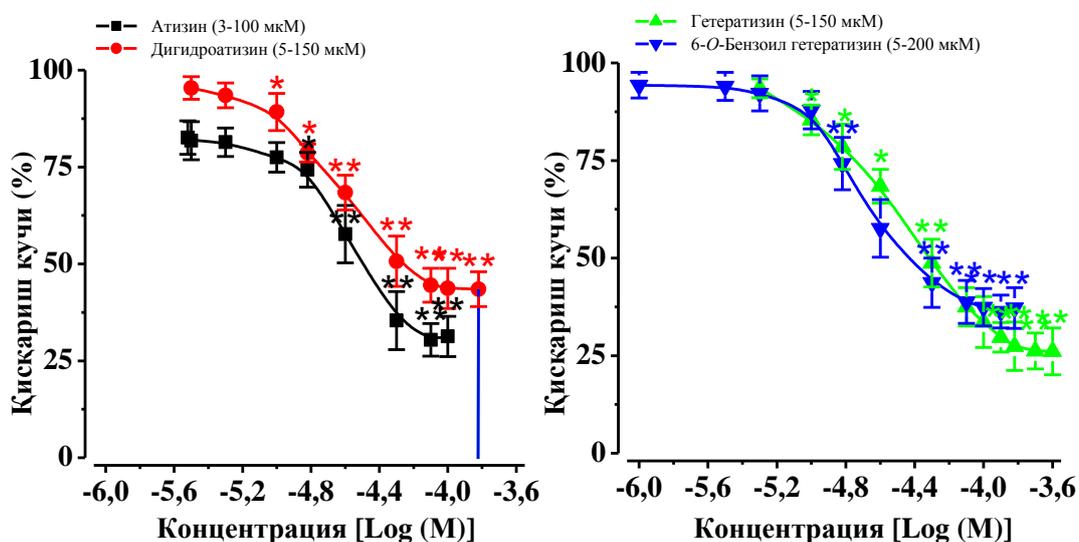
Во второй главе диссертации «**Механизмы регуляции функциональной активности клеток стенок гладкой мускулатуры кровеносных сосудов**» представлены данные о строении/функции клеток стенок гладкой мускулатуры кровеносных сосудов, ион-транспортных систем плазмолемм клеток гладкой мускулатуры ( $\text{Ca}^{2+}$ -каналы,  $\text{Na}^+$ -каналы,  $\text{K}^+$ -каналы,  $\text{Cl}^-$ -каналы, TRPV4-каналы,  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменная система,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза), ион-транспортных систем саркоплазматического ретикулума ( $\text{IP}_3$ -рецептор, рецептор рианодина,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза), структура/функция ион-транспортной системы и ферментов клеток эндотелия кровеносных сосудов и их фармакологической регуляции.

В третьей главе диссертации «**Методы регистрации функциональной активности клеток гладкой мускулатуры кровеносных сосудов**» представлены сведения об условиях и материалах исследования, дитерпеноидных алкалоидах, экспериментальных животных, приготовление препарата кровеносной сосуда аорты и регистрация активности сокращения в изометрических условиях, а также сведения об использованных химических реагентах. Кроме этого, представлены протоколы исследований, в частности, изучение активности  $\text{Ca}^{2+}$ -канала, SOCC/ROCC,  $\text{K}^+$ -каналов, активность сокращения зависимой от эндотелия, математическо-статистической обработки полученных результатов.

В четвертой главе диссертации «**Вазорелаксантное действие дитерпеноидных алкалоидов (атизин, дигидроатизин, гетератизин, 6-О-бензоилгетератизин)**» представлены результаты исследования вазорелаксантных эффектов дитерпеновых алкалоидов (атизина, дигидроатизина, гетератизина и 6-О-бензоил гетератизина).

*Влияние дитерпеноидных алкалоидов Атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоилгетератизин на сокращение препарата гладкой мускулатуры аорты, вызванной KCl.* В экспериментах установлено, что дитерпеноидные алкалоиды атизин (3–100 мкМ), дигидроатизин (5–150 мкМ), гетератизин (5–150 мкМ) и 6-О-бензоилгетератизин (5–200 мкМ) существенное вазорелаксантное действие на активность изометрическое сокращения кровеносной сосуда аорты, вызванной KCl (50 мМ) в условиях *in vitro*. В частности, атизин при концентрации 3 мкМ уменьшает силу сокращения на  $17,4 \pm 4,3\%$  и при максимальной концентрации 100 мкМ на  $68,7 \pm 5,2\%$ . Кроме этого, дигидроатизин при концентрации 5 мкМ снижает силу сокращения на  $6,5 \pm 3,2\%$  по отношению к контролю а при концентрации 150 мкМ на  $56,5 \pm 4,5\%$ . Гетератизин при концентрации 5 мкМ снижает силу сокращения препарата аорты на  $6,5 \pm 2,4\%$  по отношению к контролю, при максимальной концентрации 150 мкМ на  $73,9 \pm 6,4\%$ , также 6-О-бензоилгетератизин при концентрации 5 мкМ снижает силу сокращения препарата аорты на  $6,5 \pm 2,4\%$  а при максимальной его концентрации 200 мкМ на  $73,8 \pm 4,6\%$  по отношению к контролю ( $n=4-6$ ). В данном случае для атизина, дигидроатизина, гетератизина и 6-О-бензоилгетератизина значения  $EC_{50}$  (концентрация снижающая на 50% максимальную силу сокращения)

составляли 32,6 мкМ или  $pD_2(-\log EC_{50})=4,494$ ; 54,7 мкМ или  $pD_2(-\log EC_{50})=4,262$ ; 36,9 мкМ или  $pD_2(-\log EC_{50})=4,433$  и 50,47 мкМ или  $pD_2(-\log EC_{50})=4,297$ , соответственно (1-А, Б – рис.).



**Рис. 1.** Концентрационнозависимое вазорелаксантное действие алкалоидов атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоилгетератизин на активность сокращения препарата аорты крыс, вызванной KCl (50 мМ). Сила сокращения, вызванная KCl (50 мМ) принята в качестве контроля (100%) (\* –  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ;  $n=4-6$ ).

