

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ БИОФИЗИКА ВА  
БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР  
БЕРУВЧИ DSc.03/30.12.2019.B.01.13 РАҚАМЛИ  
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**БИОФИЗИКА ВА БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ**

**АБДУЛЛАЕВА ГУЛБОҲОР ТОЛИБЖОНОВНА**

**ПОЛИФЕНОЛ БИРИКМАЛАРНИНГ МИТОХОНДРИЯ  
ФУНКЦИОНАЛ ПАРАМЕТРЛАРИГА ТАЪСИРИ ҲАМДА УЛАРНИ  
АНТИГИПОКСИК ФАОЛЛИГИ**

**03.00.02 – Биофизика ва радиобиология  
03.00.08 – Одам ва ҳайвонлар физиологияси**

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc)  
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

**Тошкент - 2021**

УДК: 577.121.7:612.111.14

**Фан доктори (DSc) диссертацияси автореферати мундарижаси**

**Оглавление автореферата диссертации доктора наук (DSc)**

**Content of the abstract of doctor of science (DSc)**

**Абдуллаева Гулбоҳор Толибжоновна**

Полифенол бирикмаларнинг митохондрия функционал параметрларига таъсири ҳамда уларни антигипоксик фаоллиги .....3

**Абдуллаева Гулбоҳор Толибжоновна**

Действие полифенольных соединений на функциональные параметры митохондрий и их антигипоксанта́ная активность.....31

**Abdullaeva Gulbokhor Tolibjonovna**

The effect of polyphenolic compounds on the functional parameters of mitochondria and their antihypoxant activity .....59

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works ..... 63

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ БИОФИЗИКА ВА  
БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР  
БЕРУВЧИ DSc.03/30.12.2019.B.01.13 РАҚАМЛИ  
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**БИОФИЗИКА ВА БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ**

**АБДУЛЛАЕВА ГУЛБОҲОР ТОЛИБЖОНОВНА**

**ПОЛИФЕНОЛ БИРИКМАЛАРНИНГ МИТОХОНДРИЯ  
ФУНКЦИОНАЛ ПАРАМЕТРЛАРИГА ТАЪСИРИ ҲАМДА УЛАРНИ  
АНТИГИПОКСИК ФАОЛЛИГИ**

**03.00.02 – Биофизика ва радиобиология  
03.00.08 – Одам ва ҳайвонлар физиологияси**

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc)  
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

**Тошкент - 2021**

**Фан доктори (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида B2021.1.DSc/B93 рақам билан рўйхатга олинган.**

Докторлик диссертацияси Ўзбекистон Миллий университети ҳузуридаги Биофизика ва биокимё институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифаси [www.nuu.uz](http://www.nuu.uz) va «ZiyoNet» ахборот таълим тармоғида ([www.ziynet.uz](http://www.ziynet.uz)) жойлаштирилган.

<b>Илмий маслаҳатчи:</b>	<b>Асраров Музаффар Исламович</b> биология фанлари доктори, профессор
<b>Расмий оппонентлар:</b>	<b>Курбанназарова Раънохон Шараповна</b> биология фанлари доктори <b>Зайнобиддинов Анвар Эркинжонович</b> биология фанлари доктори, профессор <b>Ахмеров Рашид Насипович</b> биология фанлари доктори, профессор
<b>Етакчи ташкилот:</b>	<b>Қарши давлат университети</b>

Диссертация ҳимояси Ўзбекистон Миллий университети Биофизика ва биокимё институти ҳузуридаги Илмий даражалар берувчи DSc.03/30.12.2019.B.01.13 рақамли илмий кенгашнинг 2021 йил «28» июль соат 14<sup>00</sup> даги мажлисида бўлиб ўтади (манзил: 100174, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси, 174-уй. Тел.: (99871) 246-68-96).

Диссертация билан Биофизика ва биокимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (№ 28 рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 100174, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси, 174-уй. Тел.: (99871) 246-68-96, e-mail: [ibb-nuu@mail.ru](mailto:ibb-nuu@mail.ru).

Диссертация автореферати 2021 йил «13» июль кuni тарқатилди.  
(2021 йил «13» июль даги № 1 рақамли реестр баённомаси).



**Сабиров Равшан Заирович**  
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш  
раиси, б.ф.д., академик

**Позиллов Маъмуржон Комилжонович**  
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш  
илмий котиби, б.ф.д.

**Ахмеджанов Искандар Гулямович**  
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш қошидаги  
илмий семинар раиси, б.ф.д., профессор

## КИРИШ (Фан доктори (DSc) диссертациясининг аннотацияси)

**Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати.** Бугунги кунда дунёдаги замонавий тиббий - биологик тадқиқотлар, турли касалликлар патогенези ривожланишида, уларнинг келиб чиқиш этиологиясидан қатъий назар, гипоксия асосий омил эканлигини кўрсатди. Гипоксия таъсири юрак ишемик касалликлари, қон айланиш ва нафас тизимидаги бузилишлар, иммун тизим, нейродегенератив ва бошқа касалликлар ривожланиш патогенезида кузатилади. Гипоксия шароитида тўқима ва ҳужайраларда молекуляр  $O_2$  миқдорининг мутлоқ ёки нисбий танқислиги туфайли юзага келадиган митохондрия дисфункцияси қайд этилган, нафас занжирида кислород фаол шаклининг (ROS) генерацияси ҳамда эркин радикалли жараёнларни фаоллашуви кузатилган. Гипоксиядаги физиологик, мембранавий ва метаболик бузилишларни антигипоксонт препаратлар билан фармакологик коррекция қилиш соғлиқни сақлаш, фармацевтика ва замонавий биологиянинг долзарб муаммоларидан биридир.

Дунёнинг етакчи илмий тадқиқот марказларида ўсимлик полифенолларининг одам ва ҳайвонлар организмга таъсир механизмлари бўйича жадал илмий изланишлар олиб борилмоқда. Тадқиқотлар натижасида полифенолларнинг организмга турли патологияларда терапевтик таъсир этиши ва уларнинг антиоксидантлик, мембранафаоллик ҳамда антигипоксонтлик хоссалари аниқланган. Янги антигипоксонт доривор воситаларни идентификациялаш борасида олиб борилаётган илмий изланишлар, полифенол бирикмаларнинг гипоксия шароитида организмга молекуляр, митохондриял ва ҳужайра даражаларида таъсир механизмларини аниқлашни тақозо этади.

Мамлакатимизда бугунги кунда маҳаллий ўсимлик хом ашёси асосида антигипоксонт препаратлар яратиш ва уларнинг организмга таъсирини аниқлаш мақсадида илмий изланишлар олиб борилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси 4-йўналишида «...фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларининг арзон, сифатли дори воситалари ва тиббиёт буюмлари билан таъминланишини яхшилаш ....» юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган<sup>1</sup>. Мазкур вазифалардан келиб чиқиб, маҳаллий ўсимликлардан ажратилган полифенол бирикмаларнинг мембранавий, метаболик ва митохондриял жараёнларга таъсирини аниқлаш ҳамда улар асосида антигипоксонт ва антиоксидант фаолликга эга фармакологик воситаларни яратиш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида» ги Фармони, 2018 йил 14 февралдаги ПҚ-3532-сон «Фармацевтика тармоғини жадал ривожлантириш бўйича кўшимча

---

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

чора-тадбирлар тўғрисида» ги Қарори ва 2019 йил 6 майдаги ПҚ-4310-сон «Тиббиёт ва фармацевтика таълими ва илм-фани тизимини янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида» ги Қарори ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазибаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

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

**Диссертациянинг мавзуси бўйича хорижий илмий тадқиқотлар шарҳи<sup>1</sup>.** Гипоксия шароитидаги физиологик ва мембранавий ўзгаришларни коррекциялаш асосида антигипоксанти таъсирга эга доривор воситаларни аниқлашга йўналтирилган илмий изланишлар дунёнинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасаларида, жумладан, Institute of Molecular Cardiobiology (USA), Institute of Cardiovascular Physiology (Germany), Georg August University Göttingen (Germany) олиб борилмоқда.

Ўсимлик полифенолларининг митохондрия функциясига таъсири ва янги самарали антигипоксантилар ҳамда антиоксидантларни аниқлашга оид жаҳонда олиб борилган тадқиқотлар натижасида бир қатор, жумладан, қуйидаги илмий натижалар олинган: ўсимлик полифенолларининг антигипоксик самарадорликка эгаллиги аниқланган (Institute of Cardiovascular Physiology, Germany); гипоксия шароитида митохондрия функционал параметрларидаги бузилишлар аниқланган (University Göttingen, Germany); гипоксия шароитида митохондрия ион каналларидаги функционал бузилишлари тадқиқ қилинган (Institute of Molecular Cardiobiology, USA).

Дунёда организмнинг ҳужайра ва тўқималарида гипоксияни келиб чиқиши ва унинг ривожланиш босқичларини аниқлаш бўйича қатор, жумладан, қуйидаги устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда: гипоксия ривожланишининг молекуляр ва мембранавий механизмларини аниқлаш; гипоксияни олдини олувчи антигипоксанти таъсирга эга табиий ўсимлик моддаларини аниқлаш; янги самарали антигипоксанти таъсирга эга доривор воситалар яратиш ва ишлаб чиқиш; гипоксияга организмнинг адаптация механизмларини аниқлаш.

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.** Ҳозирги вақтда дунёнинг етакчи илмий марказларида гипоксия ва унинг патогенези, этиологияси ва механизмларини аниқлаш борасида (Abdollahi et al., 2011; Corral et al., 2014), Schiffer et al., 2014), гипоксия шароитида организмдаги адаптация

---

<sup>1</sup> <https://www.researchgate.net/publication/288699733>; <https://journals.ecovector.com/RCF/article/view/21208>; <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-019-03039-y>; <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2020.00770/full>; <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/3/405>; <https://www.dovepress.com> ва бошқа манбалар асосида ишлаб чиқилган.

механизмларини шаклланиши ҳамда организмнинг гипоксия таъсирига жавоб реакциялари (Ratan et al., 2007; Di Stasi et al., 2014), антигипоксик препаратлар билан гипоксия асоратларини фармакологик коррекциялаш (Sabbah et al., 2002; Li et al., 2005; Young et al., 2007) борасида кўплаб илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда.

МДХ мамлакатлари илмий марказларида гипоксия шароитида митохондрия энергия ишлаб чиқариш функциясини нормаллаштириш механизмларини аниқлаган (Андириянова ва бошқ., 2011), хужайра ички оксидланиш-қайтарилиш жараёнларида молекуляр  $O_2$  етказиб бериш даражасининг пасайиши натижасида юзага келаётган муаммолар тадқиқ қилинган (Литвицкий, 2010; Лукьянова, 2019), юрак ва нафас олиш тизими органлари тўқималарида қон айланиш жараёнидаги бузилишларни олдини олишда антигипоксик препаратларнинг роли аниқланган (Никонов ва бошқ., 2009; Воронина ва бошқ., 2010).

Республикада полифеноллар кимёси ва фармакологияси соҳаларида тадқиқотларнинг ривожланиши иккита таниқли олимлар - профессор Д.Н.Далимов ҳамда профессор Д.Н.Мавлянов номлари билан боғлиқ, улар кўплаб ўсимлик полифенолларини ажратиш олишган, тозашган ва тавсифлашган. Мирзо Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий университети профессори С.Н.Далимова илк бор сурункали гепатит шароитида баъзи полифенолларнинг турли даражада антиоксидант ва антипролифератив хоссаларга эгаллигини аниқлаган. Академик Р.З.Сабилов илмий мактабида флавоноидлар ва бошқа БФМ ларнинг хужайра ҳажм бошқарилишига ва қа хужайравий жараёнларга таъсир механизмлари тадқиқ қилинган. Профессор П.Б.Усманов раҳбарлигида полифенол бирикмаларнинг ишемия, гипоксия ва бошқа патологик шароитларда миокард ва силлиқ мускуллар ион-транспорт тизимларига таъсири тадқиқ қилинган.

**Диссертация тадқиқотининг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги.** Диссертация тадқиқоти Ўзбекистон Миллий университети хузуридаги Биофизика ва биокимё институти илмий тадқиқот ишлари режасининг ФА-ФЗ-Т145 «Атроф-муҳит экстремал шароитларида организм тизимларининг структура ва функциясини шаклланиши» (2007-2011), ФА-ФЗ-Т084 «Митохондрияларда ион транспорти ва метаболик жараёнлар биорегуляторларининг меъёр ва патологиядаги таъсирини тавсифлаш» (2012-2016) ҳамда ФА-ФЗ-004 «Юрак-қон томир касалликларини даволашни адекват йўллари ишлаб чиқиш учун юрак ва силлиқ мушак хужайралари истиқболли нишонларини модуляция механизмларининг комплекс тавсифи» (2017-2020) мавзуларидаги фундаментал лойиҳалари доирасида бажарилган.

**Тадқиқотнинг мақсади** ўсимлик полифенол бирикмаларининг каламуш жигари митохондрияси функционал параметрларига таъсир механизмларини тадқиқ қилиш ҳамда улар асосида янги антигипоксик воситаларни аниқлашдан иборат.

**Тадқиқотнинг вазифалари:**

турли синфга мансуб ўсимлик моддалари биологик фаоллигини аниқлаш бўйича скрининг ўтказиш;

*Capsicum Annuum L.* қизил қалампир ўсимлигидан ажратилган моддаларнинг мембрана фаоллигини митохондрия моделида аниқлаш;

мегосин полифеноли ва унинг  $\gamma$ - циклодекстрин билан комплексини биофаоллигини қиёсий баҳолаш;

рутан, эуфорбин ва гетасан полифенолларининг антиоксидантлик ва антирадикаллик хоссаларини аниқлаш;

*in vitro* тажрибаларда рутан, гетасан ва эуфорбиннинг каламуш жигари ва юраги *mPTP* холатига ҳамда митоK<sub>ATФ</sub>-каналига таъсирини аниқлаш;

нормобарик ва гемик гипоксия моделларида рутан, гетасан, эуфорбин полифенолларининг антигипоксик фаолликларини тадқиқ қилиш;

гипоксия моделларида полифенол бирикмаларининг антигипоксик хоссаларини кверцетин ҳамда «Мексидол» га нисбатан баҳолаш;

тадқиқот моддаларининг митохондрияларга таъсирини уларнинг кимёвий тузилишига мувофиқ таҳлил қилиш.

**Тадқиқотнинг объекти** сифатида етук лаборатория каламушлари ҳамда оқ сичқонлари, каламуш жигар ва юрак митохондриялари, митоK<sub>ATФ</sub>-каналли, митохондрия мегапораси - *mPTP*, митохондриялардаги ЛПО жараёни, нормобарик ва гемик гипоксия моделлари, *Rhus coriaria*, *Euphorbia ferganensis B.Fedtsch*, *Geranium sanguineum* ўсимликларининг полифенол бирикмалари олинган.

**Тадқиқотнинг предмети** каламуш жигари митохондриялари функционал параметрлари, рутан, гетасан ва эуфорбин полифенолларининг мембранафаол хоссалари, полифенол бирикмаларнинг кимёвий структурасига мувофиқ биологик хоссалари, антигипоксик фаоллигини тадқиқ этишдан иборат.

**Тадқиқотнинг усуллари.** Тадқиқотлар бажарилишида замонавий биокимё, биофизика ва физиологияда кенг қўлланиладиган дифференциал центрифугалаш, фотометрия, спектрофотометрия, полярография усулларидан фойдаланилган.

**Тадқиқотнинг илмий янгилиги** қуйидагилардан иборат:

митохондрия моделида махаллий ўсимликлар тотим (*Rhus coriaria*), шотаран (*Euphorbia ferganensis B.Fedtsch*), геран (*Geranium sanguineum*)дан ажратиб олинган полифенол бирикмаларнинг мембранафаол хоссалари аниқланган;

полифенол бирикмалар қуйи концентрацияларда *mPTP* очилишини самарали ингибирлаши ва митоK<sub>ATФ</sub>-каналли фаоллигини ошириши аниқланган;

рутан, гетасан ва эуфорбин полифенолларининг антиоксидантлик ва антирадикаллик фаолликларини аниқланган ва улар орасида корреляцион боғлиқлиги исботланган;

гипоксиянинг турли моделларида рутан, гетасан ва эуфорбин полифенолларининг гипоксияга қарши хусусиятлари аниқланган;

рутан, гетасан ҳамда эуфорбин бирикмаларининг гипоксияга қарши фаоллиги, кверцетин ҳамда «Мексидол»га нисбатан самарали эканлиги аниқланган.

**Тадқиқотнинг амалий натижалари** қуйидагилардан иборат:

фармакологияда қўллаш учун гипоксияга қарши янги полифенол антигипоксик воситалар аниқланган;

рутан, гетасан, эуфорбин ҳамда мегосин полифеноллари кенг спектрга эга доривор воситалар сифатида қўлланилган;

плантагиннинг антиоксидантлик хоссалари гипогликемик доривор восита яратиш имконини берган;

полифенолларнинг митохондрия функцияларига таъсири цитопротектор воситалар яратишга амалий асос бўлган.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги** тадқиқотларда замонавий биофизик, физиологик ва биокимёвий усуллари қўллаш орқали олинганлиги, тадқиқот натижаларини назарий маълумотларга мос келиши билан тасдиқланади. Назорат ва тажрибада олинган ўртача қийматлар орасидаги фарқ Стьюдент t-тести бўйича ҳисобланган ва қийматлар фарқининг статистик ишончлилиги  $P < 0,05$  даражасида ифодаланган. Илмий натижалар таҳлили ва графикларни чизиш OriginPro 7.5, (OriginLab Pro, АҚШ) компьютер дастури ёрдамида амалга оширилган. Олинган натижаларнинг исботи уларнинг республика ва халқаро анжуманлардаги муҳокамаси, натижалар рецензияланган илмий нашрларда чоп этилиши билан изоҳланади.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти, гипоксия шароитида организмда юзага келадиган физиологик ўзгаришлар ҳамда митохондрия функционал параметрларини биофаол моддалар билан бошқариш механизмларига ойдинлик киритиш билан изоҳланади. Шунингдек, аниқланган механизмлар гипоксияда молекуляр ва мембрана даражасидаги бузилишларни биофаол моддалар таъсирида коррекциялаш тўғрисидаги илмий тасаввурларни бойитади.

Тадқиқот натижаларнинг амалий аҳамияти шундан иборатки, олинган натижалар ўрганилган полифенол бирикмалар асосида организмни гипоксияга чидамлилигини оширувчи ҳамда баъзи патологияларни даволашда қўлланиладиган самарали дори воситалар яратиш имконини берган.

**Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши.** Полифенол бирикмаларнинг митохондрия функцияларига таъсири ҳамда уларни антигипоксик фаоллигини аниқлаш бўйича олинган натижалар асосида:

ўсимлик полифенол моддалари композицияси асосида диабетга қарши дори воситаси учун Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг ихтирога патенти олинган (№IAP 06027. 2019 й.). Натижада плантагиннинг антиоксидантлик хоссалари самарали гипогликемик доривор восита яратиш имконини берган;

полифенол бирикмаларнинг митохондрия функционал структураларига таъсирига оид тадқиқотлар натижалари импакт фактори юқори хорижий журналларда полифенолларнинг биологик фаолликларини аниқлашда ва уларнинг фармакологик таъсирини таҳлил қилишда фойдаланилган (*Nova Biotechnologica et Chimica*, 2018, V.17 (1), Scopus CiteScore - 1.1; *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2019, V.8, Scopus CiteScore - 0.5; *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2018, V.29 (1), Scopus CiteScore - 1.3. Натижада тадқиқ этилган полифеноллар юқори мембранафаолликка эгаллигини ва уларнинг фармакологик хоссаларини аниқлаш имконини берган;

руганнинг антигипоксик ва антиоксидантлик фаолликларидан ФА-А11-Т-061 рақамли «Махаллий ўсимлик хом-ашёси полифеноллари асосида вирусларга қарши доривор восита яратиш» амалий лойиҳасида янги турдаги моддаларни дориворлик хоссаларини аниқлашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2018 йил 12 декабрдаги 4/1255-3244-сон маълумотномаси). Натижада вирусларга қарши янги турдаги самарали доривор восита яратиш имконини берган;

гетасаннинг аниқланган мембранафаоллик хоссаларидан ФА-А11-Т-061 рақамли «Махаллий ўсимлик хом-ашёси полифеноллари асосида вирусларга қарши доривор восита яратиш» амалий лойиҳасида ОИВга (одамнинг иммунитет танқислиги вируси) қарши фаолликка эга дори воситаларини яратишда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2018 йил 12 декабрдаги 4/1255-3244-сон маълумотномаси). Натижада вирусларга қарши «Пунитан» янги доривор восита яратиш имконини берган.

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Мазкур тадқиқот натижалари 16 та халқаро ва 6 та республика илмий-амалий анжуманларда муҳокамадан ўтказилган.

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши.** Диссертация мавзуси бўйича 1 та ихтиро патенти олинган ва жами 34 та илмий иш чоп этилган, шулардан, Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 11 та мақола, шулардан, 7 таси республика ва 4 таси хорижий журналларда чоп этилган.

**Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми.** Диссертация таркиби кириш, бешта боб, хулосалар ва фойдаланган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 174 бетни ташкил этади.

## ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати асосланган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объект ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги мувофиқлиги кўрсатилган, диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий адабиётлар шарҳи келтирилган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот

натижаларининг амалиётга жорий қилиш, чоп этилган ишлар ва диссертациянинг тузилиши бўйича маълумотлар берилган.

Диссертациянинг **«Митохондрия структураси ва функцияси. Гипоксия ривожланишида митохондрия патофизиологияси ва фармакологияси»** деб номланган биринчи бобида митохондрия структурасининг функционал хусусиятлари, митохондриал касалликлар ва уларнинг этиологияси, фармакологияси бўйича замонавий билимлар таҳлил қилинган. Шунингдек, гипоксия, гипоксияни ривожланишига сабаб бўлувчи омиллар, гипоксия шароитида митохондрия дисфункцияси ва коррекцияси, ўсимлик биофаол моддалари, антигипоксантик доривор воситаларнинг организмга таъсир механизмларига оид энг сўнгги адабиёт маълумотлари таҳлил қилинган.

Диссертациянинг **«Полифенол бирикмаларнинг мембранафаол ва антигипоксик таъсирини аниқлаш усуллари»** деб номланган иккинчи бобида тадқиқот ишининг олиб борилиш тартиби ва қўлланилган материаллар ҳақида маълумотлар келтирилган. Оқ эркак лаборатория каламушлари (180-220 г) жигар ва юрак тўқималаридан митохондриялар дифференциал центрифугалаш усулида ажратиб олинган. Фотометрия усуллари ёрдамида *mPTP* ўтказувчанлиги ҳамда митоK<sub>ATP</sub>-каналлиги фаоллиги, митохондрия мембраналарида ЛПО маҳсулотларини аниқланган. Шунингдек, ўсимлик биофаол моддаларининг антирадикалик, антиоксидантлик ва мембранафаоллик хоссалари замонавий биофизик ва физиологик усуллар билан аниқланган. Митохондриялардаги оксил миқдорини аниқлаш усули келтирилган.

*In vivo* тажрибаларида экспериментал гипоксия моделларини шакллантириш ва янги антигипоксантик воситаларни аниқлаш усуллари келтирилган. Бунда, лаборатория оқ сичқонларида нормобарик ва гемик гипоксия моделларини шакллантиришда тажриба ҳайвонлари тўрт гуруҳга ажратилди: I - гуруҳ назорат (гипоксия+физиологик эритма), II - гуруҳ тажриба (гипоксия+«Мексидол»), III - гуруҳ тажриба (гипоксия+кверцетин), IV - гуруҳ тажриба тадқиқот гуруҳи (гипоксия+полифенол). Ҳар бир гуруҳдаги ҳайвонлар сони 5 тани ташкил қилди. Тажрибалар ҳажми 200 см<sup>3</sup> бўлган герметик зичланган камераларда олиб борилди. Лаборатория сичқонларида гемик гипоксияни шакллантиришда NaNO<sub>2</sub> дан фойдаланилади. Гемик гипоксия тажрибалари NaNO<sub>2</sub> нинг икки хил дозаси, ўлим дозаси - 150 мг/кг тана массасига ва абсолют ўлим дозаси - 200 мг/кг тана массасига қўлланилди. Тадқиқотларда янги антигипоксантик воситаларни аниқлашда назорат ва тажриба гуруҳи ҳайвонларининг физиологик критерийлари, яъни, яшаш даври ва унинг давомийлиги кўрсаткичлари инобатга олинди. Рутан, гетасан ва эуфорбин полифеноллари кам захарли моддаларнинг V синфига мансуб, уларнинг токсиклик даражаси LD<sub>50</sub> 4800 мг/кг тана массасига тенг.

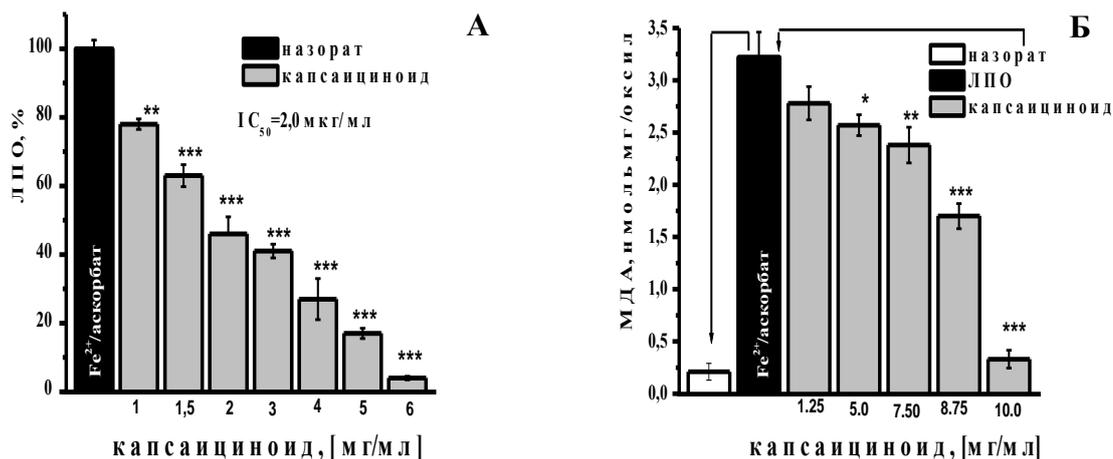
Диссертациянинг **«Митохондрия функционал параметрларига ўсимлик биофаол моддаларининг таъсири»** деб номланган учинчи бобида ўсимликлардан ажратиб олинган турли синф вакиллари - флавоноидлар,

алкалоидлар, полифеноллар ҳамда комплекс бирикмаларни митохондрия функционал параметрларига таъсири бўйича скрининг тажрибалари олиб борилди.

*Ўсимлик биофаол моддаларининг митохондрия функционал параметрларига таъсири скринингги таҳлили.* Дастлабки тажрибаларда флавоноидлар, алкалоидлар, полифеноллар ҳамда комплекс бирикмаларнинг митохондрия *mPTP* ўтказувчанлигига, митоK<sub>ATФ</sub>-каналли фаоллигига ҳамда мембраналарда ЛПО жараёнига таъсири бўйича скрининг ўтказилди. Тадқиқот натижаларига кўра алкалоидлар, флавоноидлар, полифеноллар, комплекс моддалар, каламуш жигари *mPTP* си ўтказувчанлигини ва Fe<sup>2+</sup>/аскорбат тизими индуцирлаган ЛПО жараёни турли даражада ингибирлади. Ушбу БФМ ларнинг митоK<sub>ATФ</sub>-каналли фаоллигига таъсири, ўсимлик моддалари вакиллари мувофиқ юқоридаги эффектларига мос равишда турлича бўлди. Ушбу скрининг тадқиқотларида олинган натижалар турли синф ўсимлик БФМ лари орасида энг юқори биологик фаоллик полифеноллар қаторига (рутан, гетасан, эуфорбин, мегосин) тўғри келишини кўрсатди. Капсаиноидлар суммаси ҳам полифеноллар сингари митохондрия жараёнларга фаол таъсир қилди.

*Capsicum Annuum L. қизил қалампир капсаиноид фракцияларининг антиоксидант хоссалари.* Тадқиқотларда қизил қалампир *Capsicum Annuum L.* ўсимлигидан ажратиб олинган қалампир меваси оксиллар фракцияси, уруғ оксиллари фракцияси ва капсаиноидлар суммасининг мембранафаоллик хоссалари ўрганилди. Олинган натижаларга кўра, қизил қалампир меваси ва уруғи оксиллари каламуш жигари *mPTP* ҳолатига сезиларли таъсир қилмади. Қизил қалампир меваси ва уруғи оксил фракциялари ҳам митохондрия мембраналарида Fe<sup>2+</sup>/аскорбат индуцирлаган ЛПО жараёнига таъсир қилмади. Қизил қалампир мевасидан ажратилган капсаиноидлар суммаси эса 1 мкг/мл дан 6 мкг/мл гача концентрацияларда Fe<sup>2+</sup>/аскорбат индуцирлаган митохондрияни бўқишини ишончли ингибирлади (1-расм, А). Бунда капсаиноидларнинг мембраналардаги ЛПО жараёни ярим ингибирлаш кўрсаткичи IC<sub>50</sub>=2,0 мкг/мл тенг бўлди.

Кейинги тажрибаларда капсаиноидлар фракциясининг митохондрия мембраналарида Fe<sup>2+</sup>/аскорбат индуцирлаган ЛПО жараёни ингибирлашини, бевосита МДА миқдорини биокимёвий усул билан ўлчаш билан аниқладик (1-расм, Б). Тажрибалар натижаларига кўра, капсаиноидлар кичик концентрацияларда митохондрия мембраналарида МДА тўпланишини олдини олди. Шундай қилиб, олинган натижаларга кўра капсаиноидлар юқори антиоксидант хоссага эгаллиги аниқланди.



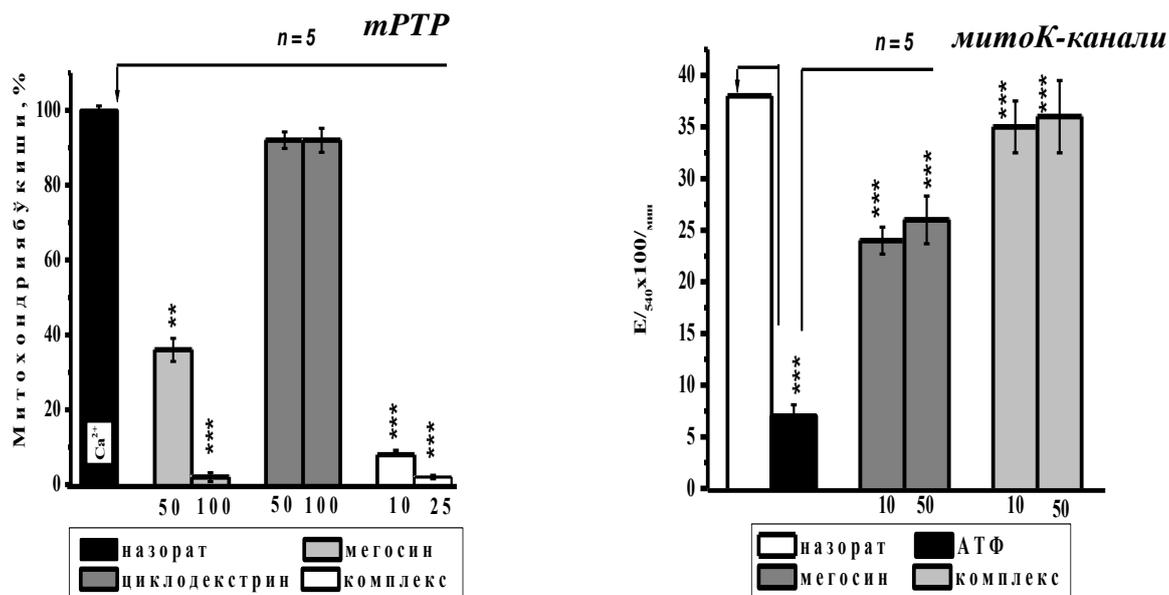
**1-расм.** Капсаициноидларнинг митохондриялардаги ЛПО жараёнини ингибирлаши (А) ва уларнинг мембраналарда МДА тўпланишига таъсири (Б). Изох: ордината ўқида- ЛПО жараёни % да, МДА миқдори нмоль мг/оксилда ифодаланган, абсцисса ўқида капсаициноид концентрациялари келтирилган. \*P<0.05; \*\*P<0.01; \*\*\*P<0.001; n = 5.

*Госсипол хосилаларини мембранафаол хоссалари таҳлили.* Кейинги босқич тажрибаларда *Gossypium L.* ўза ўсимлигидан ажратиб олинган госсиполнинг хосиласи мегосин ва унинг  $\gamma$ -циклодекстрин билан комплексини митохондрия фукционал параметрларига таъсири ўрганилди. Инкубация муҳитига мегосиннинг 0,05 мкМ, 0,1 мкМ, 0,2 мкМ ва 0,6 мкМ концентрацияларини қўшиш митохондриялардаги ЛПО жараёнини мос ҳолда 26±2,4%, 49±2,8% , 81,6±1,6%, 97±2,4% ва 98±2,4% га ингибирлади. Мегосинни IC<sub>50</sub>=1,0 мкМ ни ташкил қилди. Бу шароитда  $\gamma$ -циклодекстрин 3 мкМ дан 100 мкМ гача бўлган концентрацияларда митохондриялардаги ЛПО жараёнига сезиларли таъсир қилмади (16,0±1,1% гача).

Комплекс (мегосин+  $\gamma$ -циклодекстрин) нинг 0,05 мкМ, 0,1 мкМ, 0,2 мкМ, 0,3 мкМ и 0,4 мкМ концентрациялари ЛПО жараёнини назоратга нисбатан 55±2,6%, 62±2,2%, 81,0±1,5%, 87,0±1,8% ва 99,1±2,6% гача ингибирлади. Комплексининг IC<sub>50</sub>=0,07 мкМ ни ташкил қилди. Олинган натижалар, тадқиқот моддаларининг ўрганилган коцентрациялари ва комплекснинг антиоксидант фаоллиги (IC<sub>50</sub>=0,07 мкМ) , мегосиннинг антиоксидантлик фаоллигидан анча юқори (IC<sub>50</sub>=0,1 мкМ) эканлигини билдиради. Таъкидлаш керакки,  $\gamma$  –циклодекстрин юқори келтирилган шароитда антиоксидант фаолликга эга эмас.

Шунингдек, мегосин,  $\gamma$ -циклодекстрин ва комплекс моддаларнинг мембранафаол хоссаларини тўлиқроқ очиш мақсадида уларнинг *mPTP* ва митоK<sub>ATФ</sub>-каналига таъсири ўрганилди (2-расм). Тадқиқотларда, мегосин 50 мкМ концентрацияси *mPTP* ўтказувчанлигини, назоратга нисбатан 64±2,2% га камайтирди, 80 мкМ ҳамда 100 мкМ концентрациялари эса, мос равишда 90%-100% га ингибирлади.  $\gamma$ -циклодекстрин уўрганилган концентрацияларда *mPTP* функциясига сезиларли таъсир кўрсатмади.

Таққослаш тажрибаларида комплекс модда мегосин каби *mPTP* ҳолатига нисбатан ингибирловчи хоссаси фаол эканлиги кузатилди. Комплекс модданинг 25 мкМ таъсири, мегосинга нисбатан фаол кузатилиб, унинг ингибирловчи коэффициенти 96%-99% ни ташкил қилди. Шундай қилиб, мегосинни  $\gamma$ -циклодекстрин билан бирикиши комплекси *mPTP* функционал бузилишларини нормаллаштиришда мегосиндан 4 баробар самарадор. Бу шароитдаги тажрибаларда ҳам  $\gamma$ -циклодекстрин препарати қуйи ва юқори концентрацияларда ҳам *mPTP* конформациясига сезиларли таъсир қилмади (2-расм).



2-расм. Мегосин,  $\gamma$ -циклодекстрин ва унинг комплексининг *mPTP* ва митоК<sub>АТФ</sub>-каналига таъсири. \*\*P<0.01; \*\*\*P<0.001.

Шунингдек, мегосин,  $\gamma$ -циклодекстрин ва комплекс моддалари митоК<sub>АТФ</sub>-каналига таъсири ўрганилди (2-расм). Мегосин 10, 20 ҳамда 50 мкМ концентрацияларда митоК<sub>АТФ</sub>-канални фаоллигини ошириб, АТФ нинг каналга ингибирлови таъсирини сусайтирди. Комплексининг (мегосин+  $\gamma$ -циклодекстрин) митоК<sub>АТФ</sub>-канални фаоллигига таъсири ўрганилганда, 10 мкМ концентрацияда канал ўтказувчанлиги, назоратга нисбатан  $1,0 \pm 0,3$  баробарга ошиши, 20 ва 30 мкМ концентрацияларда эса, мос равишда  $3,2 \pm 0,2$  ҳамда  $3,65 \pm 0,2$  баробарга, 50 мкМ концентрацияда  $5,4 \pm 0,5$  баробарга ошиши аниқланди. Инкубация муҳитида комплекс концентрациясини янада ошириб бориш, митоК<sub>АТФ</sub>-канални фаоллигини ўша даражада сақлаб қолди.  $\gamma$ -циклодекстрин юқорида олиб борилган тажриба натижаларига мос равишда юқори ва қуйи концентрацияларда ҳам (митоК<sub>АТФ</sub>-канални) фаоллигига сезиларли таъсир қилмади (2-расм). Олинган натижалардан мегосин ва комплекс моддалари асосида, хужайра патофизиологиясини қайта тиклашга йўналтирилган, антиоксидант, мембранафаол ва кордиопротекторлик таъсирларига эга бўлган доривор препаратлар яратишда фойдаланиш мумкин. Мегосиннинг  $\gamma$ -циклодекстрин билан бирикиши асосида яратилган,

сувда эрувчан хоссага эга бўлган комплекс, мегосиннинг фаоллигини сақлаш билан бир қаторда унинг биофаоллик хусусиятини оширди.

*Каламуш жигари митохондрияларидаги липопероксидация жараёнига баъзи фенол табиатли моддаларнинг таъсири.* Тадқиқотларда гидрохинон, флороглюцин, (+)катехин, галл кислотаси, пирогаллол, кверцетин, ороксиллин А фенол бирикмаларининг каламуш жигари митохондрияларида  $Fe^{2+}$ /аскорбат индуцирлаган ЛПО жараёнига таъсирини ўрганиш орқали антиоксидантлик хоссалари баҳоланди (1-жадвал).

1-жадвал

**Фенол бирикмаларни  $Fe^{2+}$ /аскорбат индуцирлаган ЛПО га таъсири**

Фенол моддалар	Халқадаги ОН - гуруҳлар сони	IC <sub>50</sub> , мкМ	Максимал ингибирловчи концентрация, мкМ
Гидрохинон	2	-	-
Флороглюцин	3	-	-
Пирогаллол	3	5,0±2,6	8,0±3,2
Галл кислотаси	3	2,6±4,3	6,0±1,5
Ороксиллин А	2	5,25±2,6	6,0±3,7
(+)катехин	5	1,0±8,0	3,0±2,7
Кверцетин	5	3,0±4,2	5,0±3,2
<b>Фаоллик қатори: (+)катехин &gt; галл кислотаси &gt; кверцетин &gt; пирогаллол &gt; ороксиллин А &gt; флороглюцин &gt; гидрохинон</b>			

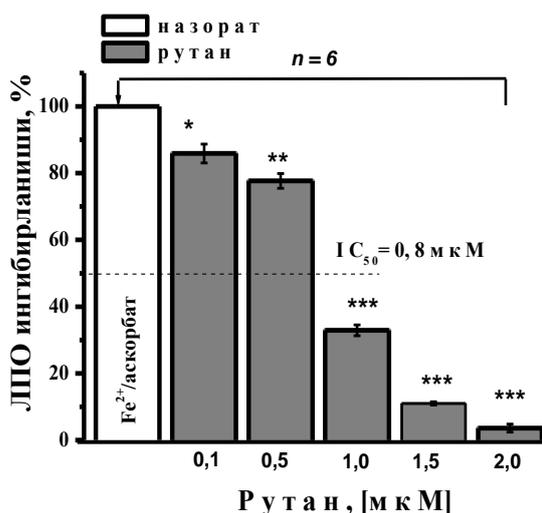
Тажрибалар натижаларига кўра, фенол бирикмалари гидрохинон, ороксиллин А, флороглюцин, галл кислотаси, пирогаллол, (+)катехин ва кверцетин  $Fe^{2+}$ /аскорбат индуцирлаган митохондрия мембраналардаги ЛПО жараёнини ишончли даражада олдини олиб, антиоксидантлик хоссаларини намоён қилди. Фенол бирикмаларининг яриммаксимал ингибиторлик концентрациялари асосида уларнинг антиоксидантлик фаоллиги қатори аниқланди: (+)катехин>галл кислотаси>кверцетин>пирогаллол>ороксиллин А >флороглюцин>гидрохинон. Тадқиқ қилинган фенол бирикмалар орасида (+)катехин энг юқори, гидрохинон эса энг қуйи антиоксидантлик хоссаларига эга бўлди.

Олиб борилган тадқиқотлар таҳлили фенол бирикмаларининг кимёвий структуралари ва антиоксидантлик хоссалари орасидаги ўзаро боғлиқлик борлигини кўрсатди. Масалан, агар пирогаллол ва гидрохинон молекулаларини таъсирини таққосласак, пирогаллол молекуласи ароматик ҳалқасида битта ОН-гуруҳи сони ҳамда жойлашиши билан фарқ қилиши, унинг антиоксидантлик фаоллиги ошганлиги кўринади. Ушбу натижалар, молекуланинг антиоксидант хоссаларини кучлироқ бўлиши, халқадаги ОН-гуруҳлар сонининг ортиб бориши билан ўзаро боғлиқлиги ҳақидаги фаразни исботлайди. Шунингдек, пирогаллол структурасида ОН-гуруҳлар ароматик ҳалқанинг 1,2,3 ҳолатларида носимметрик шаклда жойлашган, бу ОН-гуруҳлар ҳалқанинг 1,3,5 ҳолатида симметрик жойлашган флороглюцин

тузилишидан фарқ қилади. Ҳалқада ОН<sup>-</sup>-гуруҳларни носимметрик жойланиши, пирогаллолга, флороглюцинга нисбатан, янада кучли антиоксидантлик хоссаларини беради. Бундан ташқари, фенол бирикмаларнинг бензол халқадаги ОН<sup>-</sup>-гуруҳларнинг бошқа функционал гуруҳлар (масалан, метил-, этил-, карбоксил-) билан алмашинуви ҳам “структура – хосса” ўзаро боғлиқликка таъсир этиши мумкин.

Диссертациянинг «Полифенол бирикмаларнинг митохондрия мембранавий жараёнларига таъсири» деб номланган тўртинчи бобида рутан, гетасан ва эуфорбиннинг антиоксидант ва антирадикаллик хоссалари ҳамда *in vitro* шароитида уларнинг каламуш жигар ва юрак митохондриялари *mPTP* ҳолатига ва митоK<sub>АТФ</sub>-каналига таъсири ўрганилди.

Каламуш жигари митохондрияларидаги ЛПО жараёнига рутан, эуфорбин ва гетасаннинг таъсири. *In vitro* тажрибаларида рутан, гетасан ва эуфорбиннинг антиоксидант хоссалари, жигар митохондриялари мембраналарида Fe<sup>2+</sup>/аскорбат индуцирлаган ЛПО жараёнига уларнинг таъсири билан баҳоланди (3-расм).

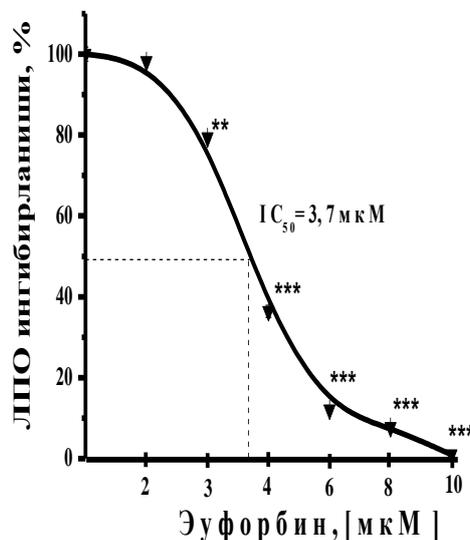
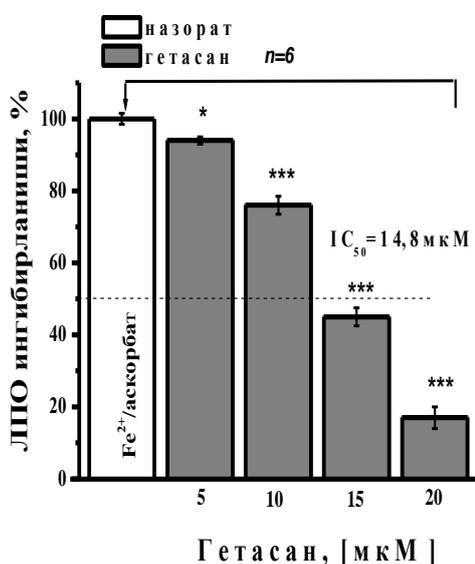


**3-расм. Рутаннинг митохондриялардаги ЛПО жараёнига ингибирловчи таъсири.** Изох: ордината ўқида ЛПО жараёни ингибирланиши абсцисса ўқида рутан концентрациялари келтирилган. \*P<0.05; \*\*P<0.01; \*\*\*P<0.001.

Рутаннинг 0,1 мкМ концентрацияси, Fe<sup>2+</sup>/аскорбат таъсирида индуцирланган митохондриялар бўқишини, яъни ЛПО интенсификациясини, назоратга нисбатан 14,1±0,5% га, 0,5 мкМ концентрацияси 22,3±1,1% га, 1 мкМ концентрацияси 67,1±2,8% ҳамда 1,5 мкМ концентрацияси 89,0±4,2% га ингибирлади. Бунда рутаннинг яриммаксимал ингибирловчи концентрацияси 0,8 мкМ ни ташкил қилди (3-расм).

Fe<sup>2+</sup>/аскорбат индуцирлаган ЛПО шароитида, гетасан 5 мкМ дан 20 мкМ концентрациялар диапазонида митохондрия бўқишини олдини олди ва унинг IC<sub>50</sub> кўрсаткичи 14,8 мкМ ни ташкил қилди. Шунингдек, эуфорбин 3 мкМ дан 10,0 мкМ гача концентрациялар диапазонида митохондриялардаги ЛПО жараёнини 20,6% дан 92,3% гача ингибирлаб, юқори антиоксидантлик хоссасини намоён қилди. Эуфорбиннинг яриммаксимал ингибиторлик концентрацияси 3,72 мкМ ни ташкил қилди (4-расм).

Шундай қилиб, ўрганилаётган полифенол бирикмаларнинг антиоксидант хоссалари, митохондрияни бўқиши моделида аниқланди ва фаоллиги бўйича рутан>эуфорбин>гетасан қатори аниқланди.



**4-расм. Гетасан ва эуфорбиннинг митохондриялардаги ЛПО жараёнига ингибирловчи таъсири.** Изох: ордината ўқида ЛПО жараёни ингибирланиши, абсцисса ўқида гетасан ва эуфорбин концентрациялари келтирилган. \*P<0.05; \*\*P<0.01; \*\*\*P<0.001; n = 6.

Шунингдек, экспериментал диабет моделида рутан хосилаларининг антиоксидантлик фаоллиги аниқланди ва унинг асосида ЎЗР ФА Биоорганик кимё институтида диабетга қарши Пантагин дори воситаси яратилди.