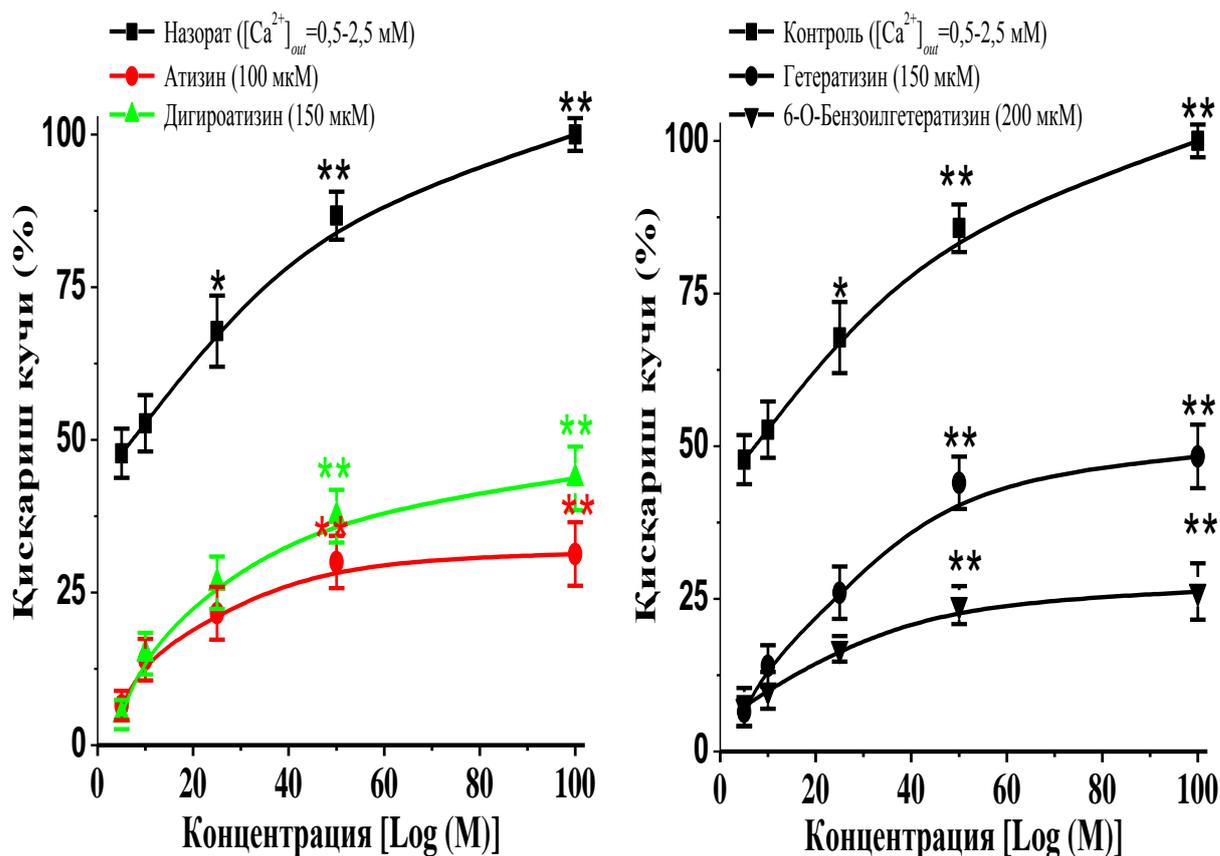
При обеспечении функциональной активности клеток гладкой мускулатуры кровеносных сосудов динамическое изменение  $[Ca^{2+}]_{in}$  имеет центральное значение (Ozaki et al., 1990; Karaki, 2004; Бирулина, 2016), было также показано, что вазорелаксантное действие некоторых агентов осуществляется посредством блокады  $Ca^{2+}_L$ -канала плазмолеммы клеток гладкой мускулатуры (Cherkaoui-Tangi et al., 2016).

Сокращение препарата гладкой мускулатуры аорты, вызванной KCl (50 мМ) зависит от активации  $Ca^{2+}_L$ -каналов через увеличение количества  $[K^+]_{out}$  в условиях деполяризации плазматической мембраны (Ozaki et al., 1990; Berridge, 1993; Karaki et al., 1997; Buus et al., 1998; Sanders, 2001; Webb, 2003; Karaki, 2004; Berridge, 2008; Ratz et al., 2005) и таким образом релаксантное действие некоторых дитерпеноидов (*in vitro*) возможно блокируются  $Ca^{2+}_L$ -каналы (Torres et al., 2000; Martinsen et al., 2010). На основе этого можно предположить, что вазорелаксантное действие алкалоидов атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоилгетератизин связано с блокадой  $Ca^{2+}_L$ -каналов и в свою очередь усменьшением  $[Ca^{2+}]_{in}$ .

Для подтверждения данного предположения в последующих экспериментах пользуясь физиологическим раствором Krebs-Хензелята, в составе которого  $[Ca^{2+}]_{out}=0,5-2,5$  мМ, анализировали вазорелаксантное действие алкалоида атизин (100 мкМ). Известно, что в условиях  $[Ca^{2+}]_{out}=2,5$  мМ амплитуда силы изометрического сокращения препарата гладкой

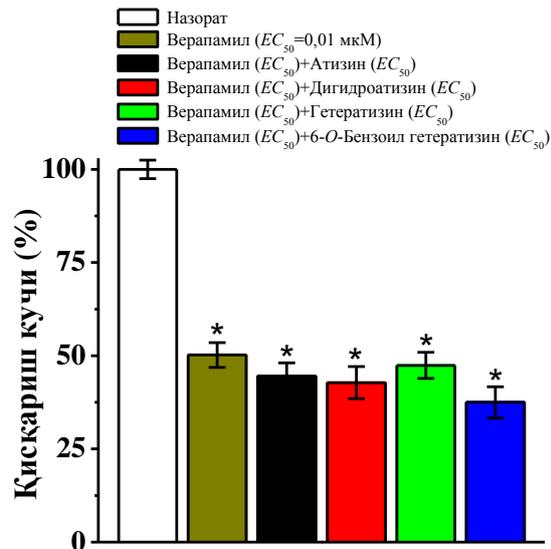
мускулатуры кровеносных сосудов достигает максимума (Nishimura et al., 2002).

В экспериментах было установлено вазорелаксантное действие атизина (100 мкМ), дигидроатизина (150 мкМ), гетератизина (150 мкМ) и 6-О-бензоилгетератизина (200 мкМ) действием на  $[Ca^{2+}]_{out}$  в физиологическом растворе Кребс-Хензелята, в составе которого  $[Ca^{2+}]_{out}=0,1-2,5$  мМ (рис. 2 А, Б).



**Рис. 2. Концентрационнозависимое релаксантное действие алкалоидов атизин, дигидроатизин, гетератизин и 6-О-бензоилгетератизин на активность сокращения препарата аорты крысы, вызванной KCl (50 мМ). Сила сокращения, вызванная KCl (50 мМ) принята в качестве контроля (100%) (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 4-6$ ).**

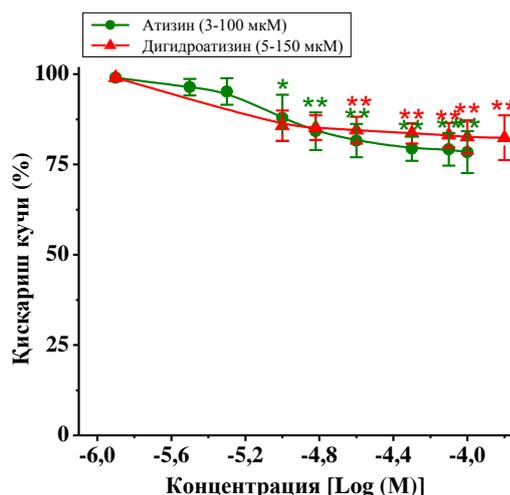
Кроме этого, при помощи использования стандартного блокатора  $Ca^{2+}_L$ -канала верапамила ( $EC_{50}=0,01$  мкМ) (Cleary et al., 2004) сила сокращения препарата гладкой мускулатуры аорты атизином ( $EC_{50}=32,6$  мкМ), дигидроатизином ( $EC_{50}=54,7$  мкМ), гетератизином ( $EC_{50}=36,9$  мкМ) 6-О-бензоилгетератизином ( $EC_{50}=50,47$  мкМ) составляла  $5,7 \pm 3,6\%$ ,  $7,4 \pm 4,3\%$ ,  $2,4 \pm 1,6\%$  и  $12,3 \pm 4,2\%$ , соответственно.



**Рис. 3. Вазорелаксантное действие атизина, дигидроатицина, гетератицина и 6-О-бензоилгетератицина вызванной KCl (50 мМ) в инкубационной среде, содержащей классического блокатора  $Ca^{2+}$ -канала препарата оарты крыс – верапамила ( $EC_{50}=0,01$  мкМ). Сила сокращения, вызванная KCl (50 мМ) принята в качестве контроля (100%) (\* –  $p<0,05$ ;  $n=4-6$ ).**

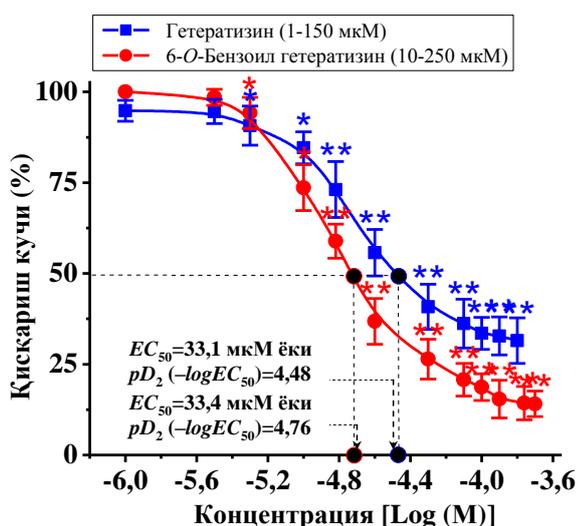
Роль SOCC/ROCC при вазорелаксантном действии дитерпеноидных алкалоидов атизин, дигидроатицин, гетератицин и 6-О-бензоилгетератицин. Активность сокращения гладкой мускулатуры связано с  $Ca^{2+}$ -каналом, депо-управляемым  $Ca^{2+}$ -каналом (SOCC; store-operated  $Ca^{2+}$ -channels) и рецепторно-действующим  $Ca^{2+}$ -каналом (ROCC; receptor-operative  $Ca^{2+}$ -channels) а также активацией СПР  $IP_3R$  (Savineau and Martahn, 2000; Соловьев, 2013; Cherkaoui-Tangi et al., 2016). Обычно в экспериментах (*in vitro*) при действии фармакологических агентов на изометрическое сокращение препарата гладкой мускулатуры кровеносных сосудов для оценки участия СПР  $Ca^{2+}$ -транспортных систем, SOCC/ROCC в качестве индуктора используют фенилэфрин (1 мкМ), который является агонистом  $\alpha_1$ -адренорецептора ( $\alpha_1$ -АР) (Karakı, 2004). При действии фенилэфрина (1 мкМ) активация  $\alpha_1$ -АР посредством G-белка активируется фосфолипаза C (PLC), в результате образуются фосфатидилинозитол 4,5-дифосфатдан инозитол 1,4,5-трифосфат ( $IP_3$ ) и диацилглицерол (DAG) (Berrige, 1993). Образовавшийся  $IP_3$  активирует рецептор инозитол 1,4,5-трифосфата ( $IP_3R$ ) на мембране СПР и наблюдается выход  $[Ca^{2+}]_{CP}$  в цитозоль. DAG участвует в механизме сокращения посредством активации протеинкиназы C (PKC) (Berrige, 1993).

В последующих экспериментах было установлено, что атизин (100 мкМ) и дигидроатицин (150 мкМ) снижают силу сокращения препарата гладкой мускулатуры аорты на  $21,6\pm 5,8\%$  и  $17,6\pm 6,2\%$ , соответственно в присутствии фенилэфрина (1 мкМ) (рис. 4).



**Рис. 4.** Вазорелаксантное действие атизина и дигидроатирина на активность сокращения препарата гладкой мускулатуры кровеносных сосудов аорты, вызванной агонистом  $\alpha_1$ -адренорецептора – фенилэфрина (1 мкМ) в инкубационной среде. Сила сокращения, вызванная КС1 (50 мМ) принята в качестве контроля (100%) (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 4-6$ ).

В следующих сериях экспериментов установлено, что гетератизин (1-150 мкМ) и *o*-бензоилгетератизин (10-250 мкМ) проявляют выраженное вазорелаксантное действие и сокращают силу гладкой мускулатуры аорты, вызванной фенилэфрином (1 мкМ) на  $68,5 \pm 6,3\%$  и  $85,9 \pm 3,5\%$ , соответственно. В данных условиях значение  $EC_{50}$  для гетератизина и *o*-бензоилгетератизина составляло 33,1 мкМ или  $pD_2(-\log EC_{50}) = 4,48$  и 33,4 мкМ или  $pD_2(-\log EC_{50}) = 4,76$ , соответственно (рис. - 5).