Ўтказилган кейинги биокимёвий тажрибаларда Fe<sup>2+</sup>/аскорбат индуцирлаган ЛПО натижасида ҳосил бўлган митохондриялардаги МДА миқдори бевосита аниқланди. Fe<sup>2+</sup>/аскорбат таъсирида МДА миқдори 3,30±0,14 нмоль мг/оқсилга ошди ва ушбу кўрсаткич назорат деб белгиланди. Бу шароитда, рутаннинг 1 мкМ концентрацияси МДА миқдорини 1,54±0,05 нмоль мг/оқсилга пасайтирди. Рутан 5 мкМ ва 20 мкМ концентрацияларда митохондрия мембраналаридаги МДА тўпланишини, мос равишда 1,24±0,03 ва 0,10±0,003 нмоль/мг оқсилга пасайтирди. Рутаннинг тажрибалардаги IC<sub>50</sub> кўрсаткичи 11,8±0,4 мкМ ни ташкил қилди. Митохондриялардаги МДА миқдори гетасан 5 мкМ таъсирида 3,09 нмоль мг/оқсилни, 10 мкМ таъсирида 2,39 нмоль мг/оқсилни, 15 мкМ таъсирида 0,64 нмоль мг/оқсилни, 20 мкМ таъсирида 0,07 нмоль мг/оқсилни ташкил қилди. Ушбу тажрибада гетасаннинг IC<sub>50</sub> кўрсаткичи 12,5 мкМ га тенг бўлди. Шунингдек, эуфорбин 5 мкМ концентрацияда мембраналарда МДА миқдорини 2,98 нмоль/мг оқсилга, 20 мкМ концентрацияда 0,7 нмоль/мг оқсилга ишончли равишда камайтирди. Олинган натижаларга кўра эуфорбиннинг IC<sub>50</sub> кўрсаткичи 15,1 мкМ га тўғри келди. Шундай қилиб, рутан, гетасан ва эуфорбин полифеноллари митохондрия мембраналарида Fe<sup>2+</sup>/аскорбат индуцирлаган

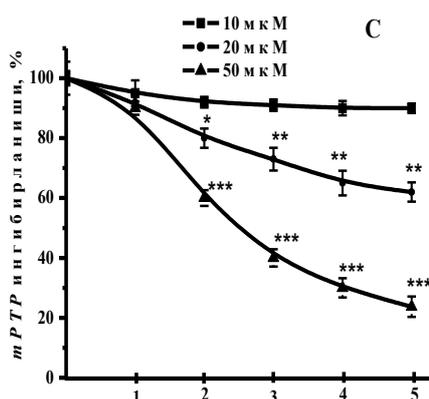
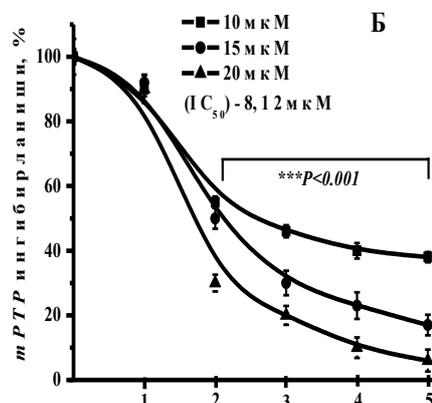
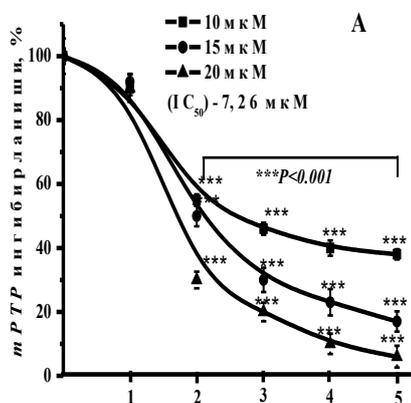
ЛПО жараёнига ингибирловчи таъсир кўрсатди ҳамда юқори антиоксидантлик фаолликни намоён қилди.

*Рутан, эуфорбин ва гетасан полифенолларининг антирадикаллик хоссалари.* Полифенолларнинг биомембраналарга таъсири ҳамда янги антигипоксанти моддаларни излаб топишда уларнинг антиоксидантлик ва антирадикаллик хоссаларининг ўзаро мувофиқ келиши катта аҳамиятга эга. Кейинги тажрибаларда эуфорбин, гетасан ва рутаннинг антирадикаллик фаоллигини ўрганилди. Бунинг учун, антиоксидантларнинг 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (ДФПГ) молекуласини қайтарилиш хоссасига эгаллигига асосланган усулдан фойдаланилди. Биз полифенолларнинг стабил радикали бўлган ДФПГ билан рекомбинацияси кинетикасини ўргандик. ДФПГ спиртли эритмасига полифенолларни қўшиш, эритмани ранги ўзгаришига олиб келади, бу жараён эса ДФПГ нинг радикал бўлмаган шаклга ўтганлигидан далолат беради. Бунда эркин радикалларни миқдорини камайиши, полифенолнинг антирадикал фаоллиги юқори эканлигидан далолат беради. Полифенолларнинг антирадикал фаолликларини миқдорий баҳолаш учун,  $t_{50}$  параметрини, яъни полифеноллар билан реакцияда стабил радикалларнинг бошланғич концентрациясини 50% га пасайтириши учун зарур вақтни ўлчадик. Тадқиқотлар эуфорбин полифенолининг ДФПГ иштирокидаги реакция тезлиги 20 С° да  $t_{50}$  90 секундни (ДФПГ нинг асосий моддага нисбати 1:1), гетасан таъсирида 180 секундни (нисбати 1:1), рутан таъсирида 45 секундни (нисбати 1:1) ташкил қилди. Аниқланишича рутан реакция киришиш қобиляти эуфорбинга нисбатан 2 марта, гетасанга нисбатан эса 4 марта юқори бўлди. Шундай қилиб, тажрибаларда ўрганилган полифенолларининг ДФПГ билан реакция кириш тезлиги турлича бўлди ва ўрганилган барча полифеноллар юқори антирадикаллик хоссасини намоён қилди.

Тадқиқот якунида полифенолларнинг антиоксидантлик ва антирадикаллик таъсир хоссалари орасидаги ўзаро боғлиқлик борлиги фаол аниқланди. Уларнинг мос келиш корреляция коэффиценти рутан таъсирида  $r = 0,95$  ни, гетасан таъсирида  $r = 0,79$  ни, эуфорбин таъсирида эса  $r = 0,82$  ни ташкил қилди. Ушбу олинган натижалар рутан, гетасан ва эуфорбин антиоксидантлик ва антирадикаллик хоссаларининг мос келиши юқори эканлигини исботлайди ҳамда ушбу полифенолларнинг антигипоксантик таъсирини ўрганишга қизиқиш уйғотади.

*Каламуш жигари mPTP ҳолатига рутан, гетасан ва эуфорбиннинг таъсири.* Хужайра метаболизмини, ион гомеостазини ва физиологиясини бошқаришда *mPTP* алоҳида роль ўйнайди. Шунингдек, сўнги вақтларда *mPTP* га патогенларга ва БФМ лар таъсири учун специфик “нишон” сифатида қаралмоқда. Шунга асосланиб, кейинги босқич *in vitro* тадқиқотларида *mPTP* га рутан, гетасан ва эуфорбин таъсирини ўрганилди (5-расм). Инкубация муҳитига  $Ca^{2+}$  ионларини 50 мкМ концентрацияда қўшиш митохондрия бўкишини, яъни бу шароитда *mPTP* очилишини чақирди, ушбу кўрсаткич эса 100% (назорат) деб белгиланди.

Рутан 1 мкМ концентрацияда *mPTP* очилишини, назоратга нисбатан  $14 \pm 3,2\%$  га, 5 мкМ концентрацияда  $36 \pm 4,5\%$  га, 10 мкМ концентрацияда  $84 \pm 0,5\%$  га, 20 мкМ концентрацияда  $90 \pm 3,2\%$  га 25 мкМ концентрацияда тўлиқ ингибирлади. Ушбу тажрибаларда рутаннинг  $IC_{50}$  кўрсаткичи 7,26 мкМ ни ташкил қилди (5-расм, А).



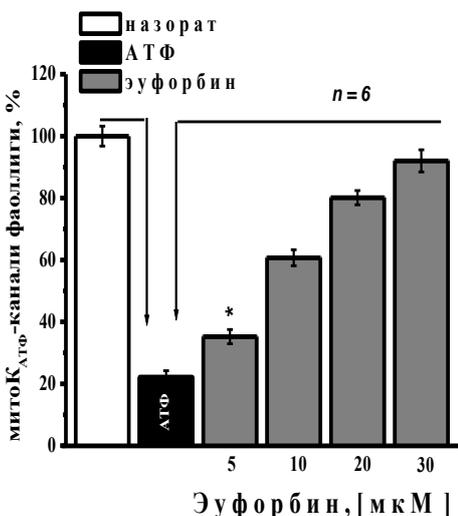
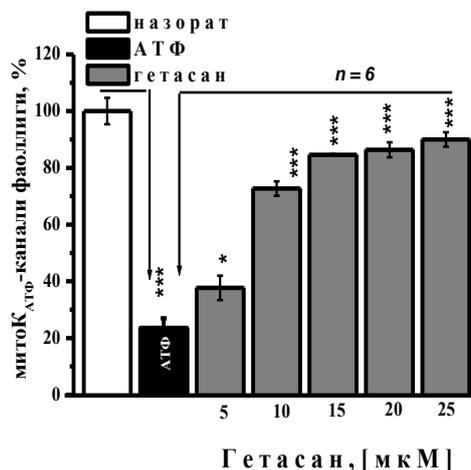
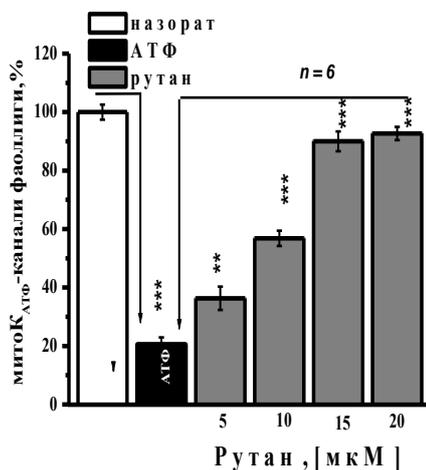
**5-расм. *mPTP* ҳолатига рутан (А), гетасан (Б) ва эуфорбиннинг (С) таъсири.** Изоҳ: ордината ўқида - митохондриялардаги  $Ca^{2+}$ -га боғлиқ *mPTP* ҳолати % ларда ифодаланган, абсцисса ўқида - тажриба вақти минутларда келтирилган. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ;  $n = 5$ .

Шунингдек, гетасан ва эуфорбин полифеноллари ҳам *mPTP* ўтказувчанлигига ингибирловчи таъсир қилди. Гетасан 1 мкМ концентрацияда *mPTP* очилишини, назоратга нисбатан  $15,0 \pm 3,2\%$  га, 5 мкМ да  $33,0 \pm 4,5\%$  га, 10 мкМ да  $62,0 \pm 0,5\%$  га, 15 мкМ да  $83,0 \pm 2,5\%$  га, 20 мкМ концентрацияси эса очилишни  $94,0 \pm 0,8\%$  га ингибирлади. Гетасаннинг *mPTP* ни яриммаксимал ингибиторлик концентрацияси 8,12 мкМ ни ташкил қилди. Гетасаннинг аниқланган мембранафаоллик хоссалари асосида, ЎзР ФА Биоорганик кимё институтида вирусларга қарши фаолликка эга «Пунитан» янги доривор воситаси яратилган. Шунингдек, эуфорбин кичик концентрацияларда *mPTP* ҳолатига таъсир қилмади, юқори 50 мкМ концентрацияда *mPTP* очилишини  $76,3 \pm 3,4\%$  га камайтирди ва ингибирторлик хоссасини намоён қилди. Эуфорбиннинг *mPTP* ҳолатига таъсири, рутан ва гетасаннинг ингибиторлик таъсирига нисбатан суст бўлди (5-расм).

*Каламуш жигари митоK<sub>ATФ</sub>-каналига рутан, гетасан ва эуфорбин полифеноллари таъсири.* Кейинги вақтда митоK<sub>ATФ</sub>-канални патогенлар

хамда БФМ лар учун потенциал “нишон” сифатида қаралмоқда. Турли патологиялардаги митоK<sub>АТФ</sub>-каналли функцияси бузилишларини фармакологик агентлар билан коррекциялаш мумкин. Кейинги тажрибаларда рутан, гетасан ва эуфорбиннинг каламуш жигари митоK<sub>АТФ</sub>-каналли фаоллигига таъсири ўрганилди (6-расм).

Инкубация муҳитига АТФ нинг 200 мкМ миқдорини қўшиш, митоK<sub>АТФ</sub>-каналли K<sup>+</sup> ионлари учун ўтказувчанлигини, назоратга нисбатан 83,0±1,0 % га ишончли ингибирлади. Бу шароитда рутан митоK<sub>АТФ</sub>-каналлига фаоллаштирувчи таъсир қилди, масалан, унинг 20 мкМ концентрацияси митоK<sub>АТФ</sub>-каналлини ўтказувчанлигини, АТФ ингибирлаган кўрсаткичга нисбатан, 96,3±0,7 % га оширди (6-расм). Тажрибаларда, гетасан, рутанга нисбатан юқори концентрацияларда митоK<sub>АТФ</sub>-каналлига фаоллаштирувчи таъсир қилиши аниқланди: 25 мкМ концентрацияда канал фаоллигини, АТФ-ингибирлаган ҳолатга нисбатан, 93,3%±0,8 га оширди. Бу шароитда, эуфорбин 30 мкМ концентрацияда митоK<sub>АТФ</sub>-каналли фаоллигини 90,3%±0,9 оширди.



**6-расм. МитоK<sub>АТФ</sub>-каналлига рутан, гетасан ва эуфорбиннинг таъсири.** Изох: ордината ўқида - митоK<sub>АТФ</sub>-каналли фаоллиги ифодаланган, абсцисса ўқида – рутан, гетасан ва эуфорбин концентрациялари келтирилган. \*P<0.05; \*\*P<0.01; \*\*\*P<0.001.

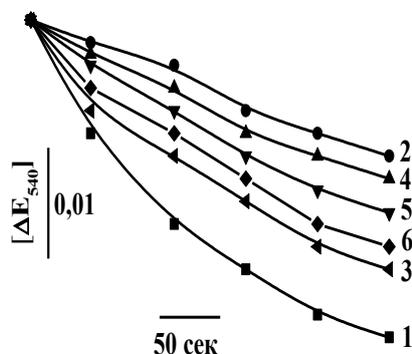
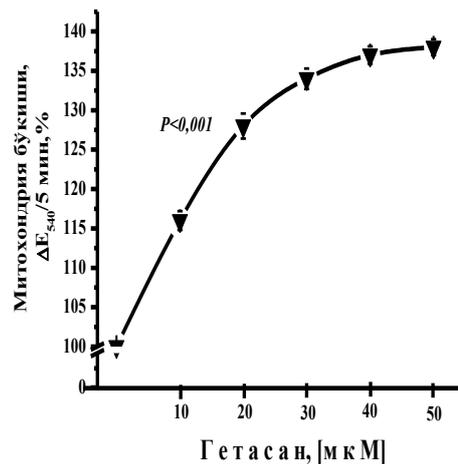
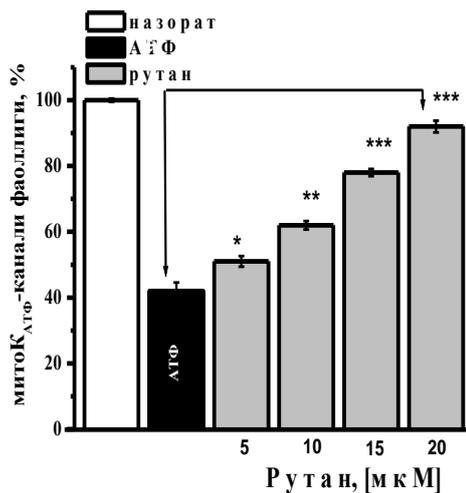
Олинган натижалар, рутан, гетасан ва эуфорбин мито $K_{AT\Phi}$ -каналини фаоллаштиради. Ўрганилган полифенол бирикмаларнинг аниқланган мембранафаол хоссалари асосида ЎзР ФА Биоорганик кимё институтида Рутан, Пунитан, Плантагин дори воситаларини яратишга асос бўлган. Истиқболда гипоксия шароитида мито $K_{AT\Phi}$ -канални функциоанл бузилишларини коррекция қилувчи полифеноллар асосида янги антигипоксанти воситалар ишлаб чиқилишига ишончимиз комил.

*Каламуш юраги мито $K_{AT\Phi}$ -канални ва  $mPTR$  га рутан, гетасан ва эуфорбиннинг таъсири.* Мито $K_{AT\Phi}$ -канал  $K^+$  ионларига селектив бўлиб, митохондрия ҳажмини бошқаришда, БФМ ларнинг организмга таъсир механизмларини молекуляр даражада ўрганишда, уларнинг антигипоксанти, кардиопротекторлик ва мембранафаоллик хоссаларини аниқлашда специфик “нишон” ҳисобланади. Мито $K_{AT\Phi}$ -канални  $AT\Phi$  га боғлиқ калий каналлар оиласига мансуб бўлиб, у  $AT\Phi$ , 5-гидроксидеконат ҳамда сульфонилмочевина препаратлари таъсирида ингибирланади. Ушбу канал активаторлари диазоксид, кромакалин, никорандил ва УДФ ҳисобланади, унинг фаоллиги бир қатор гормонлар таъсирида бошқарилади. Патологик жараёнларнинг келиб чиқиши ва ривожланишида, ишемия ва гипоксия шароитларида миокард ҳимоя тизимида, организмнинг турли экстремал таъсирларга адаптация механизмларини шаклланишида мито $K_{AT\Phi}$ -каналнинг роли борлиги аниқланган. Кейинги тадқиқотларда каламуш юраги мито $K_{AT\Phi}$ -канални фаоллигига рутан, гетасан ва эуфорбин полифенолларининг таъсири ўрганилди (7-расм).

Рутаннинг 5 мкМ, 10 мкМ ва 20 мкМ концентрациялари юрак мито $K_{AT\Phi}$ -канални функционал фаоллигини,  $AT\Phi$  ингибирлаган ҳолатга нисбатан, мос равишда  $21,4 \pm 2,5\%$  га,  $47,6 \pm 1,8\%$  ва  $85,7 \pm 2,8\%$  га оширди (7-расм).

Гетасан мито $K_{AT\Phi}$ -канални  $K^+$  ўтказувчанлигини,  $AT\Phi$  ингибирлаган ҳолатга нисбатан, 10 мкМ концентрацияда  $38 \pm 1,3\%$  га, 20 мкМ да  $48 \pm 1,3\%$  га, 30 мкМ да  $68 \pm 1,3\%$  га ошириб, бу каналга полифенол бирикманинг активатор сифатида таъсир қилишидан далолат беради. Бу шароитларда эуфорбиннинг 5 мкМ концентрацияси юрак мито $K_{AT\Phi}$ -канални фаоллигини,  $AT\Phi$  ингибирлаган ҳолатга нисбатан,  $36,3 \pm 1,8\%$ , 10 мкМ концентрацияси  $62,1 \pm 2,4\%$  20 мкМ концентрацияси  $93,3 \pm 4,8\%$  ошириши кузатилди.

Шундай қилиб, рутан, гетасан ва эуфорбин каламуш юраги мито $K_{AT\Phi}$ -каналнига активатор сифатида таъсир этди. Ушбу полифеноллар антигипоксик фаолликка эга бўлгани учун, истиқболда гипоксияга қарши самарали доривор воситалар ишлаб чиқишга асос бўлишидан далолат беради. Рутан, гетасан ва эуфорбин полифеноллари юрак ишемик касалликлари чақирган юрак мито $K_{AT\Phi}$ -канални дисфункциясини коррекция қилиши асосида самарали кардиопротекторлар яратилиши мумкин.



**7-расм. Каламуш юрак митокАТФ-канални фаоллигига рутан, гетасан ва эуфорбиннинг таъсири.** Изоҳ: ордината ўқида - митохондриялардаги митокАТФ-канални фаоллиги % ларда ифодаланган, абсцисса ўқида – тажриба гуруҳлари келтирилган. \*P<0.05; \*\*P<0.01; \*\*\*P<0.001; n=6.

Навбатдаги тажрибаларда каламуш юрак *mPTP* ҳолатига гетасан полифенолининг таъсири ўрганилди. Тажрибаларда гетасан 10 мкМ, 20 мкМ, 30 мкМ, 40 мкМ ва 50 мкМ концентрацияларда *mPTP* конформацион ҳолатига самарали таъсир қилиб, унинг очилишини, назоратга нисбатан концентрацияларга мос равишда  $35 \pm 1,7\%$ ,  $56 \pm 2,4\%$ ,  $75 \pm 2,9\%$ ,  $84 \pm 2,4\%$  ва  $88 \pm 2,3\%$  га ингибирлаши аниқланди. Гетасаннинг яриммаксимал ингибиторлик концентрацияси  $IC_{50} = 18,4$  мкМ ни ташкил қилди. Олиб борилган тажриба натижаларига кўра, каламуш юраги *mPTP* ҳолатига рутаннинг таъсири худди гетасан таъсирига ўхшаш бўлиб, кўрсаткичлар ўзаро мос келди (натижалар келтирилмаган). Рутаннинг яриммаксимал ингибиторлик концентрацияси  $IC_{50} = 17,2$  мкМ ни ташкил қилди.

Шунингдек, юрак *mPTP* ҳолатига эуфорбиннинг турли концентрациялари таъсири ўрганилганда, ушбу полифенол гетасан ва рутан каби *mPTP* ни ингибирлаши аниқланди. Бунда эуфорбиннинг максимал 100 мкМ концентрацияси юрак *mPTP* сени очилишини, назоратга нисбатан  $91,1 \pm 5,5\%$  ишончли равишда ингибирлади ва яриммаксимал ингибирловчи концентрацияси  $IC_{50} = 42,1$  мкМ ни ташкил қилди. Шундай қилиб, гетасан, рутан ва эуфорбин полифеноллари юрак митохондриялари *mPTP*

ўтказувчанлигига ингибирловчи таъсир қилиб, мембрананинг пермеаблизациясини камайтирди.

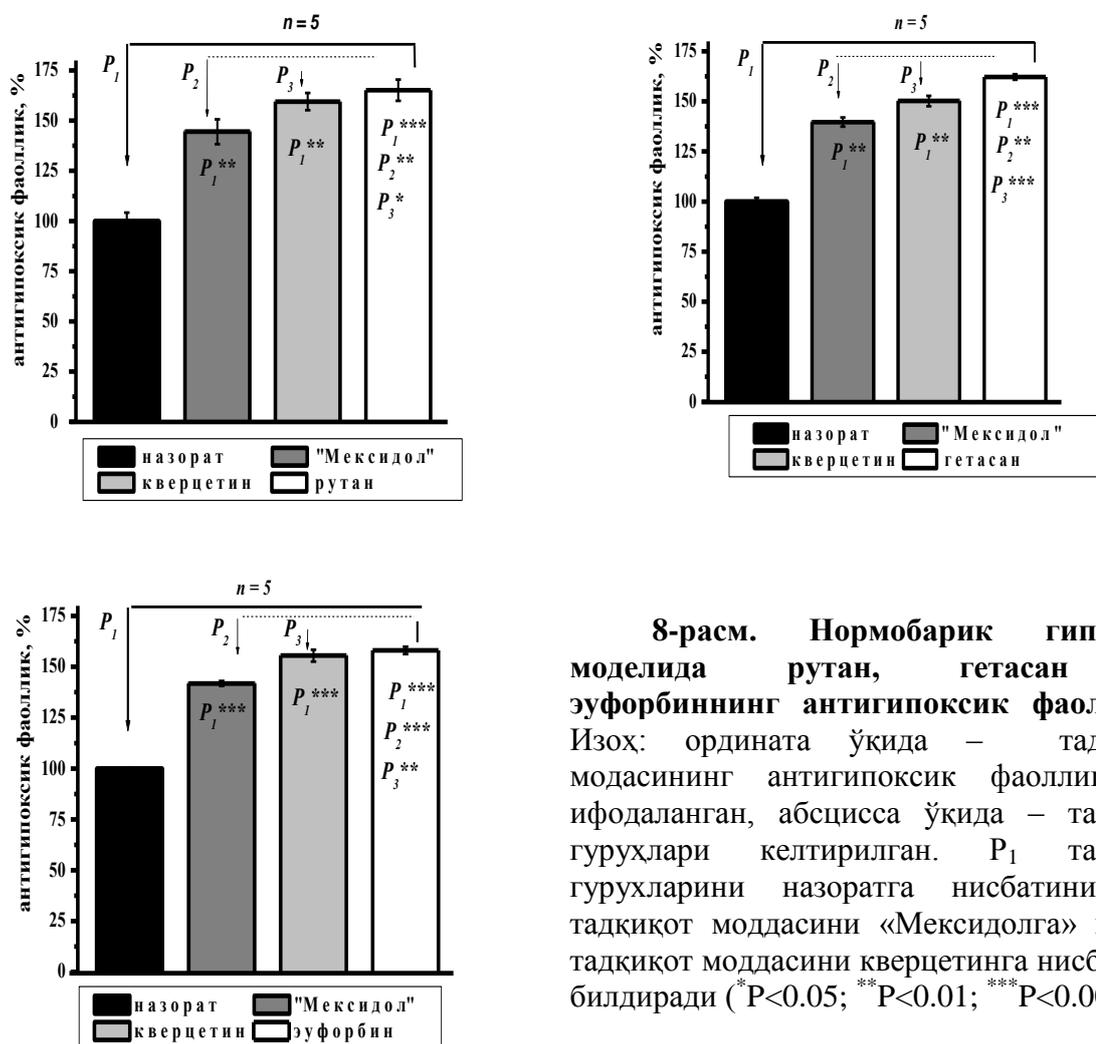
Маълумки, *mPTP* нинг очик ҳолатга ўтиши шароитида митохондрия мембраналари ионлар ва зарядланмаган моддалар учун ўтказувчан бўлади, натижада мембрана потенциали камаёди ва оксидланишли фосфорланиш жараёни ажралади ҳамда хужайрада АТФ дефицити ривожланади. Юрак *mPTP* си кардиопротектор воситалар учун «нишон»дир, ушбу воситалар *mPTP* очилишига ингибитор сифатида таъсир қилиб, митохондрия мембраналарини стабиллаштиради. Юқоридаги мантиққа асосланиб, рутан, гетасан ва эуфорбин полифеноллари истиқболда самарали кардиопротекторлар сифатида қўллаш мумкин, деб тахмин қилишимиз мумкин.