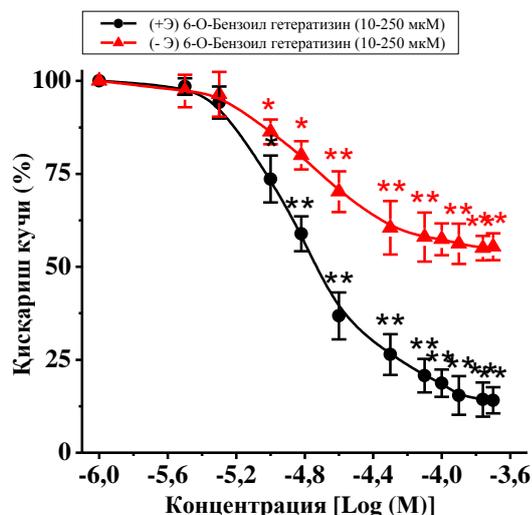


**Рис. 5.** Вазорелаксантное действие гетератизина и *o*-бензоилгетератизина на активность сокращения препарата гладкой мускулатуры кровеносных сосудов аорты, вызванной агонистом  $\alpha_1$ -адренорецептора – фенилэфрина (1 мкМ) в инкубационной среде. Сила сокращения, вызванная КС1 (50 мМ) принята в качестве контроля (100%) (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 4-6$ ).

Как уже отмечалось вышепри сокращении препарата гладкой мускулатуры кровеносных сосудов под воздействием агониста  $\alpha_1$ -АР фенилэфрина (1 мкМ) функционируют  $IP_3$ -рецептор СРР, ROCC/SOCC (Ozaki et al., 1990; Karaki et al., 1997; Nilius et al., 1997; Buus et al., 1998; Somlyo and Somlyo, 2000; Sanders, 2001; Vandier et al., 2002; Webb, 2003; Berridge, 2008). Также в рамках исследований установлено, что алкалоиды дигидроатизин, 6-*O*-бензоилгетаратизин алкалоидлари в кардиомиоцитах на уровне СРП воздействуют на динамику  $Ca^{2+}$ -транспорта снижают уровень  $[Ca^{2+}]_{in}$  (Sagdullaev et al., 1998). На основе этих данных и анализа экспериментальных результатов предположили, что вазорелаксантное действие гетератизина (1–150 мкМ) и 6-*O*-бензоилгетератизина (10–250 мкМ) опосредовано блокадой  $Ca^{2+}_L$ -канала,  $IP_3$ -рецептора и ROCC/SOCC (Bakieva et al., 2019). Также установлено, что вазорелаксантное действие атизина (3–100 мкМ) и дигидроатизина (5–150 мкМ) не связан с модуляцией функции  $IP_3$ -рецептора, ROCC/SOCC.

*Роль NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG каскада реакции при вазорелаксантном действии дитерпеноидных алкалоидов гетератизин и 6-*O*-бензоилгетератизин.* Известно, что дисфункция ион-транспортной системы клеток эндотелия кровеносных сосудов играют важную роль при патогенезе заболевания сердечно-сосудистой системы (Vanhoutte, 1997; Schiffrin, 2002; Halcox et al., 2002; Ohya and Fujishima, 2002; Brunner et al., 2005; Luna-Vazquez et al., 2017) и при воздействии некоторых вазорелаксантных агентов в клетках эндотелия кровеносных сосудов увеличивается генерация NO за счет активации эндотелиальной азот оксид синтазы (*e*NOS) и в свою очередь активизируется гуанилатциклаза (ГЦ), увеличивается  $[цГМФ]_{in}$ , активизируется каскад реакций PKG за счет чего индуцируется процесс вазорелаксации (Drewett and Garbers, 1994; Andreopoulos and Papapetropoulos, 2000; Северина, 2002; Cherkaoui-Tangi et al., 2016). Кроме этого, релаксантное действие некоторых дитерпеноидных алкалоидов осуществляется активацией каскада NO/[цГМФ]<sub>in</sub> реакций и блокадой  $Ca^{2+}_L$ -каналов (Mitamura et al., 2002; Martinsen et al., 2010). В этом отношении, в следующих сериях экспериментов исследовалось возможное участие активации каскада NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG реакций при вазорелаксантном действии гетаратизина и 6-*O*-бензоилгетератизина. В экспериментах были удалены эндотелийные слои и исследованы вазорелаксантное действие гетерозина (5–200 мкМ) в присутствии в инкубационной среде блокатора NO-синтазы – L-NAME (100 мкМ) и ингибитора циклооксигеназы – индометацина (10 мкМ). Полученные результаты свидетельствуют о том, что вазорелаксантное действие гетаратизина не меняется. Однако, вазорелаксантное действие 6-*O*-бензоилгетератизина (10–250 мкМ) снижается. При удалении эндотелийного слоя вазорелаксантное действие 6-*O*-бензоилгетератизина (10–250 мкМ) снижается с  $85,9 \pm 3,5\%$  до  $44,6 \pm 3,6\%$ . Кроме этого в присутствии в инкубационной среде *e*NOS блокатора – L-NAME (100 мкМ) и ингибитора

циклооксигеназы – индометацина (10 мкМ) снижается от 85,9±3,5% до 35,2±4,2% (рис. – 6, табл.-1).



**Рис. 6.** Эндотелийзависимое вазорелаксантное действие алкалоида 6–О–бензоилгетератизин на силу сокращения гладкой мышцы препарата аорты крыс. Сила сокращения, вызванная фенилэфрином (1 мкМ) принята за 100 % (+Э – в присутствии эндотелия, контроль). –Э – при отсутствии эндотелия (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ;  $n = 4-6$ ).

**Таблица-1**

**Вазорелаксантное действие 6–О–бензоилгетератизина в присутствии в инкубационной среде блокатора eNO–синтазы – L–NAME (100 мкМ) и ингибитора циклооксигеназы – индометацина (10 мкМ) ( $M \pm m$ )**

6–О–Бензоилгетератизин	Экспериментальная группа	Концентрация (мкМ)				
		10	50	100	200	250
	контроль	73,6±6,3	26,4±5,5	18,7±3,7	14,3±4,6	14,1±3,5
	L–NAME (100 мкМ)+ Индометацин (10 мкМ)	88,5±7,3	70,2±7,6*	67,3±4,7*	65,9±3,8**	64,8±4,2**

**Примечание:** Сила сокращения, вызванная фенилэфрином (1 мкМ) принята за 100% (контроль) (\* –  $p < 0,05$  и \*\* –  $p < 0,01$ ;  $n = 4-6$ ).

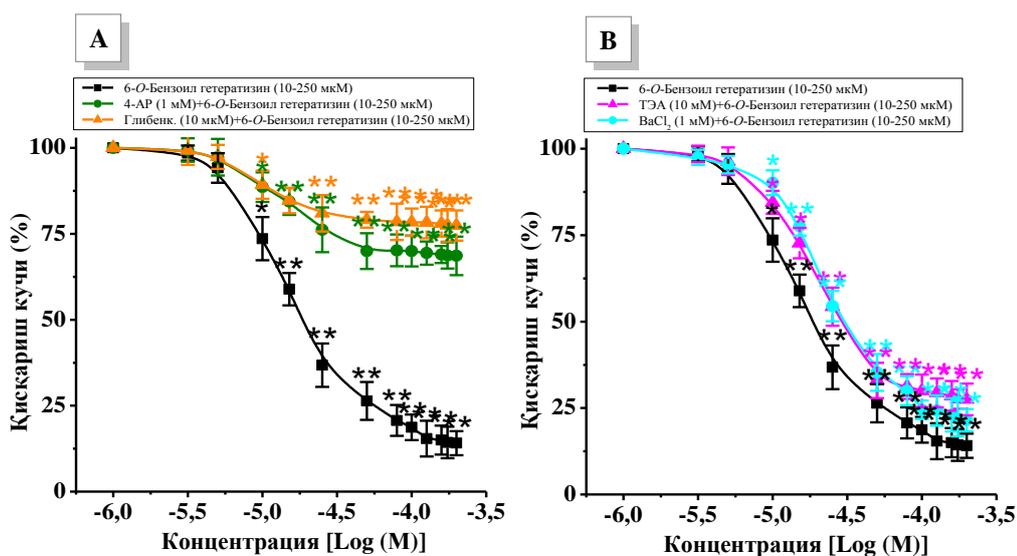
Полученные результаты и анализ литературных данных подтверждают, что вазорелаксантное действие 6–О–бензоилгетератизина связан с активацией каскада NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG реакции.

Активация каскада реакции NO/[цГМФ]<sub>in</sub> в условиях блокады Ca<sup>2+</sup><sub>L</sub>-канала усиливает эффект продолжительной вазорелаксации (Salomone et al., 1995; Salomone et al., 1996). Предполагается, что вазорелаксантное действие некоторых фармакологических агентов связан с активацией K<sup>+</sup>-каналов посредством NO/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG каскада реакций (Lozano–Cuenca et al., 2017). Показано, что K<sup>+</sup>-каналы регулируются активацией NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG каскада реакций (Eichhorn and Dobrev, 2007). Также установлено, что вазорелаксантное действие дитерпеноидных алкалоидов на клетках гладкой мускулатуры кровеносных сосудов осуществляется блокадой Ca<sup>2+</sup>-канала,

активацией  $K^+$ -канала, активацией NO/цГМФ каскада реакций (Wada, 2002; Ogura et al., 2004; Tirapelli et al., 2010; Luna-Vazquez et al., 2013). Исходя из этого в последующих сериях экспериментов изучали вероятность участия  $K^+$ -каналов при вазорелаксантном действии 6-О-бензоилгетератизина.

*Участие  $K^+$ -каналов при вазорелаксантном действии дитерпеноидного алкалоида 6-О-бензоилгетератизин.* В экспериментах установлено, что при вазорелаксантном действии 6-О-бензоилгетератизина смещается вправо по кривой в присутствии блокатора потенциалзависимого  $K^+$ -канала ( $K_V$ -канал) – 4-аминопиридина (4-АП; 1 мМ) и блокатора  $K_{ATP}$ -канала – глибенкламида (10 мкМ) (рис. 7А). Вазорелаксантное действие алкалоида 6-О-бензоилгетератизина в присутствии неспецифического блокатора  $ВК_{Ca}$ -каналов – тетраэтиламмония (ТЭА; 10 мМ) и неспецифического блокатора  $K_{IR}$ -каналов –  $BaCl_2$  (1 мМ) не меняется (рис 7Б).

В обеспечении функциональной активности кровеносных сосудов в допустимых физиологических/патологических условиях  $K^+$ -каналы играют важную роль и при этом многие вазорелаксантные агенты действуют именно посредством активации  $K^+$ -каналов (Calderone et al., 2004; Dong et al., 2004; Cogolludo et al., 2007).



7-рис. А. Вазорелаксантное действие на силу сокращения препарата аорты крыс 6-О-бензоилгетератизина в присутствии блокатора  $K_V$ -канала – 4-АП (1 мМ) и блокатора  $K_{ATP}$ -канала – глибенкламида (10 мкМ) в инкубационной среде. Б. Вазорелаксантное действие 6-О-бензоилгетератизина в присутствии в инкубационной среде неспецифического блокатора  $ВК_{Ca}$ -каналов – ТЭА (10 мМ), неспецифического блокатора  $K_{IR}$ -каналов –  $BaCl_2$  (1 мМ). Сила сокращения, вызванная фенилэфрином (1 мкМ) принята за 100 % (+Э – в присутствии эндотелия, контроль). –Э – при отсутствии эндотелия (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ;  $n = 4-6$ ).

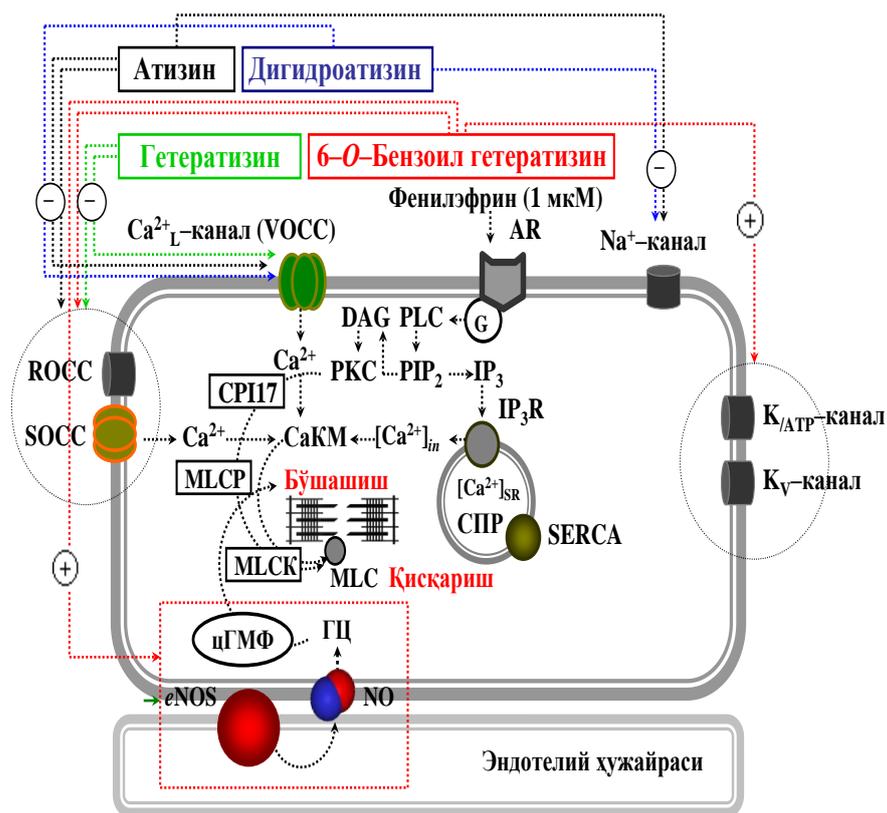
Вазорелаксантное действие биологически активных соединений, механизм действия которых изучен подробно, важную роль играют блокада  $Ca^{2+}_L$ -канала, NO/[цГМФ]in/PKG каскад реакций и активация  $K^+$ -каналов (Luna-Vazquez et al., 2013). В некоторых литературных источниках описано, что релаксантное действие соединений ряда дитерпенов связан с блокадой