Диссертация ишининг «**Экспериментал гипоксия моделларида янги антигипоксантиларни аниқлаш**» деб номланган бешинчи бобида рутан, гетасан ва эуфорбиннинг антигипоксик фаоллиги тадқиқ қилинди. Шунингдек, турли гипоксия моделларида ўрганилаётган полифенол бирикмаларининг антигипоксик хоссалари кверцетин ҳамда «Мексидол» га нисбатан баҳоланди.

*Нормобарик гипоксия моделида рутан, гетасан ва эуфорбин полифеноллари антигипоксик фаолликларини тадқиқ қилиш.* Гипоксия – патологик жараён бўлиб, организм турли тўқималарида биологик оксидланиш ҳамда энергия таъминоти даражасининг абсалют ёки нисбий етишмовчилигидир. Экспериментал илмий тадқиқотларда, нормобарик гипоксия янги антигипоксик воситаларни аниқлашда қулай скрининг модел ҳисобланади. Кейинги босқич тадқиқотларимиз нормобарик гипоксия моделида рутаннинг гипоксияга қарши фаоллигини аниқлаш мақсадида олиб борилди. Бунинг учун рутаннинг 25 мг/кг тана массасига нисбатан; 50 мг/кг тана массасига ҳамда 100 мг/кг тана массасига дозалари танлаб олинди. Чунки, рутан IV синф кам захарлик моддалар қаторига кириб, ушбу дозалар таъсирида унинг бошқа фаолликлари ўрганилган. Тажриба натижалари, рутаннинг тадқиқ қилинган барча дозаларида антигипоксик хоссаларини намоён қилганлигини кўрсатди. Аниқроқ айтганда, тажрибаларда назорат гуруҳи ҳайвонлари яшаш даври  $23,8 \pm 2,2$  минутни ташкил қилди. Рутан гипоксик шароитдаги ҳайвонлар яшаш даври 25 мг/кг дозаси таъсирида  $33,0 \pm 1,8$  минутни ташкил қилиб, ушбу дозада рутан ҳайвонлар яшовчанлигини 9,2 минутга узайтирди ва гипоксияга қарши самарадорлиги 38,7% ни ташкил қилди. Ҳудди шунингдек, фаоллик рутаннинг 50 мг/кг ҳамда 100 мг/кг дозаларида мос равишда кузатилди ( $38,8 \pm 1,8$  мин. ҳамда  $40,1 \pm 2,4$  мин.). Ушбу дозалар таъсирида ҳайвонлар яшовчанлиги 15,0 ҳамда 16,3 минутга узайди. Натижаларни статистик таҳлил қилиш, рутаннинг 50 мг/кг ҳамда 100 мг/кг дозалари фаолликлари орасида фарқ жуда камлигини кўрсатди. Ушбу дозаларда рутаннинг гипоксияга қарши самарадорлиги, мос равишда 63,0% ва 68,4% ни ташкил қилди. Шу сабабли рутан ва бошқа полифеноллари антигипоксик самарадорлигини аниқлашда сичқонлар тана массасига нисбатан дозаси 50 мг/кг танлаб олинди.

Антигипоксик ва бошқа доривор моддаларнинг самарадорлигини баҳолашда, фармакологияда кенг қўлланиладиган препаратлар фаолликлари билан қиёслаш тавсия қилинади. Шунинг учун, ушбу ишда гетасан, эуфорбин и рутаннинг антигипоксик хоссалари кверцетин и «Мексидол» билан таққосланди. Кверцетин антиоксидантлик, антирадикаллик ва мембранафаоллик хоссалари билан бир қаторда, антигипоксик таъсирга эга, шунингдек, «Мексидол» ҳозирги кунда тиббиёт амалиётида антигипоксик доривор сифатида кенг қўлланилади.

Кейинги тажрибаларда, рутаннинг антигипоксик самарадорлигини баҳолаш мақсадида, нормобарик гипоксия моделида унинг фаоллиги кверцетин ҳамда «Мексидол»га нисбатан солиштириб ўрганилди (8-расм).



**8-расм. Нормобарик гипоксия моделида рутан, гетасан ва эуфорбиннинг антигипоксик фаоллиги.** Изоҳ: ордината ўқида – тадқиқот модасининг антигипоксик фаоллиги % ифодаланган, абсцисса ўқида – тажриба гуруҳлари келтирилган.  $P_1$  тажриба гуруҳларини назоратга нисбатини;  $P_2$ -тадқиқот моддасини «Мексидолга» ва  $P_3$ -тадқиқот моддасини кверцетинга нисбатини билдиради (\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ).

Тажрибаларда назорат гуруҳи хайвонлари яшаш даври ўртача  $24,7 \pm 1,18$  минутни ташкил қилди. Рутан полифенолининг 50 мг/кг миқдори таъсирида, IV гуруҳ хайвонлари яшаш даври  $40,8 \pm 1,36$  минутни ташкил қилиб, уларнинг яшовчанлиги, назорат гуруҳига нисбатан 16,1 минутга ошди (8-расм.), яъни рутаннинг антигипоксик фаоллиги, назорат гуруҳига нисбатан, 65,2% га ошди.

Бизнинг тажрибаларда, кверцетин киритилган III гуруҳ сичқонлар яшовчанлиги  $39,7 \pm 1,98$  минутни ташкил қилиб, кверцетиннинг антигипоксик фаоллиги, I назорат гуруҳига нисбатан, 59,5% га ишончли ошди. Ушбу статистик таҳлиллар, рутаннинг антигипоксик фаоллиги кверцетинга нисбатан юқори эканлигини кўрсатади. «Мексидол» таъсирида ҳайвонлар яшаш даври  $35,7 \pm 1,32$  минутни ташкил қилиб, бу гуруҳдаги ҳайвонлар яшаш давомийлиги, назоратга нисбатан 11,2 минутга (44,5% га) ошди (8-расм). Шундай қилиб, «Мексидол» нинг антигипоксик фаоллиги кверцетин ҳамда рутан фаоллигига нисбатан сует бўлди.

Гетасан ҳам нормобарик гипоксия моделида гипоксияга қарши фаоллигини фаол намоён қилди. Гетасан таъсирида IV гуруҳ лаборатория сичқонларнинг яшаш даври ўртача  $39,2 \pm 1,35$  минутни ташкил қилди. III гуруҳ сичқонларининг кверцетин таъсирида яшаш даври  $36,2 \pm 2,64$  минутни, II гуруҳ сичқонларининг «Мексидол» киритилишидаги яшаш даври  $33,2 \pm 2,26$  минутни ташкил қилди. Шундай қилиб, гетасаннинг гипоксияга қарши фаоллиги, назорат гуруҳига нисбатан, 62,0% га ошди.

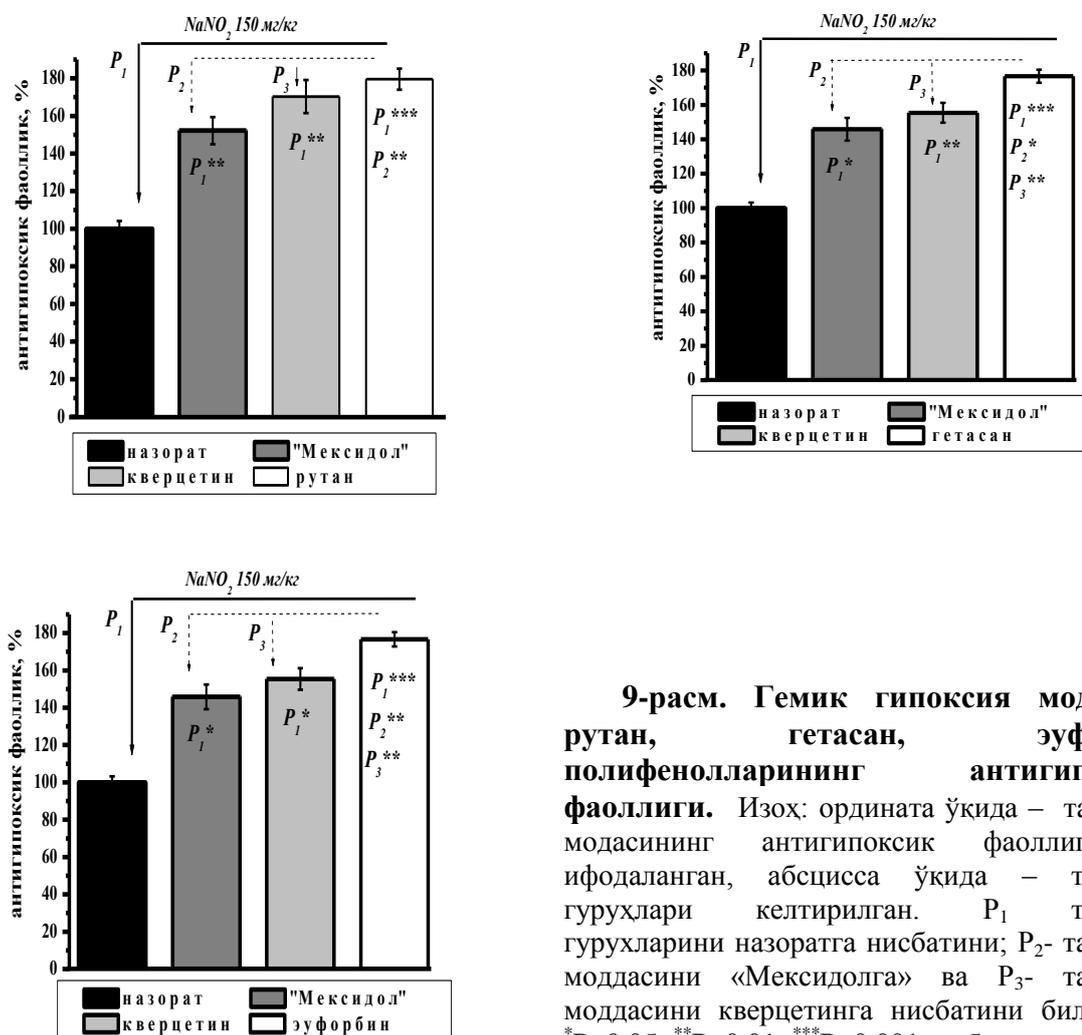
Кейинги тажрибаларда нормобарик гипоксия моделида I назорат гуруҳи ҳайвонлари яшаш даври ўртача  $23,4 \pm 1,02$  минутни ташкил қилди. Эуфорбин таъсирида IV гуруҳ ҳайвонлари яшаш даври  $37,0 \pm 1,80$  минутга тенг бўлди. Бунда «Мексидол» II гуруҳ ҳайвонлари яшаш даври  $33,2 \pm 1,24$  минутни кверцетин киритилган III гуруҳ ҳайвонлари яшаш даври  $36,4 \pm 2,91$  минутни, ташкил қилди. Бу шароитда барча II, III ва IV тажриба гуруҳлари сичқонларининг яшовчанлик кўрсаткичлари, I назорат гуруҳи сичқонларига нисбатан, гуруҳларга мос равишда 9,8 минут, 13,0 минут ва 13,6 минутларга ошди. Эуфорбиннинг гипоксияга қарши самарадорлиги 58,1% ни ташкил қилди, ушбу кўрсаткич, кверцетинга нисбатан 3,1% га, «Мексидол» таъсирига нисбатан 16,3% га юқори бўлди (8-расм).

Умуман олганда, юқорида олиб борилган нормобарик гипоксия моделида рутан, эуфорбин ҳамда гетасан гипоксияга қарши фаолликни намоён қилди, ушбу полифенолларнинг антигипоксантлик самарадорлиги кверцетин ҳамда «Мексидол»га нисбатан юқори бўлди.

*Гемик гипоксия моделида рутан, гетасан, эуфорбин полифенолларининг антигипоксик фаолликларини ўрганиш.* Қонда  $O_2$  миқдорининг пасайиши, бевосита тўқима ва хужайраларда  $O_2$  дефицитини чақиради, организмда гипоксиянинг гемик шаклини ривожланишига сабаб бўлади. Тадқиқот ишларимизнинг кейинги босқичида рутан, гетасан ва эуфорбиннинг антигипоксантлик фаоллиги гемик гипоксия модели асосида ўрганилди. Гипоксининг бу моделини шакллантиришда биз натрий нитрит ( $NaNO_2$ ) тузидан фойдаландик. Экспериментал тажрибаларда  $NaNO_2$  тузининг 150 мг/кг ҳамда 250 мг/кг дозаларидан фойдаланилди. Чунки,  $NaNO_2$  нинг 150 мг/кг дозаси организмда гемик гипоксиянинг ўрта даражадаги кўринишини шакллантирса, 250 мг/кг дозаси гемик гипоксиянинг оғир формасини ривожланишига олиб келади. Тадқиқотларда  $NaNO_2$  150 мг/кг дозаси таъсирида рутаннинг антигипоксик фаоллигини ўрганилди (9-расм).

Бунда, назорат гуруҳи ҳайвонлари яшаш даври ўртача  $27,02 \pm 2,56$  минутни ташкил қилди. Шунини қайд қилиш лозимки, тажриба давомийлигининг 25-28 минутлари оралиғида, назорат гуруҳи ҳайвонларининг барчасида ўлим ҳолати кузатилди ва 100% ни ташкил қилди. Рутаннинг 50 мг/кг дозаси,  $\text{NaNO}_2$  нинг 150 мг/кг дозаси таъсирида ҳайвонлар яшаш даври ўртача  $48,5 \pm 2,09$  минутни ташкил қилди. Рутан ҳайвонлар яшовчанлик кўрсаткичини, назорат гуруҳга нисбатан 21,5 минутга, оширди. Бу шароитда рутаннинг антигипоксик самарадорлиги 79,6% ни ташкил қилди.

Кейинги тажрибаларда  $\text{NaNO}_2$  нинг 150 мг/кг дозаси таъсирида чақирилган гемик гипоксия моделида эуфорбин ҳамда гетасаннинг 50 мг/кг дозасида антигипоксик таъсири ўрганилди (9-расм).



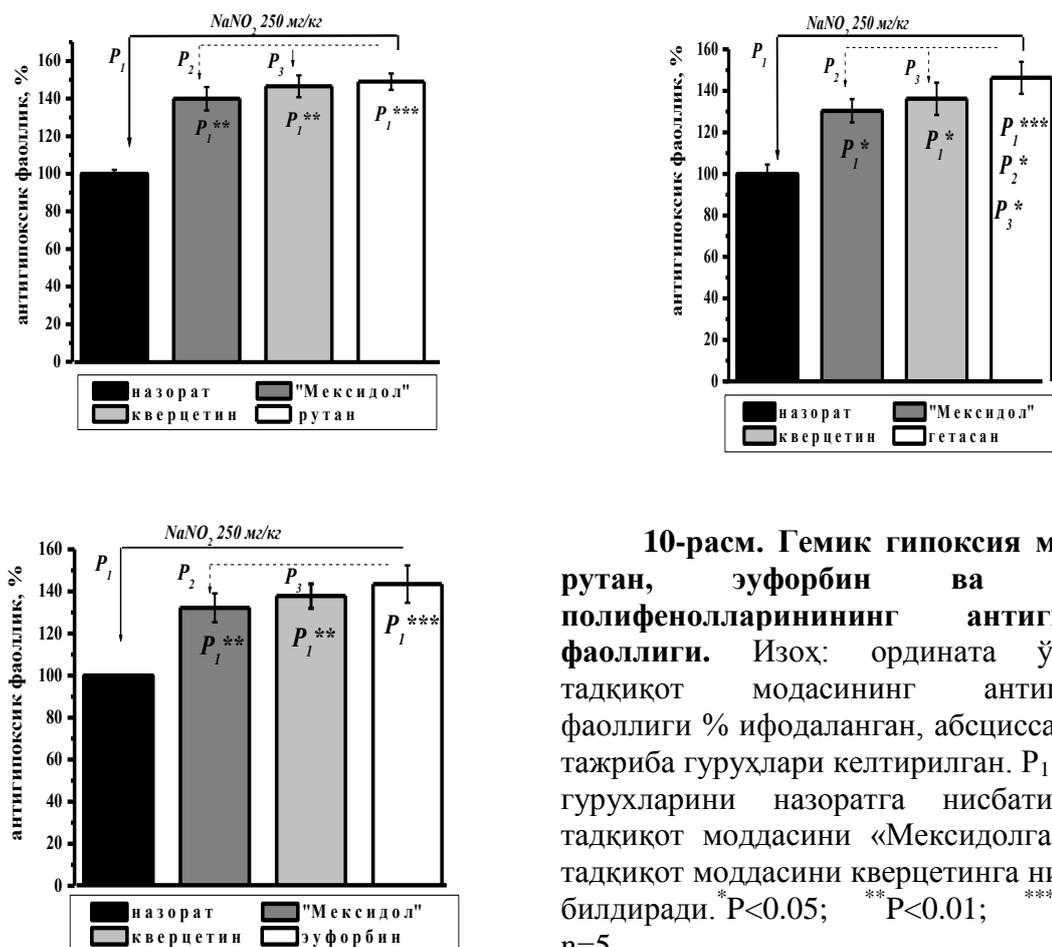
**9-расм. Гемик гипоксия моделида рутан, гетасан, эуфорбин полифенолларининг антигипоксик фаоллиги.** Изох: ордината ўқида – тадқиқот модасининг антигипоксик фаоллиги % ифодаланган, абсцисса ўқида – тажриба гуруҳлари келтирилган.  $P_1$  тажриба гуруҳларини назоратга нисбатини;  $P_2$ - тадқиқот моддасини «Мексидолга» ва  $P_3$ - тадқиқот моддасини кверцетинга нисбатини билдиради \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ;  $n = 5$ .

Тажрибалар эуфорбин таъсирида ҳайвонлар яшаш даври ўртача  $44,4 \pm 2,06$  минутни, гетасан таъсирида бу кўрсаткичлар  $46,3 \pm 2,16$  минутларни ташкил қилди. Бунда ҳайвонларнинг яшовчанлик кўрсаткичи I назорат гуруҳи ҳайвонларига нисбатан эуфорбин иштирокида 18,8 минутга, гетасан таъсирида 20,3 минутга ошди. Тажрибаларда эуфорбиннинг антигипоксик фаоллиги 73,4% ни, гетасаннинг антигипоксик фаоллиги 76,7% ни ташкил

қилди. Тажрибада қўлланилган ҳайвонларнинг яшаб қолиш коэффиценти 14,5% (29 та) ва 15% (30 бош) ни ташкил қилди.

Хулоса ўрнида айтишимиз мумкинки,  $\text{NaNO}_2$  нинг 150 мг/кг дозаси организмда гемик гипоксиянинг ўрта оғирлик даражасидаги формасини ривожланишига олиб келди. Тадқиқотларда рутан ва кверцетин таъсирида  $\text{NaNO}_2$  билан заҳарланган ҳайвонларнинг ўртача 30% и сақланиб қолди. Ушбу маълумотлар рутан полифенолини гипоксияга қарши фаоллиги нормобарик гипоксия модели асосида ўрганилган тадқиқотларга мос келди. Демак, гипоксиянинг ўрта оғирлик даражасидаги кўринишида рутан, гетасан ва эуфорбин юқори антигипоксантлик фаоллиқни намоён қилади.

Ушбу олинган натижалар тадқиқот моддаларининг антигипоксик фаоллиқини  $\text{NaNO}_2$  нинг 250 мг/кг (абсолют ўлим) дозаси таъсири доирасида ўрганишга қизиқиш уйғотади. Адабиётларда  $\text{NaNO}_2$  нинг 250 мг/кг дозаси организмда гипоксиянинг оғир шаклини чақирити келтирилган.  $\text{NaNO}_2$  нинг абсолют ўлим дозаси таъсирида, рутан ҳайвонлар кўрсаткичи, назорат гуруҳи ҳайвонларининг яшаш даври 12,08 дақиқани ташкил қилди. Рутан таъсирида ҳайвонлар яшаш даври 18,0 дақиқани ташкил қилиши рутаннинг антигипоксик фаоллиқини назоратга нисбатан 49,0% га ошганлиқини билдиради (10-расм).



**10-расм. Гемик гипоксия моделида рутан, эуфорбин ва гетасан полифеноллариинининг антигипоксик фаоллиги.** Изоҳ: ордината ўқида – тадқиқот модасининг антигипоксик фаоллиги % ифодаланган, абсцисса ўқида – тажриба гуруҳлари келтирилган. P<sub>1</sub> тажриба гуруҳларини назоратга нисбатини; P<sub>2</sub>-тадқиқот моддасини «Мексидолга» ва P<sub>3</sub>-тадқиқот моддасини кверцетинга нисбатини билдиради. \*P<0.05; \*\*P<0.01; \*\*\*P<0.001; n=5.

Гипоксиянинг бу кўринишида кверцетин ва «Мексидол» иштирокида куйидаги кузатилди: кверцетин таъсирида ҳайвонлар яшаш давомийлиги назорат гуруҳига нисбатан 4,9 минутга ошди ва 49,0% антигипоксик фаолликни намоён қилди. «Мексидол» таъсирида ҳайвонларнинг яшовчанлик давомийлиги назорат гуруҳига нисбатан 4,82 минутга, яъни антигипоксик фаоллик 39,9% га ошганлиги маълум бўлди. Бироқ тажрибаларда гемик гипоксиянинг бу шаклида ҳайвонлар яшовчанлик ҳолати сақланиб қолмади. Яъни бу ҳолатдаги тажрибаларимизда барча гуруҳ ҳайвонлари тажриба якунида нобуд бўлди.

Кейинги тажрибаларда  $\text{NaNO}_2$  нинг 250 мг/кг (абсолют ўлим) дозаси таъсирида эуфорбин ва гетасан полифенолларининг гипоксияга қарши фаоллиги синов тажрибалари олиб борилди (10-расм).

Ўткир гемик гипоксиянинг бу шаклида эуфорбин таъсирида ҳайвонларнинг яшовчанлик кўрсаткичи назорат гуруҳига нисбатан 5,4 минутга, гетасан таъсирида бу кўрсаткич 5,42 минутга ошди. Эуфорбин ва гетасаннинг антигипоксик фаоллиги 43,5% ва 46,3% ни ташкил қилди (10-расм). Демак, тажрибаларда эуфорбин ва гетасан полифеноллари  $\text{NaNO}_2$  нинг 250 мг/кг доза таъсирида ҳам антигипоксик фаолликни сақлаб қолди. Тажрибалар сўнгида тадқиқ қилинган полифенолларнинг (рутан, эуфорбин ҳамда гетасан) антигипоксик фаолликларини тажриба ҳайвонларининг яшаш даври, яшовчанлик кўрсаткичларини инобатга олган ҳолда ўзаро қиёсий таққосланди.

$\text{NaNO}_2$  нинг 250 мг/кг (абсолют ўлим) дозаси таъсирида тажриба давомийлигининг 10-18 минутлари оралиғида (ўртача 8 минут фарқ билан) барча тажриба гуруҳи ҳайвонларида 100% ўлим ҳолати кузатилди. Демак, олинган  $\text{NaNO}_2$  нинг 250 мг/кг дозасининг токсик таъсири 150 мг/кг дозасига нисбатан юқори даражада заҳарли таъсир қилганлигини билдиради. Бу жараён ҳайвонларнинг физиологик ҳолатига ҳам кескин таъсир қилиб, уларнинг яшовчанлик кўрсаткичини сусайтирди.  $\text{NaNO}_2$  нинг 250 мг/кг дозаси таъсирида назорат гуруҳи ҳайвонлари яшаш даври  $13,0 \pm 1,02$  минутни ташкил қилди.

Бу кўрсаткичлар  $\text{NaNO}_2$  нинг 150 мг/кг дозаси таъсиридаги кўрсаткичига нисбатан гемик гипоксиянинг ўрта даражадаги формаси билан қариб 13,2 минутга фарқланади. Гемик гипоксия моделларининг (ўрта оғир ва оғир) шаклларида рутан, эуфорбин ҳамда гетасан полифеноллари юқори антигипоксик хоссаларини намоён қилди. Уларнинг антигипоксик самарадорлиги кверцетин ҳамда «Мексидол»га нисбатан фаол эканлиги келгусида фармакологик саноатда янги турдаги антигипоксик истикболли препаратлар яратилишига асос бўлади.

Диссертациянинг **яқуний қисмида** ўсимликлардан ажратиб олинган турли синфга мансуб биофаол моддаларнинг мембранафаоллик хоссалари, полифенолларнинг антиоксидантлик хоссалари уларнинг кимёвий тузилишига мувофиқлиги таҳлил қилинган. Рутан, гетасан ва эуфорбин полифенолларининг антирадикаллик, антиоксидантлик, антигипоксик

фаолликлари, улардан келгусида дори воситаларии сифатида фойдаланиш масалалри муҳокама қилинган.

## ХУЛОСАЛАР

1. Турли синфга мансуб ўсимлик моддаларининг каламуш жигари митохондрияси функционал параметрларига скринингида полифенол бирикмалар ҳамда капсаиноидларнинг мембранафаол хоссалари бошқаларга нисбатан фаоллиги аниқланди. Капсаиноидлар фракцияси митохондрия моделида мембранада ЛПО жараёнини яриммаксимал концентрация  $IC_{50}=2$  мкг/мл билан ингибирлади.

2. Тадқиқ этилган фенол бирикмаларнинг антиоксидантлик фаоллиги (митохондрия мембраналарида ЛПО  $IC_{50}$ ) асосида қуйидаги қатор аниқланди: рутан> мегосин> гетасан> эуфорбин> (+)катехин> галл кислота> кверцетин > пирогаллол> ороксиллин А> флороглюцин> гидрохинон. Фенол бирикмаларнинг антиоксидантлик хоссалари бевосита структурадаги бензол халқаларидаги ОН гуруҳлар сони, ҳамда уларнинг бензол халқада симметрик тарзда жойлашишига боғлиқлиги исботланди.

3. Мегосин полифеноли,  $\gamma$ -циклодекстрин ва уларнинг комплекси каламуш жигари митохондрияларда ЛПО жараёнига таъсири ўрганилганда, мегосин ва сувда эрувчан комплекс (мегосин+ $\gamma$ -циклодекстрин) юқори антиоксидантлик хоссаларини намоён қилди ва мембрана стабиллигини оширди, бу шароитда  $\gamma$ -циклодекстрин нофаол бўлди. Мегосин ва комплекс *mPTP* ни очилишини ингибирлади ва мито $K_{ATP}$ -каналини фаоллаштирди, бунда комплекснинг мембранафаоллиги мегосинга нисбатан юқори бўлди.

4. *In vitro* тажрибаларида рутан, гетасан, эуфорбин полифенолларининг 1 - 25 мкМ концентрациялари диапозонида антиоксидантлик ва антирадикаллик хоссаларини намоён қилди, бу мембраналар стабиллиги ва бутунлиги ошишига олиб келади. Рутан, гетасан, эуфорбин полифенолларининг антиоксидантлик/антирадикаллик хоссалари орасидаги ўзаро боғлиқлиги аниқланди. Уларнинг мос келиш корреляция коэффиценти рутан таъсирида  $r = 0,95$  ни, гетасан таъсирида  $r = 0,79$  ни, эуфорбин таъсирида эса  $r = 0,82$  ни ташкил қилди.

5. Рутан ва гетасан каламуш жигари *mPTP* ўтказувчанлигини 7,26 мкМ ва 8,12 мкМ га тенг  $IC_{50}$  билан мос равишда, ишончли ингибирлади, эуфорбиннинг ингибирлаш фаоллиги анча паст даражада бўлди. Каламуш юраги *mPTP* си ҳам рутан, гетасан ва эуфорбин таъсирига сезгир бўлди, лекин уларнинг  $IC_{50}$  си, тахминан, 2 марта юқори бўлиб, мос равишда 18,4 мкМ; 17,2 мкМ ва 42,1 мкМ ни ташкил қилди. Кўплаб патологияларда жигар ва юрак *mPTP* си очик ҳолатга ўтишини инобатга олганда, юқоридаги натижалардан *mPTP* функциясининг бузилиши билан боғлиқ баъзи касалликлар профилактикаси ва даволаш учун дори воситалари яратишда фойдаланиш мумкин.

6. Рутан, гетасан, эуфорбин полифеноллари 5 - 50 мкМ концентрацияларда фармакологик агентлар учун “нишон”структура бўлган

каламуш жигари ва юраги мито $K_{ATF}$ -канални фаоллигини ишончли оширади. Полифенол бирикмалар мито $K_{ATF}$ -канални фаоллаштирганлиги, антигипоксик, гепато- ҳамда кардиопротектор воситалар яратишда улардан фойдаланиш истиқболлини очади.

7. Нормобарик гипоксия моделида рутан, гетасан ва эуфорбиннинг 50 мг/кг лаборатория сичқонлари тана массасига нисбатан дозаси антигипоксик фаолликни намоён қилди. Ушбу шароитларда, сичқонларнинг яшаш даври, назорат гуруҳига нисбатан 13,6 - 16,2 минутга, антигипоксик самарадорлиги 62% дан 65% га ошди. Нормобарик гипоксия моделида рутан полифенолининг гипоксияга қарши фаоллиги гетасан ва эуфорбинга нисбатан юқори бўлди.

8. Гемик гипоксиянинг ўрта шаклида рутан, гетасан ва эуфорбин тажриба гуруҳи ҳайвонлари яшаш даврини, назорат гуруҳига нисбатан 18,8 - 21,5 минутга, антигипоксик самарадорлигини 73,4% дан 79,6% га оширди. Гемик гипоксиянинг оғир шаклида эса рутан, гетасан ва эуфорбин тажриба гуруҳи ҳайвонлари яшаш даврини, назорат гуруҳига нисбатан 5,4 - 6,4 минутга, антигипоксик самарадорликни 46,3% дан 49,0% га оширди. Шундай қилиб, олинган натижалар тадқиқ қилинаётган бирикмаларнинг гипоксияга қарши фаоллиги юқори эгаллигини кўрсатади.

9. Экспериментал гипоксия моделларида рутан, гетасан ҳамда эуфорбин бирикмаларининг гипоксияга қарши фаоллиги, кверцетин ҳамда тиббиёт амалиётида қўлланиладиган «Мексидол»га нисбатан самарали эканлиги аниқланди. Келгусида ушбу полифеноллардан нафас олиш тизими дисфункционал ҳолатларида, юрак етишмовчилиги касалликларида, қон айланиш бузилиши ва бошқа патологик ҳолатларни олдини олиш ҳамда даволашда қўлланилувчи доривор воситалар яратишда фойдаланиш мумкин.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.03/30.12.2019.В.01.13 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ  
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ БИОФИЗИКИ И  
БИОХИМИИ ПРИ НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ  
УЗБЕКИСТАНА**

---

**ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И БИОХИМИИ**

**АБДУЛЛАЕВА ГУЛБОХОР ТОЛИБЖАНОВНА**

**ДЕЙСТВИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА  
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ МИТОХОНДРИЙ И ИХ  
АНТИГИПОКСАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ**

**03.00.02 – Биофизика и радиобиология  
03.00.08 – Физиология человека и животных**

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК (DSc)**

**Ташкент – 2021**

Тема диссертации доктора наук (DSc) зарегистрирована Высшей аттестационной комиссией при Кабинете Министров Республики Узбекистан под номером B2021.1.DSc/B93

Диссертация выполнена в Институте биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана имени Мирзо Улугбека.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском и английском (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета ([www.ibb-nuu.uz](http://www.ibb-nuu.uz)) и информационно-образовательном портале «ZiyoNet» ([www.ziyo.net](http://www.ziyo.net)).

Научный консультант:

**Асраров Музаффар Исламович**  
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты:

**Курбанназарова Раънохон Шараповна**  
доктор биологических наук

**Зайнобиддинов Анвар Эркинжонович**  
доктор биологических наук, профессор

**Ахмеров Рашид Насипович**  
доктор биологических наук, профессор

Ведущая организация:

**Каршинский государственный университет**

Защита диссертации состоится «28» июля 2021 г. в 14<sup>00</sup> часов на заседании Научного совета DSc.03/30.12.2019.B.01.13 по присуждению ученых степеней при Институте биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана. (адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, ул. Университетская, 174. Тел. 246-68-96.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана (зарегистрирована за № 28). Адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, ул. Университетская, 174. Тел: (99871) 246-68-96. e-mail: [ibb-nuu@mail.ru](mailto:ibb-nuu@mail.ru).

Автореферат диссертации разослан: «13» июля 2021 года.  
(реестр протокола рассылки № «1» от 13 июля 2021 года).



**Сабилов Равшан Заирович**  
Председатель Научного совета  
по присуждению ученых степеней, д.б.н., академик

**Позилов Маъмуржон Комилжанович**  
Ученый секретарь Научного совета  
по присуждению ученых степеней, д.б.н. профессор

**Ахмеджанов Искандар Гулямович**  
Председатель Научного семинара при Научном совете  
по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

## ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора наук (DSc))

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** В настоящее время современные медико-биологические исследования показали, что гипоксия является основным фактором развития патогенеза различных заболеваний, независимо от этиологии его происхождения. Воздействие гипоксии наблюдается при ишемической болезни сердца, нарушении кровообращения и дыхания, иммунной системы, при нейродегенеративных заболеваниях и в патогенезе развития других заболеваний. В условиях гипоксии отмечается дисфункция митохондрий из-за абсолютного или относительного дефицита молекулярного  $O_2$  в тканях и клетках, наблюдается генерация активных форм кислорода (ROS) в дыхательной цепи митохондрий. Фармакологическая коррекция антигипоксантами препаратами физиологических, мембранных и метаболических нарушений является одной из актуальных проблем здравоохранения, фармацевтики и современной биологии.

В ведущих научно-исследовательских центрах мира интенсивно проводятся научные исследования по изучению механизмов действия полифенолов растительного происхождения на организм человека и животных. В результате исследований показано, что полифенолы оказывают терапевтическое действие на организм в различных патологиях и обладают их антиоксидантными, мембраноактивными и антигипоксантами свойствами. Научные исследования по идентификации новых антигипоксантами препаратов требуют изучения механизмов действия полифенольных соединений на организм на молекулярном, митохондриальном и клеточном уровнях в условиях гипоксии.

В настоящее время в нашей стране проводятся научные исследования по созданию антигипоксантами препаратов на основе местного растительного сырья и изучению их действия на организм. В направлении 4 Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определяется важные задачи для «...дальнейшее развитие фармацевтической промышленности и улучшение обеспеченности населения и медицинских учреждений доступными, качественными лекарственными средствами и изделиями медицинского назначения...»<sup>1</sup>. Исходя из этих задач, определение влияния полифенольных соединений, выделенных из местных растений, на мембранные, метаболические и митохондриальные процессы и создание на их основе фармакологических средств с антигипоксантами и антиоксидантными активностями, приобретает важное значение.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных Указом Президента Республики Узбекистан № УП-4947 от 7 февраля 2017 года «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан», Постановлением

---

<sup>1</sup> Указ Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 г. «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» .№ УП-4947.

Президента Республики Узбекистан № ПП-3532 от 14 февраля 2018 года «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли», Постановлением Президента Республики Узбекистан № ПП-4310 от 6 мая 2019 года «О мерах по дальнейшему развитию системы медицинского и фармацевтического образования и науки», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

**Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики.** Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики Узбекистан VI. «Медицина и фармакология».

**Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации<sup>1</sup>.** Научные исследования, направленные на выявление лекарственных средств с антигипоксическим действием, на основе коррекции физиологических и мембранных изменений при гипоксии, проводятся в ведущих исследовательских центрах и высших учебных заведениях мира, в том числе в Институте молекулярной кардиобиологии (США), в Институте сердечно-сосудистой физиологии (Германия), в Геттингенском университете (Германия).

В результате научных исследований, проведенных в мире по изучению действия растительных полифенолов на функции митохондрий и выявлению новых эффективных антигипоксантов и антиоксидантов, получены ряд научных результатов, в том числе: в Институте сердечно-сосудистой физиологии (Германия) обнаружено, что растительные полифенолы обладают антигипоксическим действием; в Геттингенском университете (Германия) изучались нарушения функциональных параметров митохондрий при гипоксии; в Институте молекулярной кардиобиологии (США) изучались функциональные нарушения митохондриальных ионных каналов в условиях гипоксии.

В мире выявление формирования гипоксии в клетках и тканях организме и стадий ее развития проводится по нескольким приоритетным направлениям, в том числе: изучение молекулярных и мембранных механизмов развития гипоксии; выявление природных растительных веществ с потенциальными антигипоксическими действиями; создание и разработка новых эффективных антигипоксических препаратов; выявление механизмов адаптации организма к гипоксии.

**Степень изученности проблемы.** В настоящее время в ведущих научных центрах мира проводятся многочисленные исследования по изучению гипоксии и ее патогенеза, этиологии и механизма (Abdollahi et al., 2011; Corral et al., 2014), Schiffer et al., 2014), формированию адаптационных механизмов организма в условиях гипоксии, а также ответных реакций

---

<sup>1</sup> <https://www.researchgate.net/publication/288699733>; <https://journals.ecovector.com/RCF/article/view/21208>; <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-019-03039-y>; <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2020.00770/full>; <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/3/405>; <https://www.dovepress.com> и других источников.

организма при действии гипоксии (Ratan et al., 2007; Di Stasi et al., 2014), фармакологической коррекция осложнений гипоксии антигипоксантами препаратами (Sabbah et al., 2002; Li et al., 2005; Young et al., 2007).

В научных центрах стран СНГ выявлены механизмы нормализации энергопродуцирующей функции митохондрий в условиях гипоксии (Андириянова и др., 2011), исследованы проблемы, возникающие при снижении уровня молекулярного  $O_2$  во внутриклеточных окислительно-восстановительных процессах (Литвицкий, 2010; Лукьянова, 2019), изучена роль антигипоксических препаратов в профилактике нарушений кровообращения в тканях сердца и дыхательной системы (Никонов и др., 2009; Воронина и др., 2010).

Развитие исследований в области химии и фармакологии полифенолов в республике связано с именами двух видных ученых - профессора Д.Н.Далимова и профессора С.М.Мавлянова, которые выделили, очищали и охарактеризовали множество растительных полифенолов. В Национальном университете Узбекистана им. Мирзо Улугбека профессором С.Н.Далимовой впервые установлено, что в условиях хронического гепатита некоторые полифенолы обладают в различной степени антиоксидантными и антипролиферативными свойствами. В научной школе академика Р.З.Сабилова исследуются механизмы действия флавоноидов и других БАВ на регуляцию объема клеток и другие клеточные процессы. Под руководством профессора П.Б.Усманова изучено влияние полифенольных соединений на ион-транспортующие системы миокарда и гладкой мускулатуры в условиях ишемии, гипоксии и других патологических состояниях.

**Связь исследования с планом научно-исследовательских работ высшего учебного заведения и научно-исследовательской организации, где выполнена диссертация.** Диссертационное исследование выполнено в рамках с планом научно-исследовательских работ фундаментальных проектов Института биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана ФА-ФЗ-Т145 «Формирование структуры и функций систем организма в экстремальных условиях окружающей среды» (2007-2011), ФА-ФЗ-Т084 «Характеристика эффектов биорегуляторов транспорта ионов митохондрий и метаболических процессов в норме и при патологии» (2012-2016) и ФА-ФЗ-004 «Комплексная характеристика механизмов модуляции перспективных мишеней сердечных и гладкомышечных клеток для разработки адекватных подходов терапии сердечно-сосудистых заболеваний» (2017-2020).

**Целью исследования** является исследование механизмов действия растительных полифенольных соединений на функциональные параметры митохондрий печени крыс и выявление на их основе новых антигипоксических средств.

**Задачи исследования:**

проведение скрининга биологической активности растительных веществ, принадлежащих к разным классам;

на модели митохондрий изучить мембранную активность веществ, выделенных из растения красного перца *Capsicum Annuum L.*;

сравнительная оценка биологической активности мегосина и его комплекса с  $\gamma$ - циклодекстрином;

определение антиоксидантных и антирадикальных свойств полифенолов рутана, гетасана, эуфорбина;

определение действия полифенолов рутана, гетасана, эуфорбина на состояние *mPTP* и митоK<sub>АТФ</sub>-канал печени и сердца в экспериментах *in vitro*;

определение антигипоксантажной активности полифенолов рутана, гетасана, эуфорбина на моделях нормобарической и гемической гипоксии;

оценка антигипоксических свойств полифенольных соединений на моделях гипоксии в сравнении с кверцетином и «Мексидолом»;

анализ действия исследуемых веществ на митохондрии в соответствии с их химической структурой.

**Объектом исследования** являются зрелые лабораторные крысы и белые мыши, митохондрии из печени и сердца, митоK<sub>АТФ</sub>-канал, митохондриальная мегапора - *mPTP*, процессы ПОЛ в митохондриях, модели нормобарической и гемической гипоксии, полифенольные соединения, выделенные из растений *Rhus coriaria*, *Euphorbia ferganensis B.Fedtch*, *Geranium sanguineum*.

**Предметом исследования** являются функциональные параметры митохондрий печени крыс, мембраноактивные свойства рутана, гетасана и эуфорбина, биологические свойства полифенольных соединений в зависимости от их химической структуры, антигипоксическая активность.

**Методы исследования.** При выполнении исследований использованы методы дифференциального центрифугирования, фотометрии, спектрофотометрии, широко применяемые в современной биохимии, биофизике и физиологии.

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

на модели митохондрий выявлены мембраноактивные свойства полифенольных соединений, выделенных из местных растений - сумач дубильный (*Rhus coriaria*), молочай ферганский (*Euphorbia ferganensis B.Fedtch*), герань кроваво-красная (*Geranium sanguineum*);

выявлено, что полифенольные соединения при низких концентрациях эффективно ингибируют открытие *mPTP* и увеличивают активность митоK<sub>АТФ</sub> -канала;

доказаны антиоксидантные и антирадикальные активности полифенолов рутана, гетасана и эуфорбина и доказано существование корреляции между ними;

на различных моделях гипоксии определены антигипоксические свойства полифенолов рутана, гетасана и эуфорбина.

выявлена, что антигипоксическая активность рутан, гетасан и эуфорбин эффективна, чем «Мексидол» и кверцетин.

**Практические результаты исследования** заключаются в следующем:

определены новые полифенольные антигипоксические средства для использования в фармакологии;

полифенолы рутан, гетасан, эуфорбин и мегосин использованы в качестве лекарственных средств с широким спектром действия;

антиоксидантные свойства плантагина позволили создать средство с гипогликемическим свойством;

эффект полифенолов на функции митохондрий послужило практической основой для создания цитопротекторных средств.

**Достоверность результатов исследования** подтверждается тем, что эксперименты были проведены с применением современных биохимических, биофизических методов, результаты исследования согласуются с теоретическими данными. Разницу между средними значениями, полученными в контроле и эксперименте, рассчитывали по t-критерию Стьюдента, и статистическую достоверность разницы значений выражали на уровне  $P < 0,05$ . Анализ научных результатов и построение графиков выполняли с помощью компьютерной программы OriginPro 7.5, (OriginLab Pro, США). Доказательство полученных результатов объясняется их обсуждением на республиканских и международных конференциях, публикацией результатов в рецензируемых научных изданиях.

**Научная и практическая значимость результатов исследования.** Научная значимость результатов исследования объясняется выяснением физиологических изменений в организме в условиях гипоксии, а также механизмов регуляции функциональных параметров митохондрий биологически активными веществами. Выявленные механизмы объясняются расширением научных представлений о коррекции нарушений биологически активными веществами на молекулярном и мембранном уровнях при гипоксии.

Практическое значение результатов исследования заключается в том, что результаты исследования, на основе изученных полифенольных соединений, позволят разработать эффективные лекарственные средства, повышающие устойчивость организма к гипоксии и используемые в лечении некоторых патологий.

**Внедрение результатов исследования.** На основе полученных результатов по изучению действия полифенольных соединений на функции митохондрий, и их антигипоксических свойств:

получен патент на изобретение Агентства интеллектуальной собственности Республики Узбекистан на антидиабетическое средство на основе композиции растительных полифенольных веществ (№IAR 06027. 2019). В результате антиоксидантные свойства плантагина позволили создать эффективное средство с гипогликемическим свойством;

результаты исследований о влиянии полифенольных соединений на функциональные структуры митохондрий использовались в зарубежных журналах с высоким импакт-фактором для определения биологической активности полифенолов и анализа их фармакологических эффектов (*Nova Biotechnologica et Chimica*, 2018, V.17 (1), Scopus CiteScore - 1.1; *Journal of*

*Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2019, V.8, Scopus CiteScore - 0.5; *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2018, V.29 (1), Scopus CiteScore - 1.3. Результаты позволили оценить высокую мембранную активность изученных полифенолов и установить их фармакологические свойства;

антигипоксические и антиоксидантные активности рутана использованы при определении лекарственных свойств нового вида веществ в проекте прикладных исследований ФА-А11-Т-061 «Разработка лекарственных препаратов противовирусного действия на основе полифенолов местного растительного сырья» (справка Академии наук Республики Узбекистан №4/1255-3244 от 12 декабря 2018 года). Результаты позволили создать новый эффективный вид противовирусного лекарственного препарата;

выявленная мембранная активность гетасана использована в проекте прикладных исследований ФА-А11-Т-061 «Разработка противовирусных препаратов на основе полифенолов из местного растительного сырья» при разработке лекарственных препаратов с активностью против ВИЧ (вируса иммунодефицита человека (справка Академии наук Республики Узбекистан №4/1255-3244 от 12 декабря 2018 года). Результаты позволили создать новый противовирусный лекарственный препарат «Пунитан».

**Апробация результатов исследования.** Результаты исследований были обсуждены на 16 международных и 6 республиканских научно-практических конференциях.

**Опубликованность результатов.** По теме диссертации получен 1 патент на изобретение и опубликовано 34 печатных работ, из них 11 научные статьи, в том числе 4 в зарубежных и 7 в республиканских журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертации.

**Структура и объем диссертации.** Структура диссертации состоит из введения, пяти глав, выводов, списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 174 страниц.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

**Во введении** обосновывается актуальность и востребованность темы диссертации, цель и задачи исследования, характеризуется объект и предмет исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, приведен обзор зарубежных научных литературных источников по теме диссертации, 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 «**Структура и функции митохондрий. Патофизиология и фармакология при развитии гипоксии**» обсуждены современные понятия о функциональных особенностях митохондрий, митохондриальных болезнях и их этиологии, анализированы современные

знания по фармакологии. Также обсуждены последние литературные данные о гипоксии, факторах, влияющих на развитие гипоксии, дисфункции митохондрий в условиях гипоксии и их коррекции биологически активными веществами, механизмы действия антигипоксических препаратов на организм.

Во второй главе под названием **«Методы определения мембраноактивного и антигипоксического действия полифенолов»** приведены дизайн исследований и сведения об использованных материалах. Митохондрии выделяли из ткани печени и сердца крыс-самцов (180–220 г) методом дифференциального центрифугирования. Методом фотометрии определяли проницаемость *mPTP* и активность митоK<sub>АТФ</sub>-каналов, продуктов ПОЛ в митохондриях. Современными биофизическими и физиологическими методами определены антирадикальные, антиоксидантные и мембраноактивные свойства биологически активных веществ растительного происхождения. Приведен метод определения количества белка в митохондриях.

В *in vivo* экспериментах сформирована модель экспериментальной гипоксии и описаны методы обнаружения антигипоксических веществ. При этом для формирования моделей нормобарической и гемической гипоксии у лабораторных мышей, экспериментальные животные были разделены на четыре группы: I - контрольная группа (гипоксия+физиологический раствор), II - опытная группа (гипоксия+«Мексидол»), III - опытная группа (гипоксия+кверцетин), IV - экспериментально-исследовательская группа (гипоксия+полифенол). Количество животных в каждой группе – 5 голов. Эксперименты проводились в герметичных камерах объемом 200 см<sup>3</sup>. Для индукции гемической гипоксии у лабораторных белых мышей используется NaNO<sub>2</sub>. Эксперименты по гемической гипоксии с NaNO<sub>2</sub> проводились, путем использования двух типов доз, летальная доза - 150 мг/кг массы тела и абсолютная летальная доза - 200 мг/кг массы тела. В исследованиях для поиска новых антигипоксических веществ учитывались физиологические критерии животных контрольной и опытной групп, то есть период проживания и показатели ее продолжительности. Полифенолы рутан, гетасан и эуфорбин относятся к 5 классу нетоксичных соединений, их уровень токсичности LD<sub>50</sub> составляет 4800 мг/кг.