Ca<sup>2+</sup><sub>L</sub>-канала и активацией K<sup>+</sup>-каналов (Santos et al., 2012; Rieg et al., 2013; Martins et al., 2013). В частности, предположено, что при фармакологическом действии дитерпеноидных алкалоидов, выделенных из растений рода *Aconitum* L., важную роль играют модуляция активности K<sup>+</sup>-каналов (Wang et al., 1996; Song et al., 2006; Li et al., 2010; Vakhitova et al., 2013; Kiss et al., 2017). В исследованиях показано существенная активация K<sup>+</sup>-каналов типа GIRK и hERG под влиянием дитерпеноидных алкалоидов в зависимости от их химической структуры (Kiss et al., 2017). Также показано, что увеличение количества [цГМФ]<sub>in</sub> посредством активации ГЦ, активация PKG под воздействием [цГМФ]<sub>in</sub> и активация K<sub>АТФ</sub>-канала за счет фосфорилирования приводит к вазорелаксации (Davie et al., 1998; Minamiyama et al., 2007). Установлено, что при активации K<sup>+</sup>-каналов (BK<sub>Ca</sub>-канал и K<sub>V</sub>-канал) плазмолеммы релаксация через PKG имеет важное значение (Zhao et al., 1997; Tanaka et al., 2006; Cairrao et al., 2010). На основе полученных результатов и литературных данных было предположено, что вазорелаксантное действие 6-О-бензоилгетератизина связан с NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG каскадом реакций и активацией K<sup>+</sup>-каналов (K<sub>V</sub>-канал и K<sub>АТФ</sub>-канал) в комплексе.

*Фармакологическая активность дитерпеноидных алкалоидов в зависимости от их химической структуры.* Дитерпеноидные алкалоиды широкого спектра биологической активности, имеющие бензольное кольцо в их молекуле, проявляют довольно высокую терапевтическую активность (Ageeva et al., 2018). Биологическая активность дитерпеноидных алкалоидов исследовались рядом исследователей Dzhakhangirov et al., 2013; Borsca et al., 2014). В частности, установлено, что замещение метоксильной группы (-OCH<sub>3</sub>) в положении С(1) на гидроксильной группой (-ОН) в химической структуре дитерпеноидного алкалоида приводит к снижению активности Na<sup>+</sup>-канала (Borsca et al., 2014; Юнусов, 2014). В этом отношении следует отметить в экспериментах вазорелаксантное действие дигидроатизина (EC<sub>50</sub>=54,7 мкМ) меньше по сравнению с атизином (EC<sub>50</sub>=32,6 мкМ) на силу сокращения препарата гладкой мускулатуры аорты, вызванной KCl (50 мМ), т.е. эти результаты согласуются с литературными данными. Данное свойство можно объяснить замещением метоксильной группы (-OCH<sub>3</sub>) в положении С(22) на гидроксильную (-ОН) и образованием дигидрооксида в положениях С(15)- и С(22).

В отличие от гетеротизина алкалоид 6-О-бензоилгетератизин, имеющий бензольное кольцо в С(6) позиции проявляет более выраженную фармакологическую активность (Юнусов ва бошқ., 1982; Юнусов, 2001; Юнусов, 2014). В дитерпеноидных алкалоидах, выделенных из растений рода *Aconitum* L. (*Ranunculaceae*), имеющие бензольное кольцо в положении С(14) проявляют более высокую спазмолитическую активность (Dzhakhangirov et al., 2013). Повышение фармакологической активности широкого спектра действия дитерпеноидных алкалоидов, имеющие в их молекуле бензольное кольцо подтверждено рядом исследователей (Pelletier et al., 1965; Wang et al.,

1968; Dzhakhangirov and Sadritinov, 1977; Kuzibaeva et al., 1996; Dzhakhangirov et al., 1997; Sagdullaev, 1998; Nyirimigabo et al., 2014). Установлено, что кардиоваскулярное действие дитерпеноидных алкалоидов зависит от  $\beta$ -ОН в позиции С(13),  $\alpha$ -ароида в позиции С(14),  $\beta$ -ацетатаи -ОН в позиции С(8), метоксильной группы в положении С(1), С(14) и С(16) (Dzhakhangirov et al., 1997), а бензольное кольцо в С(14) позиции дитерпеноидного алкалоида (6-О-бензоилгетератизин и др.) существенно повышает их фармакологическую активность (Kuzibaeva et al., 1996; Dzhakhangirov et al., 1997; Nyirimigabo et al., 2014). Дитерпеноидные алкалоиды имеющие бензольное кольцо в С(14)/С(4) позициях (в частности 6-О-бензоилгетератизин) блокируют  $\text{Na}^+$ -канал (Gutser et al., 1998; Ameri and Simmet, 1999). Таким образом, на основе полученных результатов и литературных данных установлено, что алкалоиды гетератизин и 6-О-бензоилгетератизин обладают существенным вазорелаксantным действием. Вазорелаксantное действие гетеротизина в основном связан с блокировкой  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -канала, SOCC/ROCC, а в случае 6-О-бензоилгетератизина на равне с блокировкой  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -канала, SOCC/ROCC также с NO/ГЦ/[цГМФ]<sub>in</sub>/PKG каскадом реакций и с модуляцией  $\text{K}^+$ -каналов ( $\text{K}_{\text{V}}$ -канал и  $\text{K}_{\text{ATP}}$ -канал).