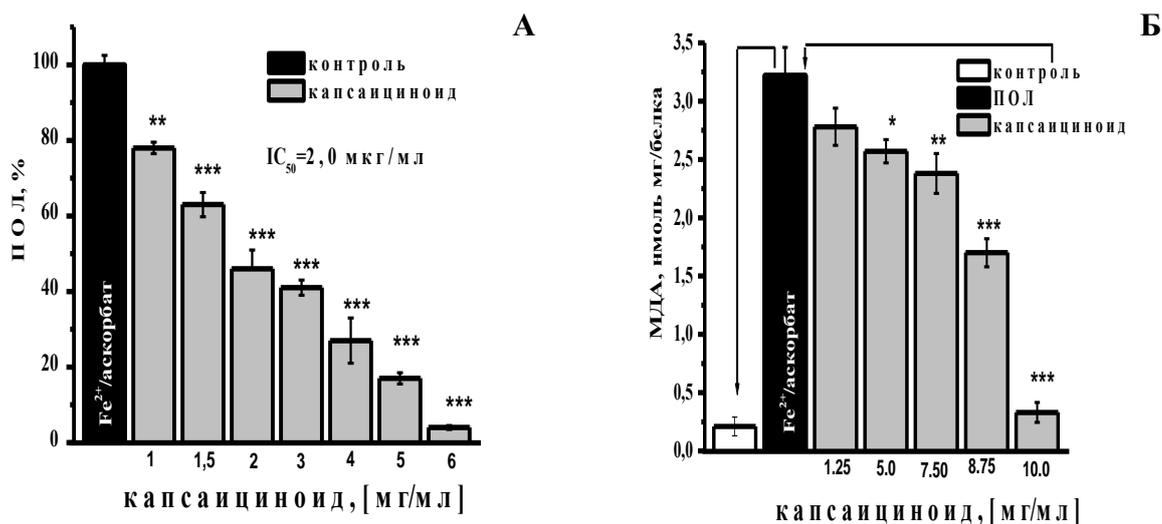
В третьей главе диссертации, названной **«Действие биологически активных веществ растительного происхождения на функциональные параметры митохондрий»** проведены скрининговые эксперименты по действию представителей различных классов соединений - флавоноидов, алкалоидов, полифенолов и также комплексных соединений, выделенных из растений, на функциональные параметры митохондрий.

*Скрининговый анализ влияния биологически активных веществ растений на функциональные параметры митохондрий.* В предварительных экспериментах был проведен скрининг по влиянию флавоноидов, алкалоидов, полифенолов и комплексных соединений на проницаемость *mPTP*, на активность митоK<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-канала и процессы ПОЛ в мембранах.

Результаты исследования показали, что алкалоиды, флавоноиды, полифенолы, комплексные вещества ингибируют в разной степени проницаемость *mPTP* и индуцированное системой  $Fe^{2+}$ /аскорбат ПОЛ в митохондриях печени крыс. Действие этих БАВ на активность митоК<sub>АТФ</sub>-канала соответствовало выше описанным эффектам других представителей растительных веществ. Результаты, полученные в этих скрининговых исследованиях, показали, что самая высокая биологическая активность среди различных классов БАВ растений соответствует ряду полифенолов (рутана, гетасана, эуфорбина, мегосина). Сумма капсаициноидов также, как полифенолы, эффективно действовала на митохондриальные процессы.

*Антиоксидантные свойства фракции капсаициноидов красного перца Capsicum Annuum L.* В ходе исследований изучались мембраноактивные свойства суммы капсаициноидов, белковых фракций, выделенных из плодов и семян красного перца *Capsicum Annuum L.* Полученные результаты показали, что белковые фракции, выделенные из плодов и семян красного перца, существенно не влияют на состояние *mPTP* печени крыс. Белковые фракции плода и семян также не влияли на  $Fe^{2+}$ /аскорбат-индуцированное ПОЛ в мембранах митохондрий. Сумма капсаициноидов в концентрациях от 1 мкг/мл до 6 мкг/мл ингибировала набухание митохондрий, т.е. процесс ПОЛ, индуцированное  $Fe^{2+}$ /аскорбатом (рис. 1, А). При этом полумаксимальная ингибирующая концентрация капсаициноидов составляла  $IC_{50} = 2,0$  мкг/мл.

В следующих опытах ингибирование капсаициноидами  $Fe^{2+}$ /аскорбат-индуцированное ПОЛ в митохондриях определяли биохимическим методом, измерением непосредственно количество МДА (рис. 1, Б).



**Рис. 1.** Ингибирование процесса ПОЛ (А) в митохондриях капсаициноидами и их влияние на накопление МДА в мембранах (Б). Примечание: по оси ординат – ингибирование ПОЛ в %, количества МДА в нмоль мг/белка по оси абсцисс –концентрация капсаициноида. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ;  $n = 5$ .

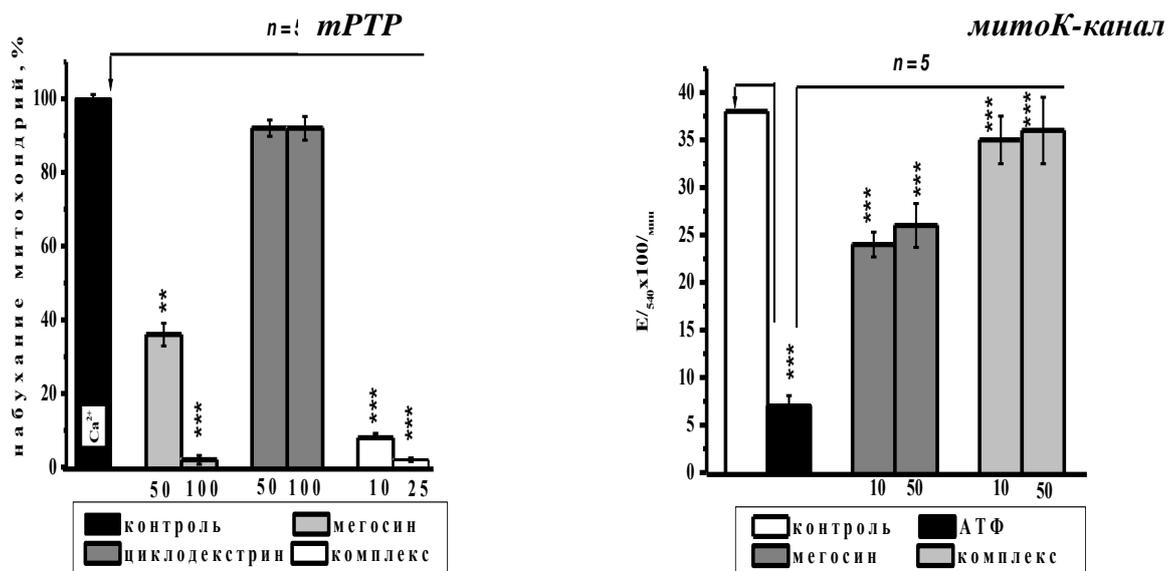
Результаты опытов показали, что капсаициноиды в низких концентрациях достоверно предотвращали накопление МДА в мембранах. Таким образом, полученные результаты подтверждают, что фракция капсаициноидов обладает высокой антиоксидантной активностью.

*Анализ мембраноактивных свойств производных госсипола.* В следующей серии экспериментов изучали влияние производного госсипола, выделенного из хлопчатника *Gossypium L.*, мегосина и комплекса с  $\gamma$ -циклодекстрином на функциональные параметры митохондрий. При добавление в инкубацию среду мегосина в концентрациях 0,05 мкМ, 0,1 мкМ, 0,2 мкМ, 0,5 мкМ и 0,6 мкМ привело ингибированию процесса ПОЛ в митохондриях на  $26 \pm 2,4\%$ ,  $49 \pm 2,8\%$ ,  $81,6 \pm 1,6\%$ ,  $97 \pm 2,4\%$  и  $98 \pm 2,4\%$  соответственно.  $IC_{50}$  мегосина составило 1,0 мкМ. Действия  $\gamma$ -циклодекстрина на ПОЛ в концентрациях от от 3 мкМ до 100 и показано, что  $\gamma$ -циклодекстрина влияет не значительно на ПОЛ ( до  $16,0 \pm 1,1\%$ ).

Действие комплекса (мегосин+  $\gamma$ -циклодекстрин) в концентрациях 0,05 мкМ, 0,1 мкМ, 0,2 мкМ, 0,3 мкМ и 0,4 мкМ привело к ингибированию ПОЛ на  $55 \pm 2,6\%$ ,  $62 \pm 2,2\%$ ,  $81,0 \pm 1,5\%$ ,  $87,0 \pm 1,8\%$  и  $99,1 \pm 2,6\%$  сравнению с контролем.  $IC_{50}$  полученного комплекса составило 0,07 мкМ. Исходя из полученных данных, исследуемые соединения и изученные концентрации обладают антиоксидантной активностью, причем антиоксидантная активность комплекса ( $IC_{50}=0,07$  мкМ) намного выше, чем антиоксидантная активность мегосина ( $IC_{50}=0,1$  мкМ). Следуют отметить, что  $\gamma$  – циклодекстрин, в выше приведенных условиях, не обладает антиоксидантной активностью.

Также, было изучено влияние мегосина,  $\gamma$ -циклодекстрина и супрамолекулярного комплекса этих веществ на *mPTP* и мито $K_{ATP}$ -канал с целью более полного выявления их мембраноактивных свойств (рис. 2). В исследованиях показано, что мегосин при концентрации 50 мкМ подавляет проницаемость *mPTP* на  $64 \pm 2,2\%$  по сравнению с контролем, то при концентрациях 80–100 мкМ данный показатель составляет 90–100%.  $\gamma$ -циклодекстрин в исследуемкх концентрациях на функцию канала *mPTP* существенно не повлиял.

В сравнительных экспериментах наблюдалось, что комплексное вещество, как и мегосин, обладает активным ингибирующим свойством в отношении состояния *mPTP*. Действие комплексного вещества при концентрации 25 мкМ более активно наблюдалось по отношению к мегосину и его коэффициент ингибирования составлял 96-99%. Таким образом, комплекс мегосина с  $\gamma$ -циклодекстринам в 4 раза эффективнее, чем мегосин при нормализации нарушения функций *mPTP* митохондрий. В экспериментах в этих условиях препарат  $\gamma$ -циклодекстрин не оказывал значительного влияния на конформацию *mPTP* как при низких, так и при высоких концентрациях (рис. 2 ).



**Рис. 2. Влияние мегосина,  $\gamma$ -циклодекстрина и комплексных веществ на *mPTP* и митоK<sub>АТФ</sub>-каналы. \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ .**

Также были изучены эффекты мегосина,  $\gamma$ -циклодекстрина и комплексных веществ на митоK<sub>АТФ</sub>-канал (рис. 2). Мегосин при концентрациях 10, 20 и 50 мкМ увеличивал активность митоK<sub>АТФ</sub>-канала, снижая ингибирующее действие АТФ. При изучении действия комплекса (мегосин+ $\gamma$ -циклодекстрин) в концентрации 10 мкМ на активность митоK<sub>АТФ</sub>-канала показано, что проницаемость канала увеличивалась на  $1,0 \pm 0,3$  раза по сравнению с контролем, а при 20 и 30 мкМ на  $3,2 \pm 0,2$  и  $3,6 \pm 0,2$  раза, 50 мкМ на  $5,4 \pm 0,5$  соответственно. Дальнейшее увеличение концентрации комплекса в инкубационной среде сохранило указанную выше его активность.  $\gamma$ -циклодекстрин не оказывал значительного влияния на активность митоK<sub>АТФ</sub>-канала как при высоких, так и при низких концентрациях в соответствии с результатами описанных выше экспериментов (рис. 2). Полученные результаты могут быть использованы при разработке препаратов на основе мегосина и комплекса, направленных на восстановление патофизиологии клеток, антиоксидантным, мембраноактивными и кардиопротекторными действиями. Комплексное вещество с водорастворимыми свойствами, созданное на основе комбинации мегосина с  $\gamma$ -циклодекстрином, наряду сохранения его активности, повышало биоактивность.

*Влияние некоторых фенольных веществ на процесс ПОЛ в митохондриях печени крыс.* В исследованиях оценивали антиоксидантные свойства фенольных соединений – гидрохинона, флороглюцина, (+)катехина, галловой кислоты, пирогаллола, кверцетина, ороксилена А, изучением их влияния на  $Fe^{2+}$ /аскорбат-индуцированное ПОЛ в митохондриях печени крыс (табл. 1).

Таблица 1

Действие фенольных соединений на  $Fe^{2+}$ /аскорбат-индуцированное ПОЛ

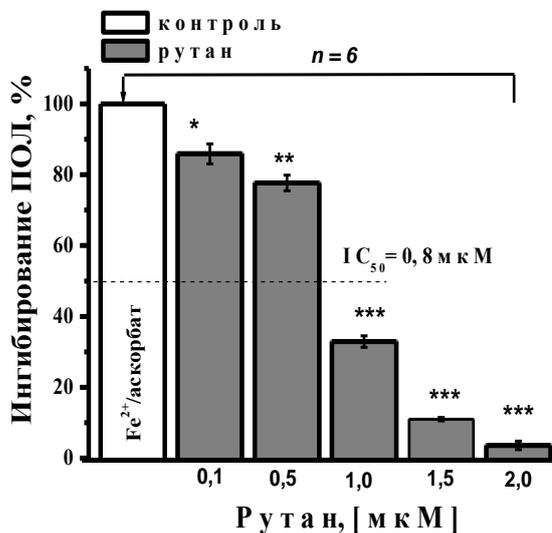
Фенольные вещества	Количество ОН- групп в кольце	IC <sub>50</sub> , мкМ	Максимальная ингибирующая концентрация, мкМ
Гидрохинон	2	-	-
Флороглюцин	3	-	-
Пирогаллол	3	5,0±2,6	8,0±3,2
Галловая кислота	3	2,6±4,3	6,0±1,5
Ороксиллин А	2	5,25±2,6	6,0±3,7
(+)Катехин	5	1,0±8,0	3,0±2,7
Кверцетин	5	3,0±4,2	5,0±3,2
<b>Ряд активности: (+)катехин &gt; галловая кислота &gt; кверцетин &gt; пирогаллол &gt; ороксиллин А &gt; флороглюцин &gt; гидрохинон</b>			

Результаты опытов показали, что фенольные соединения гидрохинон, ороксиллин А, флороглюцин, галловая кислота, пирогаллол, (+)катехин и кверцетин проявляют антиоксидантные свойства, достоверно ингибируя  $Fe^{2+}$ /аскорбат-индуцированный процесс ПОЛ в митохондриях. На основании полумаксимальных ингибирующих концентраций фенольных соединений определен ряд их антиоксидантной активности: (+)катехин > галловая кислота > кверцетин > пирогаллол > ороксиллин А > флороглюцин > гидрохинон. Среди исследованных фенольных веществ наибольшая антиоксидантная активность наблюдалась у (+)катехина, наименьшая активность у гидрохинона.

Анализ проведенных исследований показал, что существует взаимосвязь между химической структурой фенольных соединений и их антиоксидантными свойствами. Например, если сравнить эффекты пирогаллола и гидрохинона, отличающиеся одной гидроксильной группой, и расположением в кольце, то обнаруживается увеличение антиоксидантной активности у пирогаллола. Это подтверждает гипотезу о том, что чем больше ОН-групп в кольце, тем молекула обладает большей антиоксидантной активностью. Далее, в структуре пирогаллола ОН-группы расположены несимметрично в положениях 1, 2 и 3 ароматического кольца, в отличие от флороглюцина, где гидроксильные группы расположены симметрично в положениях 1, 3 и 5. Подобное расположение ОН-групп придает пирогаллолу более мощные антиоксидантные свойства по сравнению с флороглюцином. Кроме этого, на взаимосвязь “структура – свойство”, также может действовать замещение ОН-групп в бензольном кольце фенольных соединений с другими функциональными группами (например, метил-, этил-, карбоксил-).

В четвертой главе диссертации «Влияние полифенольных соединений на мембранные процессы митохондрий» в условиях *in vitro* изучены антиоксидантные и антирадикальные свойства рутана, гетасана и эуфорбина и их влияние на состояние *mPTR* и митоK<sub>ATФ</sub>- канал митохондрий печени и сердца крыс.

Действие рутана, эуфорбина и гетасана на процесс ПОЛ в митохондриях печени крыс. Антиоксидантные свойства рутана, гетасана и эуфорбина в экспериментах *in vitro* оценивали их эффектом на  $Fe^{2+}$ /аскорбат-индуцированное ПОЛ в мембранах митохондрий печени (рис.3).



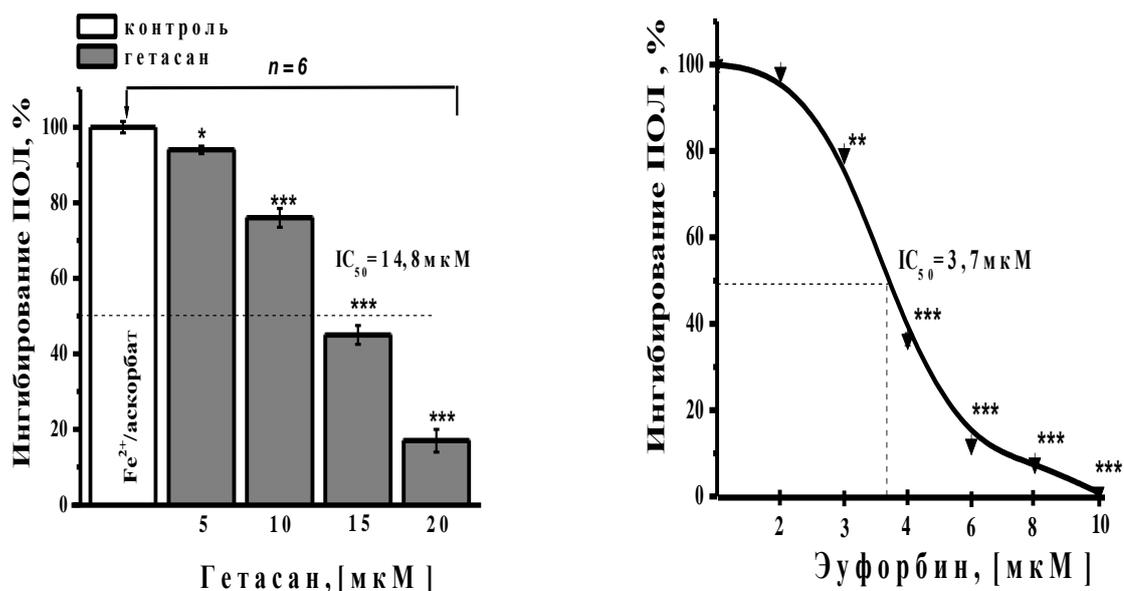
**Рис. 3. Ингибирующее действие рутана на процессы ПОЛ в митохондриях.** Примечание: по оси ординат ингибирование ПОЛ в %, по оси абсцисс –концентрация рутана. \*P<0.05; \*\*P<0.01; \*\*\*P<0.001.

Рутан в концентрации 0,1 мкМ ингибировал  $Fe^{2+}$ /аскорбат-индуцированное набухание митохондрий, т.е. интенсификацию ПОЛ, по сравнению с контролем на  $14,1 \pm 0,5\%$ , в концентрации 0,5 мкМ на  $22,3 \pm 1,1\%$ , в концентрации 1 мкМ на  $67,1 \pm 2,8\%$ , а в концентрации 1,5 мкМ на  $89,0 \pm 4,2\%$ . При этом полумаксимальная ингибирующая концентрация рутана составляла 0,8 мкМ.

В условиях  $Fe^{2+}$ /аскорбат-индуцированного ПОЛ, гетасан в диапазоне концентраций 5 мкМ до 20 мкМ, предотвращал набухание митохондрий, при этом IC<sub>50</sub> данного соединения составляла 14,8 мкМ (рис. 4). Эуфорбин в диапазоне концентраций от 3 мкМ до 10 мкМ ингибировал процесс ПОЛ в митохондриях от 20,6% до 92,3%, проявлял высокие антиоксидантные свойства. При этом полумаксимальная ингибирующая концентрация эуфорбина составляла 3,72 мкМ (рис. 4).

Таким образом, нами выявлены антиоксидантные свойства исследуемых полифенольных соединений на модели набухания митохондрий и показано, что по антиоксидантной активности стоит в следующем ряду: рутан>эуфорбин>гетасан.

Также была определена антиоксидантная активность производных рутана на модели экспериментального диабета, и на ее основе в Институте биоорганической химии АН РУз разработан антидиабетический препарат Плантагин.



**Рис. 4. Ингибирующее действие гетасана и эуфорбина на процессы ПОЛ в митохондриях.** Примечание: по оси ординат – ингибирование ПОЛ в %, по оси абсцисс – концентрация рутана. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ;  $n = 6$ .

В проведенных следующих биохимических экспериментах непосредственно измеряли количество МДА, образовавшегося при  $Fe^{2+}$ /аскорбат-индуцированном ПОЛ в митохондриях. В исследованиях количество МДА в митохондриях под действием  $Fe^{2+}$ /аскорбата увеличивалось до  $3,30 \pm 0,14$  нмоль мг/белка и данное значение было принято как контроль. В этих условиях рутан в концентрации 1 мкМ снижал количество МДА до  $1,54 \pm 0,05$  мг/белка. Рутан в концентрациях 5 мкМ и 20 мкМ снижал накопление МДА в мембранах митохондрий на  $1,24 \pm 0,03$  и  $0,10 \pm 0,003$  нмоль/мг белка соответственно. В экспериментах показатель  $IC_{50}$  рутана составлял 11,8 мкМ. Показано, что количество МДА в митохондриях, при действии 5 мкМ гетасана была равна 3,09 нмоль мг/белка, при 10 мкМ к 2,39 нмоль мг /белка, при 15 мкМ 0,64 нмоль мг /белка и при 20 мкМ 0,07 нмоль мг / белка. В этом эксперименте полумаксимальная ингибирующая концентрация гетасана составляла 12,5 мкМ. Также показано, что эуфорбин в концентрации 5 мкМ достоверно снижает количество МДА в мембранах до 2,98 нмоль/мг белка, в концентрации 20 мкМ до 0,7 нмоль/мг белка. По полученным результатам  $IC_{50}$  эуфорбина соответствует к 15,1 мкМ. Таким образом, полифенолы рутан, гетасан и эуфорбин оказывали ингибирующее действие на  $Fe^{2+}$ /аскорбат-индуцированное ПОЛ в митохондриальной мембране и проявляли высокую антиоксидантную активность.

*Антирадикальные свойства полифенолов рутана, эуфорбина и гетасана.* Соответствие антиоксидантных и антирадикальных свойств полифенолов имеет важное значение при их действии на биомембраны и в поиске новых антигипоксических веществ. В последующих экспериментах было изучено антирадикальная активность эуфорбина, гетасана и рутана. Для

этого нами была использована методика, основанная на способности антиоксидантов восстанавливать молекулы 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида (ДФПГ). Мы изучали кинетику рекомбинации полифенолов по стабильным радикалом ДФПГ. При добавлении полифенолов в спиртовой раствор ДФПГ происходит изменения окраски раствора, что соответствует переходу ДФПГ в нерадикальную форму. При этом уменьшается количество свободных радикалов, что свидетельствует о высокой антирадикальной активности полифенола. Для количественной оценки антирадикальной активности мы использовали параметр  $t_{50}$  – время необходимое для снижения исходной концентрации стабильных радикалов при реакции их изучаемыми препаратами на 50%. В реакции ДФПГ с полифенолами при температуре 20 С°  $t_{50}$  составляет для эуфорбина 90 секунд (при соотношении основного вещества к ДФПГ 1:1), для гетасана 180 секунд (соотношение 1:1), для рутана 45 секунд (соотношение 1:1). Следовательно, по реакционной способности полифенол рутан превосходит эуфорбин в 2 раза, а гетасан в 4 раз. Таким образом, скорость реакции изученных полифенолов с ДФПГ была различна и все изученные полифенолы обладали высокой антирадикальной активностью.

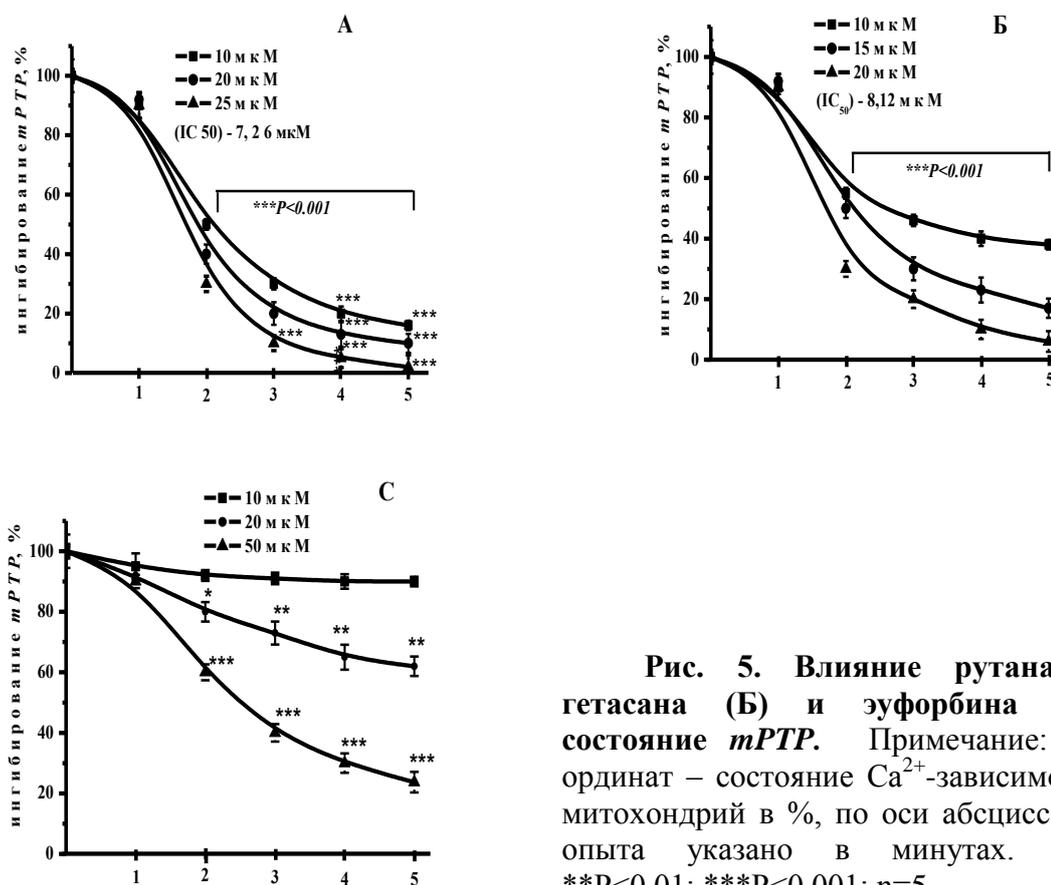
В заключительной части исследований доказано существование корреляционной зависимости между антиоксидантным и антирадикальным действиями полифенолов. Их коэффициент корреляции составил  $r = 0,95$  при действии рутана,  $r=0,79$  при действии гетасана и  $r=0,82$  при действии эуфорбина. Эти результаты доказывают, что полифенолы рутан, гетасан и эуфорбин обладают высокими антиоксидантными и антирадикальными свойствами и представляют интерес для изучения антигипоксантных эффектов этих полифенолов.

*Влияние рутана, гетасана и эуфорбина на состояние mPTR печени крыс.* mPTR играет особую роль в регуляции метаболизма, ионного гомеостаза и физиологии клеток. В последнее время mPTR рассматривается как «мишень» для действия патогенов и фармакологических агентов. В связи с этим, в экспериментах *in vitro* изучалось влияние рутана, гетасана и эуфорбина на состояние mPTR. Показано, что добавление 50 мкМ  $Ca^{2+}$  в инкубационную среду вызывает набухание митохондрий, т.е. открывание mPTR в этом состоянии, этот показатель был принят за 100% (контроль).

Рутан в концентрации 1 мкМ ингибировал открытие mPTR, по сравнению с контролем на  $14 \pm 3,2\%$ , в концентрации 5 мкМ  $36 \pm 4,5\%$ , в концентрации 10 мкМ  $84 \pm 0,5\%$  и в концентрации 20 мкМ концентрации  $90 \pm 3,2\%$  и полностью ингибировал в концентрации 25 мкМ. В этих экспериментах  $IC_{50}$  рутана составляла 7,26 мкМ (рис. 5, А).

Гетасан и эуфорбин также оказывали ингибирующее влияние на проницаемость mPTR. Показано, что гетасан в концентрации 1 мкМ ингибировал открытие mPTR, по сравнению с контролем на  $15,0 \pm 3,2\%$ , в 5 мкМ на  $33,0 \pm 4,5\%$ , в 10 мкМ на  $62,0 \pm 0,5\%$ , в 15 мкМ на  $83 \pm 2,5\%$ , в концентрации 20 мкМ на  $94 \pm 0,8\%$ . Полумаксимальная ингибирующая концентрация гетасана mPTR составляла 8,12 мкМ. На основе выявленной

мембранной активности гетасана, в Институте биоорганической химии АН РУз создано новое противовирусное лекарственное средство «Пунитан». Также показано, что эуфорбин в низких концентрациях не влиял на состояние *mPTP*, в высокой концентрации 50 мкМ снижал открытие *mPTP*, по сравнению с контролем на  $76 \pm 3,4\%$  и проявлял ингибиторные свойства. Действие эуфорбина на состояние *mPTP* было слабее, чем ингибирующей активностью рутана и гетасана (рис.5).

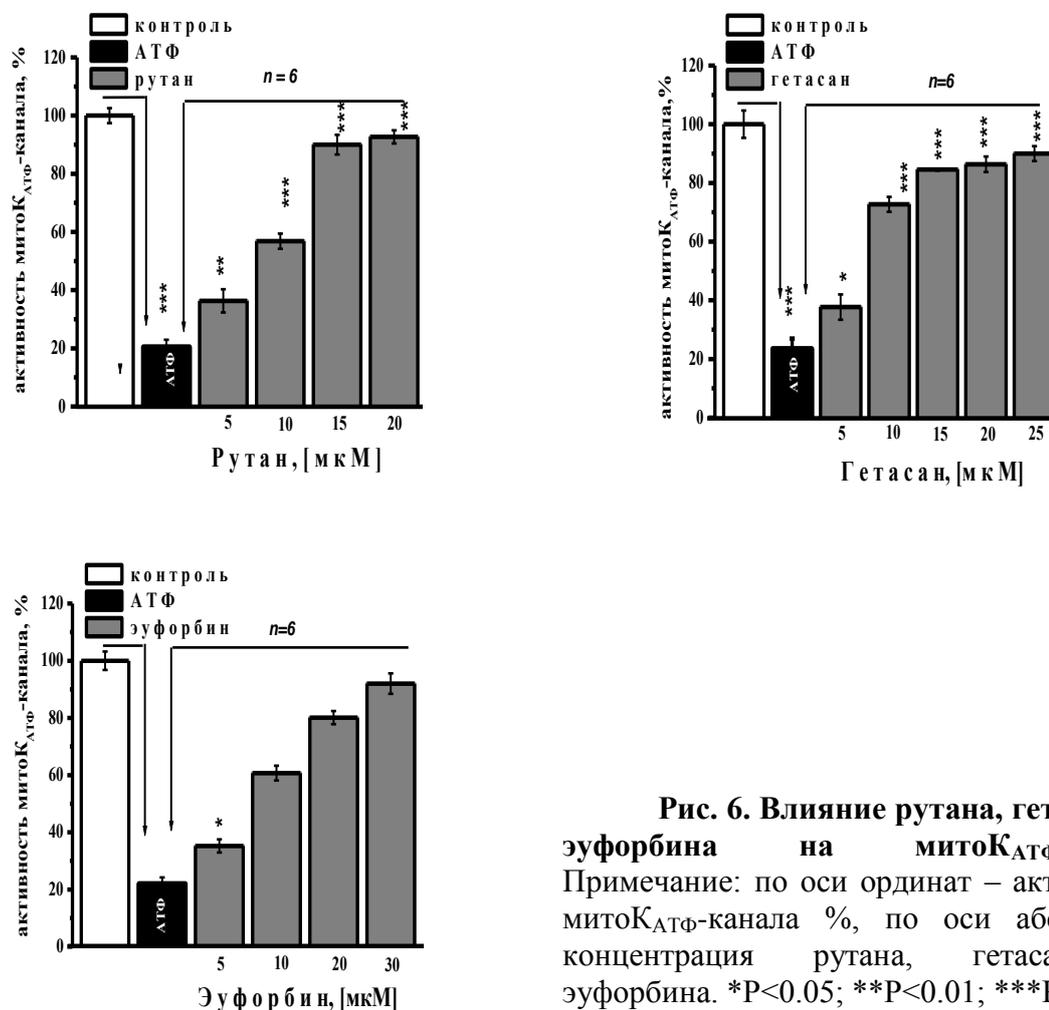


**Рис. 5. Влияние рутана (А) , гетасана (Б) и эуфорбина (С) на состояние *mPTP*.** Примечание: по оси ординат – состояние  $Ca^{2+}$ -зависимой *mPTP* митохондрий в %, по оси абсцисс – время опыта указано в минутах. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ;  $n = 5$ .

*Влияние полифенолов рутана, гетасана и эуфорбина на мито $K_{ATP}$ -печени крысы.* В последнее время мито $K_{ATP}$ -канал рассматривается как потенциальная «мишень» для действия патогенов и БАВ. Дисфункцию мито $K_{ATP}$ -канала, вызванную при различных патологиях можно корректировать с фармакологическими агентами. В последующих экспериментах изучалось влияние рутана, гетасана и эуфорбина на активность мито $K_{ATP}$ -канала печени крыс (рис. 6).

Добавление 200 мкМ АТФ в среду инкубации достоверно ингибировало проницаемость для ионов  $K^+$  мито $K_{ATP}$ -канала на  $83,0 \pm 1,0\%$  относительно контроля. В этих условиях рутан оказывал активирующее действие на мито $K_{ATP}$ -канал, например, при концентрации 20 мкМ увеличивал проницаемость канала на  $96,3 \pm 0,7\%$ , по сравнению с показателем ингибирования АТФ (рис.6.) В экспериментах было обнаружено, что гетасан в более высоких концентрациях, чем рутан, оказывал активирующее влияние

на митоK<sub>АТФ</sub>-канал: в концентрации 25 мкМ увеличивал активность канала, по сравнению с АТФ-ингибированном состоянии на 93,3±0,8 %. В этих условиях эуфорбин в концентрации 30 мкМ увеличивал активность митоK<sub>АТФ</sub>-канала, по сравнению с АТФ-ингибированном состоянии, на 90,3 ± 0,9%.



**Рис. 6. Влияние рутана, гетасана и эуфорбина на митоK<sub>АТФ</sub>-канал.** Примечание: по оси ординат – активность митоK<sub>АТФ</sub>-канала %, по оси абсцисс – концентрация рутана, гетасана и эуфорбина. \*P<0.05; \*\*P<0.01; \*\*\*P<0.001.

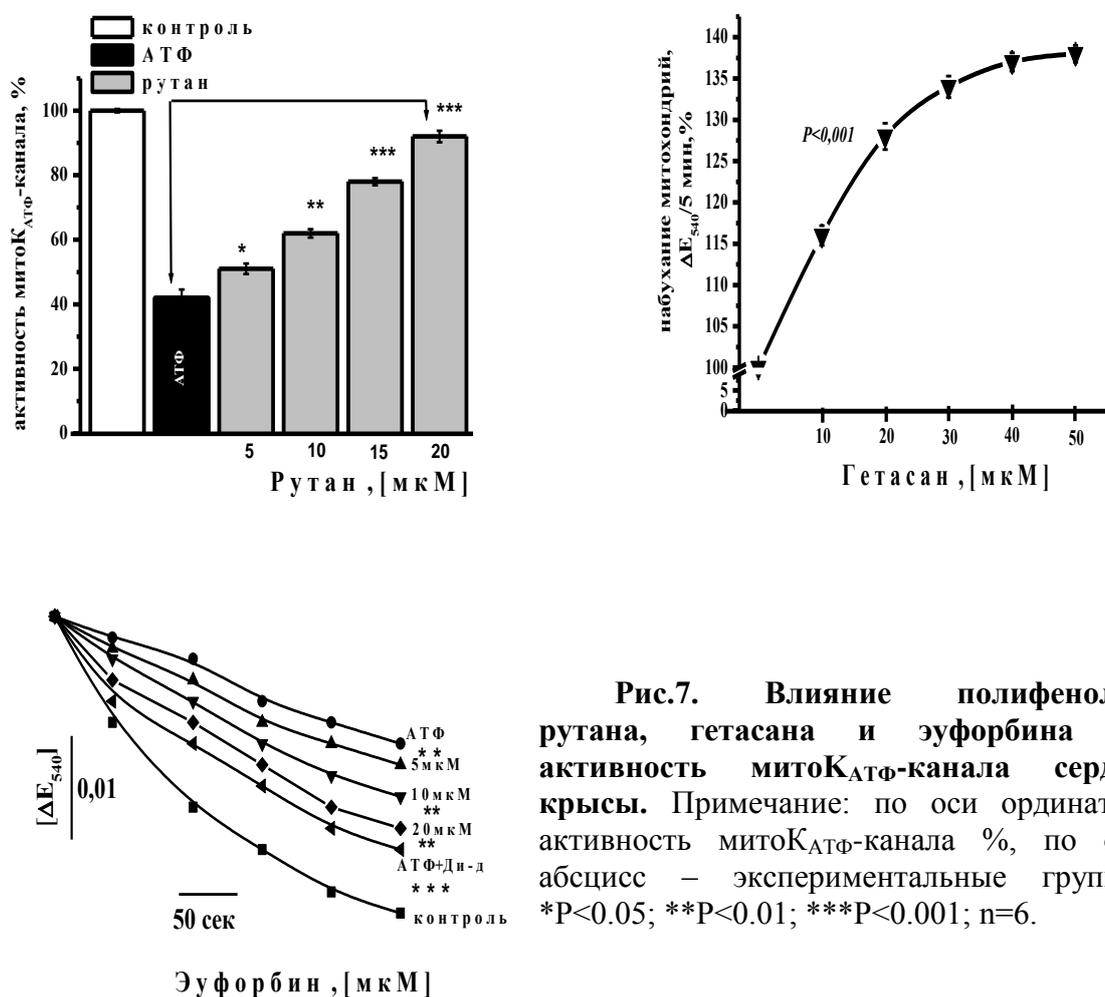
Таким образом, результаты показали, что рутан, гетасан и эуфорбин активируют действие на митоK<sub>АТФ</sub>-канал.

Обнаруженные нами мембранноактивные свойства изученных полифенольных соединений, использованы при разработке лекарственных препаратов в Институте биоорганической химии АН РУз. Мы убеждены, что в перспективе на основе полифенолов, корректирующих нарушений митоK<sub>АТФ</sub>-канала в условиях гипоксии будут разработаны новые антигипоксические средства.

*Влияние рутана, гетасана и эуфорбина на митоK<sub>АТФ</sub>-канал и mPTP сердца крысы.* МитоK<sub>АТФ</sub>-канал является селективным по отношению к ионам K<sup>+</sup>, участвует в регуляции объема митохондрий, при изучении механизмов действия БАВ на организм на молекулярном уровне, при определении их антигипоксических, кардиопротективных и мембранноактивных

свойств как специфическая «мишень». МитоK<sub>АТФ</sub>-канал принадлежит к семейству АТФ-зависимых калиевых каналов, которые ингибируются АТР, 5-гидроксидеконатом и препаратами сульфонилмочевины. Активаторами данного канала являются диазоксид, кромакалин, никорандил и УДФ, также активность канала контролируется рядом гормонов. В развитии патологических процессов различного генеза, в системе защиты миокарда в условиях ишемии и гипоксии, в формировании механизмов адаптации организма к различным экстремальным условиям ведущую роль играют митоK<sub>АТФ</sub>-каналы.

В последующих исследованиях изучали влияние полифенолов рутана, гетасана и эуфорбина на активность митоK<sub>АТФ</sub>-канала сердца крыс (рис. 7).



Обнаружено, что рутан в концентрациях 5 мкМ, 10 мкМ и 20 мкМ увеличивал функциональную активность митоK<sub>АТФ</sub>-канала сердца, по сравнению с АТФ-ингибированном состоянии, на  $21,4 \pm 2,5\%$ ,  $47,6 \pm 1,8\%$  и  $85,7 \pm 2,8\%$  соответственно (рис. 7), что свидетельствует полифенол действует как активатор канала.

Показано, что гетасан в концентрации 50 мкМ в увеличивал проницаемость для  $K^+$ , по сравнению с АТФ-ингибированном состоянии на  $38 \pm 1,3\%$ . В этих условиях эуфорбин в концентрации 5 мкМ увеличивал активность мито $K_{ATP}$ -канала сердца, по сравнению с АТФ-ингибированном состоянии на  $36,3 \pm 1,8\%$ , увеличивалась на 10 мкМ на  $62,1 \pm 2,4\%$  и 20 мкМ на  $93,3 \pm 4,8\%$ .

Таким образом, рутан, гетасан и эуфорбин оказывают на мито $K_{ATP}$ -канал сердца крысы как его активатор. Так, как полифенолы обладают антигипоксическими свойствами, можно прогнозировать, что в перспективе на их основе будут разрабатываться эффективные лекарственные средства. На основе коррекции полифенолами рутан, гетасан и эуфорбин дисфункции мито $K_{ATP}$ -каналов, вызванные ишемической болезнью сердца, могут быть созданы эффективные кардиопротекторы.

В следующих экспериментах изучали влияние полифенола гетасан на состояние *mPTP* митохондрий сердца крысы. В экспериментах, гетасан эффективно влиял на конформационное состояние *mPTP* в концентрациях от 10 мкМ до 50 мкМ и его переход в открытое состояние в зависимости от применяемых концентраций ингибировался на  $35 \pm 1,7\%$ ,  $56 \pm 2,4\%$ ,  $75 \pm 2,9\%$ ,  $84 \pm 2,4\%$  и  $88 \pm 2,3\%$ , соответственно  $IC_{50} = 18,4$  мкМ. Результаты проведенных исследований показали, что эффект рутана на *mPTP* сердца крыс оказался как и у гетасана, показатели были аналогичными (результаты не приведены). Полумаксимальная ингибирующая концентрация рутана составила  $IC_{50} = 17,2$  мкМ.

Кроме того, при изучении действия различных концентраций эуфорбина на состояние *mPTP* показано, что исследуемый полифенол ингибировал мегапору как гетасан и рутан. При этом максимальная концентрация эуфорбина 100 мкМ достоверно ингибировало открытие *mPTP* сердца, по сравнению с контролем на  $91,1 \pm 5,5\%$ , и полумаксимальная ингибирующая концентрация эуфорбина составила  $IC_{50} = 42,1$  мкМ. Таким образом, полифенолы рутан, гетасан и эуфорбин оказывали ингибирующее действие на проницаемость *mPTP* митохондрий сердца крыс, снижая уровень пермеабиллизации мембран.

Очевидно, что в условиях открытия *mPTP*, мембраны митохондрий становятся проницаемым для ионов и других незаряженных веществ, в результате снижается мембранный потенциал, разобщается окислительное фосфорилирование и развивается дефицит АТФ в клетке. С другой стороны предполагается, что *mPTP* сердца является “мишенью” для кардиопротекторных средств, которые оказывают ингибирующее влияние на открытые мегапоры, и таким образом могут стабилизировать мембраны митохондрий. Исходя из логики вышеизложенного, можно предположить, что гетасан, рутан и эуфорбин в перспективе могут быть использованы как основы эффективных кардиопротекторов.

В пятой главе диссертации «**Определение новых антигипоксантов на экспериментальных моделях гипоксии**» изучалась антигипоксическая активность рутана, гетасана и эуфорбина. На различных моделях гипоксии,

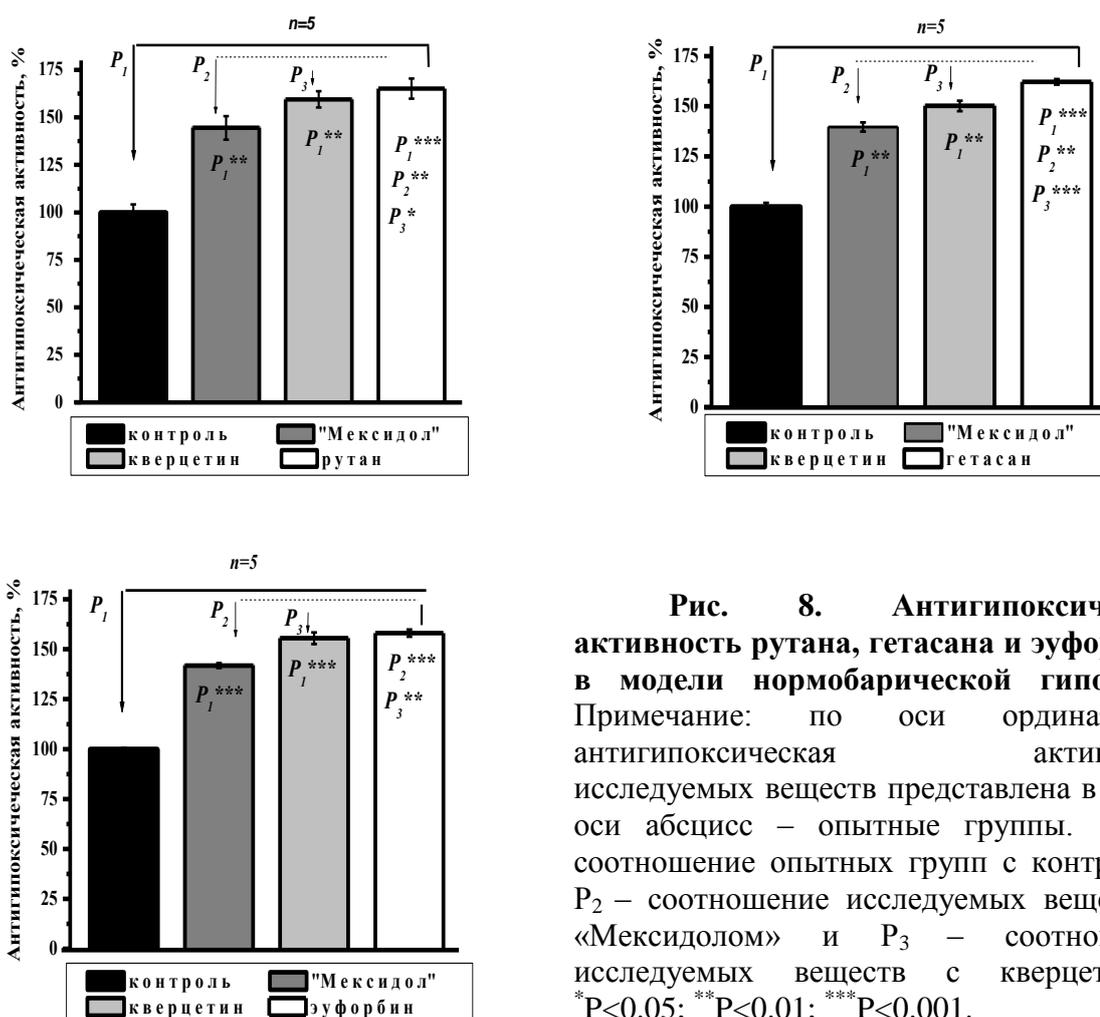
антигипоксические свойства данных полифенольных соединений также оценивались по сравнению с аналогом кверцетина и «Мексидол».

*Исследование антигипоксической активности полифенолов рутана, гетасана и эуфорбина на модели нормобарической гипоксии.* Гипоксия - патологический процесс, абсолютный или относительный недостаток уровня биологического окисления и энергообеспечения в различных тканях организма. В экспериментальных исследованиях, нормобарическая гипоксия представляет собой удобную скрининговую модель для выявления новых антигипоксических средств. Следующие исследования проводились с целью определения антигипоксической активности рутана в модели нормобарической гипоксии. Для этого были выбраны дозы рутана (25 мг/кг массы тела; 50 мг/кг и 100 мг/кг), поскольку этот препарат является малотоксичным веществом IV класса, и изучалась его активность под влиянием этих доз. Результаты экспериментов показали, что во всех изученных дозах рутан проявлял антигипоксические свойства. В частности, в экспериментах продолжительность жизни животных контрольной группы составляла  $23,8 \pm 2,2$  минуты. Время выживания животных в условиях гипоксии составляло  $33,0 \pm 1,8$  минуты при дозе 25 мг/кг полифенола рутана, при этом рутан увеличивал выживаемость животных на 9,2 минуты, а его антигипоксическая эффективность составила 38,7%. Аналогичная активность наблюдалась и при дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг рутана, соответственно ( $38,8 \pm 1,8$  мин. и  $40,1 \pm 2,4$  мин.). В этих дозах выживаемость животных увеличивалось на 15,0 и 16,3 минуты. Статистический анализ результатов показал, что разница между активностью рутана в дозах 50 и 100 мг/кг была относительно низкая. В этих условиях антигипоксическая эффективность рутана составила 63,0% и 68,4% соответственно. Исходя из этого, при определении антигипоксической эффективности рутана и других полифенолов была выбрана доза 50 мг/кг массы тела мышей.