**Рис. 8. Предположительный вазорелаксantный механизм исследованных дитерпеноидных алкалоидов (атизин, дигидроатизин, гетератизин ва 6-О-бензоил гетератизин).** Здесь СРР – саркоплазматический ретикулум;  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$  – концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле; SERCA – СР  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза; eNOS – эндотелиал NO-синтаза; NO – оксид азот; ГЦ – гуанилатциклаза; цГМФ – циклический гуанозин монофосфат; СаМК – фермент кальмодулин киназа, активирующаяся под воздействием ионов  $\text{Ca}^{2+}$ ; MLC – легкая цепь миозина; PLC – фосфолипаза С; DAG – диацилглицерол; IP<sub>3</sub> – инозитол 1,4,5-фосфат;

VOOC – потенциалзависимый  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -канал; SOCC – депо активируемый  $\text{Ca}^{2+}$ -канал; MLCK – MLC киназа; GPCR – G протеинзависимый рецептор;  $\text{IP}_3\text{R}$  – рецептор инозитол 1,4,5-фосфата;  $\text{PIP}_2$  – фосфадитилинозитол 4,5-бифосфат;  $\text{K}_{\text{АТР}}$ -канал – АТФ-зависимый активируемый  $\text{K}^+$ -канал;  $\text{K}_{\text{V}}$ -канал – потенциалзависимый активируемый  $\text{K}^+$ -канал.

Дитерпеноидные алкалоиды атизин, дигидроатицин, гетератицин и 6-*O*-бензоилгетератицин, выделенные из растений рода *Aconitum* L. в зависимости от их химической структуры и использованной концентрации обладают вазорелаксantным действием и в данном случае вазорелаксantное действие атицина и дигидроатицина проявляется за счет блокады  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -канала, SOCC/ROCC и частично  $\text{Na}^+$ -каналов. Вазорелаксantное действие гетератицина проявляется за счет блокады  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -канала, SOCC/ROCC, а вазорелаксantное действие 6-*O*-бензоилгетератицин, который отличается от гетерозина бензольным кольцом в положении С(6), за счет блокады  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -канала и SOCC/ROCC, каскадом  $\text{NO}/\text{ГЦ}/[\text{цГМФ}]_{\text{in}}/\text{PKG}$  реакции и модуляцией  $\text{K}^+$ -каналов ( $\text{K}_{\text{V}}$ -канал и  $\text{K}_{\text{АТР}}$ -канал) (рис. 8).

Полученные практические/экспериментальные результаты в рамках данного исследования могут послужить теоретической основой при разработке вазорелаксantных фармакологических препаратов.

## ВЫВОДЫ

1. Дитерпеноидные алкалоиды атизин, гетератицин, дигидроатицин, 6-*O*-бензоилгетератицин обладают ярко выраженной вазорелаксantной активностью, которая зависит от их химического состава и использованной концентрации.

2. Вазорелаксantное влияние дитерпеноидных алкалоидов атицин, гетератицин, дигидроатицин, 6-*O*-бензоилгетератицин зависит от  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов, а также SOCC/ROCC блокады.

3. Доказано, что вазорелаксantное влияние дитерпеноидных алкалоидов атицин и дигидроатицина частично связано с блокадой  $\text{Na}^+$ -каналов.

4. Описывается, что вазорелаксantное влияние 6-*O*-бензоилгетератицина, отличающееся расположением в химической структуре бензоилной группы в С(6)-позиции наряду с блокадой  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов и SOCC/ROCC, связано с активацией  $\text{K}^+$ -каналов ( $\text{K}_{\text{V}}$ -канал,  $\text{K}_{\text{АТР}}$ -канал) комплексно с каскадом реакций  $\text{NO}/\text{ГЦ}/[\text{цГМФ}]_{\text{in}}/\text{PKG}$ .

5. На основе анализа механизма вазорелаксantного влияния изученных дитерпеноидных алкалоидов атицин, гетератицин, дигидроатицин, 6-*O*-бензоилгетератицин, а также закономерностей между их структурой и активностью, алкалоид 6-*O*-бензоилгетератицин рекомендован в качестве перспективного кандидата для создания нового эффективного лекарственного препарата для лечения и профилактики гипертонии.

**SCIENTIFIC COUNCIL PhD.28.09.2018.B.76.01 ON AWARDING  
SCIENTIFIC DEGREES AT NAMANGAN STATE UNIVERSITY**

---

**NAMANGAN STATE UNIVERSITY**

**BAKIEVA MUAZZAM SHARIFDJONOVNA**

**THE CHARACTERISTIC OF VASORELAXANT EFFECTS OF THE SOME  
DITERPENE ALKALOIDS (ATISINE, DIHYDROATISINE, HETERATISINE, 6-O-  
BENZOYL HETERATISINE)**

**03.00.08 – Human and animal physiology**

**DISSERTATION ABSTRACT OF THE DOCTOR OF PHILOSOPHY (PhD) OF  
BIOLOGICAL SCIENCES**

**Namangan - 2019**

**The title of the Doctor of Philosophy (PhD) dissertation is registered in the Higher Attestation Commission under the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan for B2019.1.PhD/B276.**

The dissertation has been carried out at the Namangan State university

The abstract of the dissertation is posted in three languages (Uzbek, Russian and English (resume)) on the webpage of the Scientific Council (info@namdu.uz) and Ziyonet information and educational portal (www.ziyonet.uz).

**Scientific director:** **Zaynabidinov Anvar Erkinjanovich**  
doctor of biological sciences, dosent

**Official opponents:** **Saidbaeva Lola Muxamedovna**  
doctor of biological sciences, professor

**Gayibov Ulugbek Gapparjanovich**  
doctor of Philosophy (PhD)

**Leading organization:** **Tashkent State pedagogical university**

The defense of the thesis will be held on « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2019 at \_\_\_\_ hours at the meeting of the Scientific Council PhD.28.09.2018.B.76.01 at Namangan State University (Address: 160119, Namangan, Uychi St., 316-house. (+99869) 227-06-12; fax: (+99869) 227-07-61; e-mail: info@namdu.uz).

The dissertation is available at the Information Resource Center of Namangan State University (registered under No. \_\_\_\_). Address: 160119, Namangan, st. Uychi, 316-house. Tel: (+99869) 227-29-81.

The dissertation abstract is sent out: « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2019  
(registry of the distribution protocol No. « \_\_\_\_ » dated \_\_\_\_\_ 2019)

A.E. Zaynabidinov  
Chairman of the Scientific Council  
for awarding of the scientific  
degrees, DSc

H.E. Ergasheva  
Scientific Secretary of the Scientific  
Council for awarding of the  
scientific degrees, PhD in biological  
sciences

A.R. Batoshov  
Chairman of the Scientific Seminar  
Council for awarding of the  
scientific degrees, DSc

## INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

**The aim of the research work** is the characterization of the vasorelaxant effect of diterpenoid alkaloids atisine, dihydroatisine, heterizine, 6-*O*-benzoylheteratisine isolated from *Aconitum L.* plants depending on their chemical structure.

**The objects of the research work** are diterpenoid alkaloids atisine, heterizine, dihydroatisine, 6-*O*-benzoylheratisine isolated from *Aconitum L.* (*Ranunculaceae*) plants, rat aortic preparation.

**The scientific novelty of the research is as follows:** The vasorelaxant effect of the diterpenoid alkaloids atisine, heterizine, dihydroatisine, 6-*O*-benzoylheratisine was established. Their biological activity depends on their chemical structure and used concentration; the vasorelaxant effect of the diterpenoid alkaloids atisine, heterizine, dihydroatisine, 6-*O*-benzoylheratisine depends on the blockade of  $\text{Ca}^{2+}$  L channels and SOCC/ROCC; the vasorelaxant effect of diterpenoid alkaloids atisine and heterizine was proved depending on the blockade of  $\text{Na}^+$  channels; the vasorelaxant action of 6-*O*-benzoylheratisine which contains a benzene ring at position C(6) was established, and the effect of this alkaloid depends on the blockade of  $\text{Ca}^{2+}$  L channels and SOCC/ROCC as well as in a complex state with the cascade of the reaction  $\text{NO/GC/[cGMP]}_{in}/\text{PKG}$  activation  $\text{K}^+$  channels ( $\text{K}_v$  channel,  $\text{KATP}$  channel);

**Implementation of the research results:** On the base of the obtained data on the characteristic of the vasorelaxant action of the diterpenoid alkaloids atisine, dihydroatisine, heterizine, 6-*O*-benzoylheteratisine isolated from *Aconitum L.* plants depending on their chemical structure:

the properties of the alkaloids atisine, dihydroatisine, which reduce the activity of  $\text{Ca}^{2+}_L$  channels, were used to describe the cardiotropic effect of atisine, dihydroatisine in the FA-F6-T083 project "Search and characterization of modulation pathways of  $\text{Ca}^{2+}$  - homeostasis of cardiac and smooth muscle cells with biologically active substances" (Reference No. 4/1255-1738 of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan dated July 19, 2019). As a result, made it possible to characterize the involvement of the  $\text{Ca}^{2+}_L$  - channel blockade under the inotropic/antiarrhythmic influence of atisine and dihydroatisin alkaloids;

the vasorelaxant action of the 6-*O*-benzoylheteratisine alkaloid was used in the framework of the FA-A11-T060 project "Search for new modulators of control of cell volume and volume-dependent anion channels" to describe the properties of new modulators of control of volume of cells and volume-dependent anion channels as and anti-cancer drugs (Reference of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No.-4/1255-2532 Dated September 23, 2019). The obtained results made it possible to characterize the properties of new modulators for controlling the volume of cells and volume-dependent anion channels during the vasorelaxant action of the 6-*O*-benzoylheteratisine alkaloid.

**The structure and volume of the thesis.** The structure of the thesis consists of introduction, 4 chapters, conclusions, references. The volume of the thesis is 116 pages.

**ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ**  
**СПИСОК ОПУБЛИКАВАННЫХ РАБОТ**  
**LIST OF PUBLISHED WORKS**

**I бўлим ( Iчасть; Part I)**

1. Бакиева М.Ш., Зайнабиддинов А.Э., Усманов П.Б. Вазорелаксантное действие дитерпеноидного алкалоида 6-О-бензоилгетеротизина на функциональную активность гладкомышечных клеток аорты крысы // UNIVERSUM. Химия и биология. – Москва, 2019. – № 4. – Р. 10-14 (02.00.00; №1).

2. Bakiyeva M.SH, Zaynabiddinov A.E., Usmanov P.B., Esimbetov A.T Vasorelaxant Effect of Heteratisine and 6-O-Benzoyl Heteratizine on Functional Activity of Aorta Smooth Muscle Cells // International journal of Current Microbiology and Applied Sciences. ISSN: 2319-7706 Volume 8. – № 04. 2019. – P. 2624-2630. (03.00.00; № 25).

3.Бакиева М.Ш., Зайнабиддинов А.Э. Атизин ва Дигидроатизин дитерпеноид алкалоидларининг вазорелаксант таъсирида на каналларининг иштирокини ўрганиш // Инфекция иммунитет и фармакология. Научно-практический журнал. – Ташкент, 2019. – № 2. – Б. 37-41. (03.00.00; № 7).

4.Бакиева М.Ш., Зайнабиддинов А.Э. Атизин ва Дигидроатизин дитерпеноид алкалоидларининг кимёвий структурасига боғлиқ вазорелаксант таъсири // Инфекция иммунитет и фармакология. Научно-практический журнал. – Ташкент. 2019. – № 2. – Б. 42-48. (03.00.00; № 7).

5. Бакиева М.Ш., Зайнабиддинов А.Э. Влияние алкалоида атизина на сократительную активность ГМК аорты крыс // Наманган давлат университети илмий ахборотномаси. 2019. –№ 2. – Б. 64-68. (03.00.00; № 17)

**II-бўлим(II часть; Part II)**

6. Бакиева М.Ш., Умркулова С.Х., Голованов В.И., Действие экстрактов слюнных желез клещей *Hyalomma asiaticum* на сократительную активность гладкомышечных клеток аорты крысы. // Российский паразитологический журнал. 2014. – № 2 – С. 15-17.

7. Бакиева М.Ш., Есимбетов А.Т., Усманов П.Б., Салимов Б.Т. Действие алкалоида дигироатизина на сократительную активность гладких мышц аорты крысы. // Актуальные проблемы современной физиологии и биофизики-конференция. – Ташкент, 2010. 37-с.

8. Бакиева М.Ш., Умркулова С.Х. Релаксантное действие секретов слюнных желез клещей *Hyalomma asiaticum* на сократительную активность гладкомышечных клеток аорты крысы // Школа-конференция молодых ученых на база Института фундаментальных проблем биологии РАН. – Пущино, 2013. 60-с.

9. Бакиева М.Ш., Зайнабиддинов А.Э., Усманов П.Б. Вазорелаксантное действие алкалоида атизина на функциональную активность гмк аорты крысы // Биорганик кимё фани муаммолари 9 Республика ёш кимёгарлар конференцияси материаллари 1-том. – НамДУ. 2019. – Б. 41-44.

10. Bakiyeva M.SH, Zaynabiddinov A.E., Usmanov P.B., Esimbetov A.T The comparative vasorelaxant effect of heteratisine and 6-O-benzoylheteratisine on contractile activity of rat aorta smooth muscle cells // Scientific research of the sco countries // Synergy and Integration. – Minzu University of China –conference, 2019. – P.102-106.

Автореферат «Наманган Давлат университети Илмий ахборотномаси»  
журналида таҳрирдан ўтказилди.