При оценки эффективности антигипоксических и других лекарственных средств, рекомендуются сравнить их активности с широко применяемыми препаратами в фармакологии. В связи с этим в настоящей работе антигипоксические свойства гетасана, эуфорбина и рутана сопоставлены с кверцетином и «Мексидолом». По литературным данным, кверцетин наряду с антиоксидантными, антирадикальными и мембраноактивными свойствами, обладает антигипоксическим действием, а «Мексидол» в настоящее время широко используется в медицинской практике в качестве антигипоксического препарата. В последующих экспериментах, с целью оценки антигипоксической эффективности рутана, изучали его активность в сравнение с кверцетином и «Мексидолом» (рис. 8). В экспериментах, продолжительность жизни животных контрольной группы составляла в среднем  $24,7 \pm 1,18$  минут. Под влиянием 50 мг/кг массы тела рутана, жизненный цикл животных IV группы составил  $40,8 \pm 1,36$  минуты, увеличивая их выживаемость до 16,1 минут в сравнение с контрольной группой (рис. 8), т.е. антигипоксическая активность рутана была выше на 65,2%, относительно контрольной группы.

В наших экспериментах, выживаемость животных III группы под действием кверцетина составила  $39,7 \pm 1,98$  минут, а антигипоксическая активность кверцетина достоверно увеличивала, по сравнению с I контрольной группой на 59,5%. Эти статистические анализы показывают, что антигипоксическая активность рутана относительно высока по сравнению с кверцетином. Продолжительность жизни животных II группы при действии «Мексидола» составила  $35,7 \pm 1,32$  минуты, продолжительность жизни животных этой группы увеличивалась на 11,2 минуты (44,5%) по сравнению с I контрольной группой (рис. 8). Таким образом, антигипоксическая активность «Мексидола» была ниже, чем активности кверцетина и рутана.

Гетасан также продемонстрировал антигипоксическую активность на модели нормобарической гипоксии. Показано, что средняя продолжительность жизни лабораторных мышей IV группы, при действии гетасана составила  $39,2 \pm 1,35$  минуты. Продолжительность жизни мышей III группы составила  $36,2 \pm 2,64$  минуты при действии кверцетина,  $33,2 \pm 2,26$  минуты для мышей II группы, при инъекции «Мексидола». Антигипоксическая активность гетасана, по сравнению с контрольной группой, увеличивалась на 62,0%.



**Рис. 8. Антигипоксическая активность рутана, гетасана и эуфорбина в модели нормобарической гипоксии.**

Примечание: по оси ординат – антигипоксическая активность исследуемых веществ представлена в %, по оси абсцисс – опытные группы.  $P_1$  – соотношение опытных групп с контролем,  $P_2$  – соотношение исследуемых веществ с «Мексидолом» и  $P_3$  – соотношение исследуемых веществ с кверцетином. \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ .

В следующих экспериментах, при модели нормобарической гипоксии продолжительность жизни I контрольной группы животных составила в среднем  $23,4 \pm 1,02$  минут. Установлено, что продолжительность жизни животных IV группы при действии эуфорбина составила  $37,0 \pm 1,80$  минут. При этом этот показатель ограничивался  $36,4 \pm 2,91$  минутами под действием кверцетина и  $33,2 \pm 1,24$  минутами под воздействием «Мексидола». В этих условиях показатели выживаемости у всех II, III и IV экспериментальных групп увеличивались, по сравнению с мышью I контрольной группы на 9,80 минут, 13,0 минут и 13,6 минут, соответственно. Антигипоксическая активность эуфорбина составила 58,1%, этот показатель был выше на 3,1%, чем у кверцетина, и на 16,3% эффективнее чем «Мексидол» (Рис. 8).

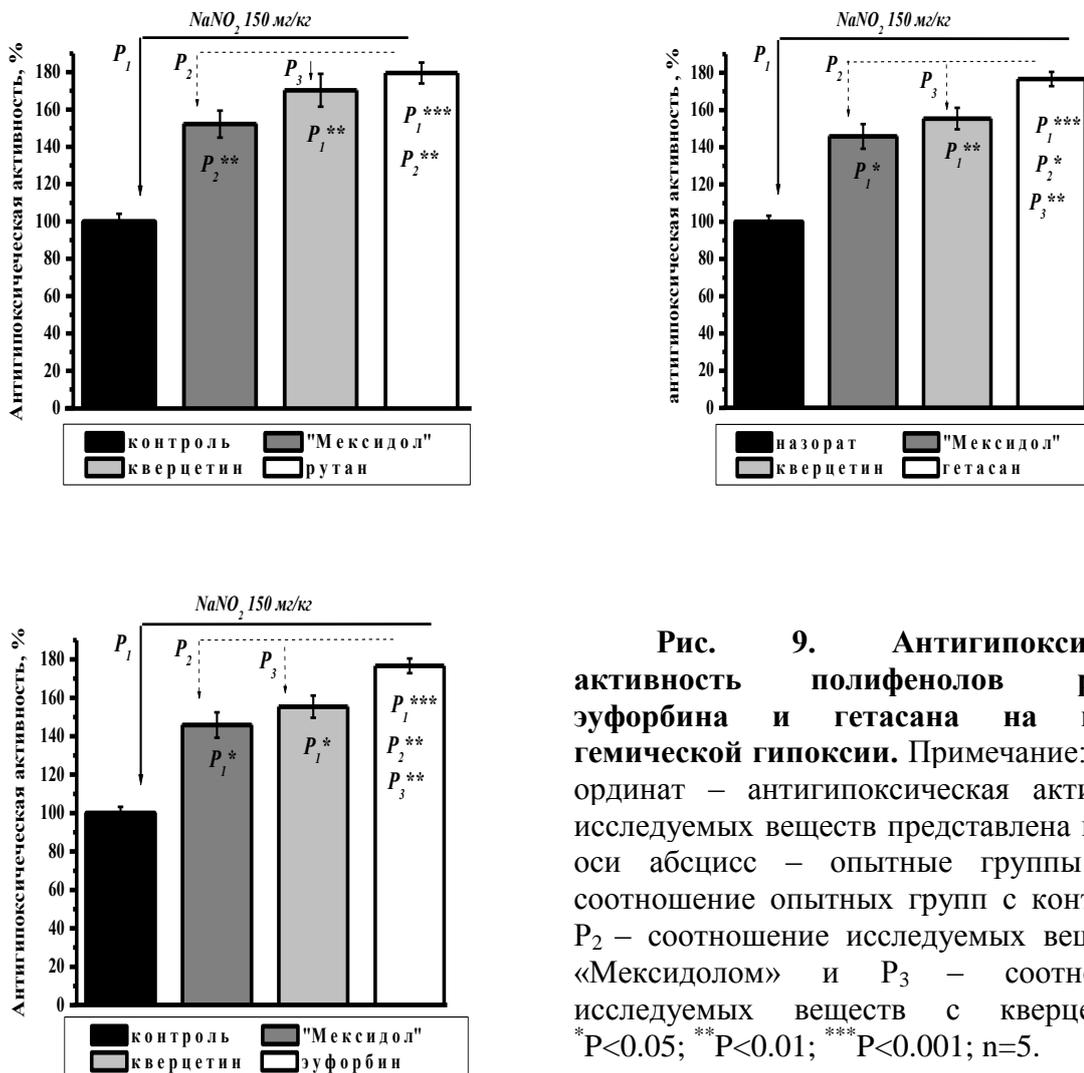
В целом, в модели нормобарической гипоксии, рутан, эуфорбин и гетасан проявили высокую антигипоксическую активность, антигипоксическая эффективность этих полифенолов была выше чем активности кверцетина и «Мексидола».

*Изучение антигипоксической активности полифенолов рутана, гетасана, эуфорбина на модели гемической гипоксии.* Уменьшение количества  $O_2$  в крови непосредственно вызывает дефицит  $O_2$  в тканях и клетках, приводит к развитию гемической формы гипоксии в организме. На следующем этапе исследований, антигипоксическая активность рутана, гетасана и эуфорбина была изучена на модели гемической гипоксии. При формировании этой модели гипоксии мы использовали соли нитрита натрия ( $NaNO_2$ ). В экспериментальных опытах использовались дозы соли  $NaNO_2$  150 и 250 мг/кг. Поскольку доза 150 мг/кг  $NaNO_2$  формирует умеренное проявление гемической гипоксии в организме, доза 250 мг/кг приводит к развитию тяжелой формы гемической гипоксии. В исследованиях изучали антигипоксическую активность рутана при дозе  $NaNO_2$  150 мг/кг (рис. 9).

При этом, продолжительность жизни животных I контрольной группы составила в среднем  $27,02 \pm 2,56$  мин. Необходимо отметить, что между 25 – 28 минутами продолжительности эксперимента, смертность наблюдалась у всех животных контрольной группы и составила 100%. При действии рутана 50 мг/кг при интоксикации организма  $NaNO_2$  в дозе 150 мг/кг, средняя продолжительность жизни животных составила  $48,5 \pm 2,09$  минуты. Рутан увеличивал выживаемость животных на 21,5 минуты по сравнению с контрольной группой. В этих условиях антигипоксическая активность рутан была выше, по сравнению с животными контрольной группы, на 79,6%.

В следующих экспериментах на модели гемической гипоксии, индуцированной 150 мг/кг  $NaNO_2$ , изучена антигипоксическая активность эуфорбина и гетасана (рис.9). Эксперименты показали, что средняя продолжительность жизни животных при действии эуфорбина составила  $44,4 \pm 2,06$  минуты, а при действии гетасана эти показатели составили  $46,3 \pm 2,16$  минуты. При этом выживаемость животных увеличивалась на 18,8 минуты в присутствии эуфорбина и на 20,3 минуты в присутствии гетасана, по сравнению с животными I контрольной группы. В экспериментах антигипоксическая активность эуфорбина составила 73,4%, а

антигипоксическая активность гетасана 76,7%. Выживаемость лабораторных животных, использованных в опытах, составила 14,5% (29 голов) и 15% (30 голов).



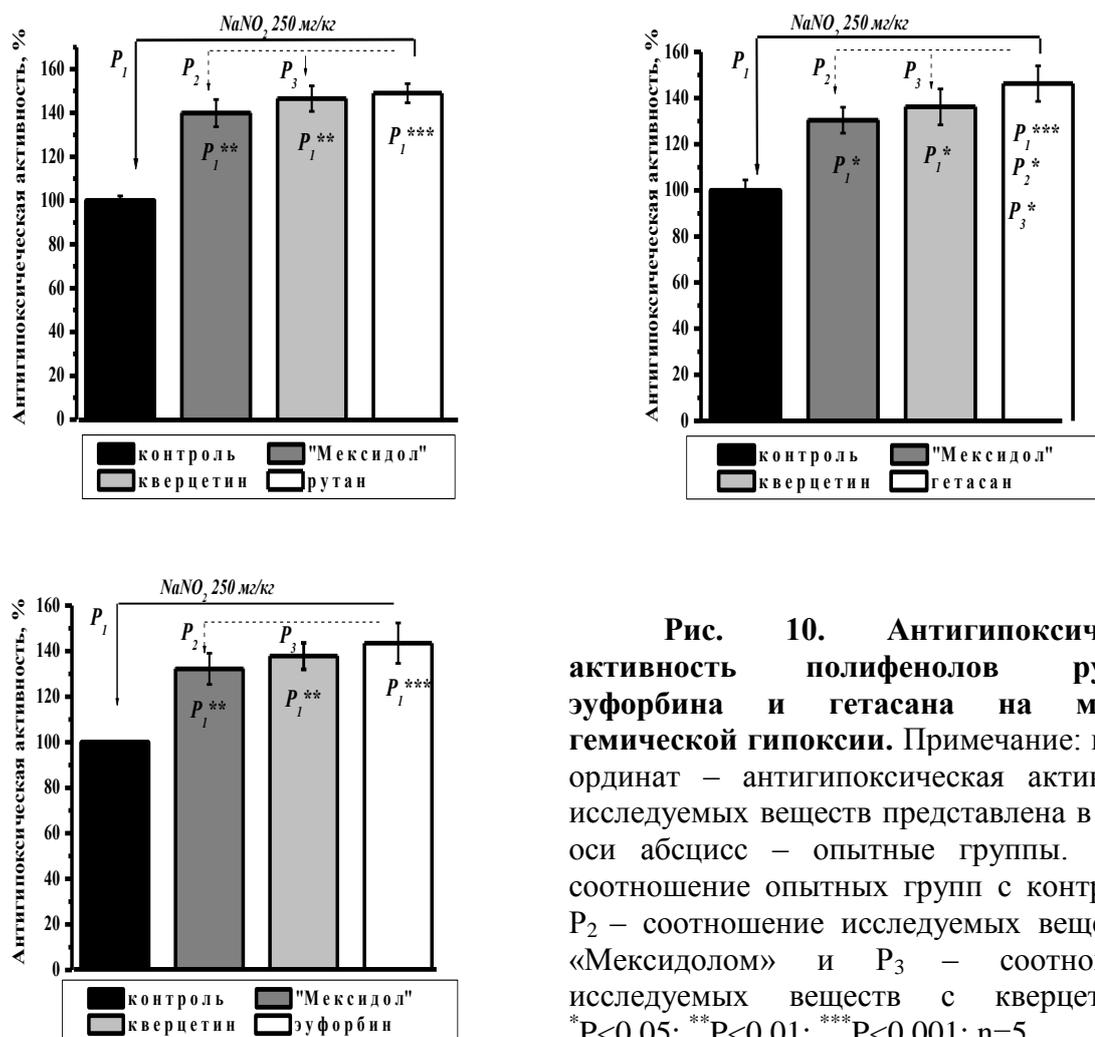
**Рис. 9. Антигипоксическая активность полифенолов рутана, эуфорбина и гетасана на модели гемической гипоксии.** Примечание: по оси ординат – антигипоксическая активность исследуемых веществ представлена в %, по оси абсцисс – опытные группы.  $P_1$  – соотношение опытных групп с контролем,  $P_2$  – соотношение исследуемых веществ с «Мексидолом» и  $P_3$  – соотношение исследуемых веществ с кверцетином. \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ ;  $n = 5$ .

В заключении можно сказать, что доза  $\text{NaNO}_2$  в 150 мг/кг приводит к развитию умеренной формы гемической гипоксии в экспериментальных мышцах. Согласно исследованиям, в среднем 30% животных, отравленных рутаном и кверцетином  $\text{NaNO}_2$ , выжили. Эти данные согласуются результатами исследований по изучению антигипоксической активности полифенола рутана, основанными на модели нормобарической гипоксии. Следовательно, рутан, гетасан и эуфорбин проявляют высокую антигипоксантную активность при гипоксии средней степени тяжести.

Эти полученные результаты представляют интерес с точки зрения изучения антигипоксической активности исследуемых веществ на фоне действия дозы  $\text{NaNO}_2$  при 250 мг/кг (абсолютная смертность). В литературе описано, что доза 250 мг/кг  $\text{NaNO}_2$  вызывает тяжелые формы гипоксии в организме. При дозе 250 мг/кг (абсолютная смертность)  $\text{NaNO}_2$

продолжительность жизни животных, принимавших рутан, составила 12,08 минут. Тот факт, что период выживания животных под влиянием рутана составил 18,0 минут, свидетельствует об увеличении антигипоксической активности рутана на 49,0% по сравнению с контролем (рис. 10). При такой форме гипоксии в присутствии кверцетина и мексидола наблюдали следующее: выживаемость животных, принимавших кверцетин, увеличивалась на 4,9 минуты по сравнению с контрольной группой и показывала 49,0% антигипоксической активности. Под влиянием «Мексидола» было обнаружено, что выживаемость животных увеличилась на 4,82 минуты по сравнению с контрольной группой, т.е. антигипоксическая активность увеличилась на 39,9%. Однако в экспериментах выживаемость животных при данной форме гемической гипоксии не сохранялась. То есть в наших опытах в конце эксперимента в этом случае все животные в группе погибли.

В последующих экспериментах проверяли антигипоксическую активность полифенолов эуфорбина и гетасана при дозе ( $\text{NaNO}_2$ ) 250 мг/кг (абсолютная смерть) (рис. 10).



**Рис. 10.** Антигипоксическая активность полифенолов рутана, эуфорбина и гетасана на модели гемической гипоксии. Примечание: по оси ординат – антигипоксическая активность исследуемых веществ представлена в %, по оси абсцисс – опытные группы.  $P_1$  – соотношение опытных групп с контролем,  $P_2$  – соотношение исследуемых веществ с «Мексидолом» и  $P_3$  – соотношение исследуемых веществ с кверцетином. \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ ;  $n=5$ .

При такой форме острой гемической гипоксии выживаемость животных под действием эуфорбина увеличивалась на 5,4 минуты по сравнению с контрольной группой, а под действием гетасана - на 5,42 минуты. Антигипоксическая активность эуфорбина и гетасана составила 43,5% и 46,3% соответственно (рис. 10).

Таким образом, в экспериментах полифенолы эуфорбин и гетасан сохраняли антигипоксическую активность даже в дозе 250 мг/кг. В конце экспериментов антигипоксическую активность исследуемых полифенолов (рутан, эуфорбин и гетасан) сравнивали с жизненным циклом экспериментальных животных с учетом выживаемости.

При дозе  $\text{NaNO}_2$  250 мг/кг 100% смертность (абсолютная смертность) наблюдалась у всех животных экспериментальной группы в течение 10–18 мин от продолжительности эксперимента (при средней разнице 8 мин). Следовательно, токсический эффект полученной дозы 250 мг/кг ( $\text{NaNO}_2$ ) указывает на то, что она была высокотоксичной по сравнению с дозой 150 мг/кг. Данный процесс также сильно повлиял на физиологическое состояние животных, снизив их выживаемость. При дозе 250 мг/кг  $\text{NaNO}_2$  время выживания животных контрольной группы составило  $13,0 \pm 1,02$  минуты. Эти значения различались примерно на 13,2 минуты при умеренной форме гемической гипоксии по сравнению с действием  $\text{NaNO}_2$  в дозе 150 мг/кг. В моделях гемической гипоксии (от средней до тяжелой) полифенолы рутан, эуфорбин и гетасан проявляли высокие антигипоксические свойства. Их антигипоксический эффект более активен, чем у кверцетина и мексидола, что станет основой для разработки новых перспективных антигипоксических препаратов в фармацевтической промышленности.

**В заключительной части** диссертации анализируются мембраноактивные свойства растительных веществ разных классов, взаимосвязь антиоксидантных свойств полифенолов с их химической структурой. Обсуждалась антирадикальная, антиоксидантная, антигипоксическая активность полифенолов рутана, гетасана и эуфорбина, а также их использование в качестве лекарственных средств в перспективе.

## **ВЫВОДЫ**

1. В результате скрининга растительных веществ, принадлежащих к разным классам, на функциональные параметры митохондрий печени крыс обнаружено, что мембраноактивные свойства полифенольных соединений и капсаициноидов более активны, чем другие. На митохондриальной модели фракция капсаициноидов ингибировала процесс ПОЛ в мембранах с полумаксимальной концентрацией ингибирования  $\text{IC}_{50}=2$  мкг/мл.

2. На основании антиоксидантной активности исследованных фенольных соединений ( $\text{IC}_{50}$  ПОЛ в мембранах митохондрий) был составлен следующий ряд: рутан>мегосин>гетасан>эуфорбин>(+)катехин>галловая кислота>кверцетин>пирогаллол ороксиллин А>флороглюцин> гидрохинон. Доказано, что антиоксидантные свойства фенольных соединений напрямую

связаны с количеством ОН-групп в бензольных кольцах их структуры и их симметричным расположением в бензольном кольце.

3. При изучении влияния полифенола мегосина,  $\gamma$ -циклодекстрина и их комплекса на процесс ПОЛ в мембранах митохондрий печени крыс было обнаружено, что мегосин и водорастворимый комплекс (*мегосин*+ $\gamma$ -циклодекстрин) проявляют высокие антиоксидантные свойства и повышают стабильность мембраны, в этих условиях  $\gamma$ -циклодекстрин оказался неактивным. Показано, что мегосин и комплекс ингибируют открытие *mPTP* и активируют мито $K_{ATP}$ -канал, при этом мембранная активность комплекса была выше, чем у мегосина.

4. В экспериментах *in vitro* полифенолы рутан, гетасан, эуфорбин в диапазоне концентраций 1 - 25 мкМ проявляли антиоксидантные и антирадикальные свойства, что приводит к повышению стабильности и целостности мембраны. Определена корреляция между антиоксидантными/антирадикальными свойствами рутана, гетасана и эуфорбина. Коэффициент их корреляции составил  $r = 0,95$  при действии рутана,  $r = 0,79$  при действии гетасана и  $r = 0,82$  при действии эуфорбина.

5. Показано, что рутан и гетасан достоверно ингибируют проницаемость *mPTP* печени крыс с  $IC_{50}$  равной 7,26 мкМ и 8,12 мкМ соответственно, ингибирующая активность эуфорбина была намного слабее. *mPTP* митохондрий сердца крыс также была чувствительна к действию рутана, гетасана и эуфорбина, однако их  $IC_{50}$  была, примерно, в два раза выше и составила 18,4 мкМ, 17,2 мкМ и 42,1 мкМ. Так как во многих патологиях *mPTP* печени и сердца переходит в открытое состояние, вышеуказанные результаты могут быть использованы при разработке новых лекарственных средств для профилактики и лечения некоторых заболеваний, связанных с нарушениям функций *mPTP*.

6. Полифенолы рутан, гетасан, эуфорбин при концентрациях 5 - 50 мкМ достоверно увеличивали активность мито $K_{ATP}$ -канала печени и сердца крыс, который представляет собой «мишень» структуру для действия фармакологических агентов. Так как исследуемые полифенольные соединения активируют мито $K_{ATP}$ -канал, то это открывает перспективы использования их при создании антигипоксических, гепато- и кардиопротекторных средств.

7. На моделях нормобарической гипоксии показано, что рутан, гетасан и эуфорбин в дозе 50 мг/кг массы тела у экспериментальных лабораторных мышей проявляют антигипоксическую активность. В этих условиях продолжительность жизни мышей, по сравнению с контрольной группой, увеличивается на 13,6 - 16,2 минут, а их антигипоксическая эффективность - от 62% до 65%. В модели нормобарической гипоксии антигипоксическая активность полифенолов рутана была выше, чем у гетасана и эуфорбина.

8. Обнаружено, что при средней форме гемической гипоксии рутан, гетасан и эуфорбин увеличивают продолжительность жизни животных экспериментальной группы на 18,8 - 21,5 минут, по сравнению с контрольной

группой, при этом антигипоксическая эффективность - от 73,4% до 79,6%. При тяжелой форме гемической гипоксии рутан, гетасан и эуфорбин увеличивают продолжительность жизни животных опытной группы, по сравнению с контрольной группой на 5,4 - 6,4 минут, антигипоксическую эффективность от 46,3% до 49,0%. Таким образом, полученные данные показывают, что исследуемые соединения обладают мощными антигипоксическими свойствами.

9. Антигипоксическая активность соединений рутана, гетасана и эуфорбина на экспериментальных моделях гипоксии оказалась более эффективной, чем у кверцетина и «Мексидол», который используется в медицинской практике. В перспективе эти полифенольные соединения могут быть использованы при разработке лекарственных средств, используемых для профилактики и лечения респираторной дисфункции, сердечной недостаточности, нарушений кровообращения и других патологических состояний.

**SCIENTIFIC COUNCIL FOR AWARDING SCIENTIFIC DEGREES  
DSc.03/30.12.2019.B.01.13 AT THE INSTITUTE OF BIOPHYSICS AND  
BIOCHEMISTRY OF THE NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN**

---

**INSTITUTE OF BIOPHYSICS AND BIOCHEMISTRY**

**ABDULLAEVA GULBOKHOR TOLIBJONOVNA**

**THE EFFECT OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS ON THE  
FUNCTIONAL PARAMETERS OF MITOCHONDRIA AND THEIR  
ANTIOXIDANT ACTIVITY**

**03.00.02- Biophysics and radiobiology  
03.00.08 – Human and animal physiology**

**ABSTRACT OF DISSERTATION OF DOCTOR OF SCIENCE (DSc) IN  
BIOLOGICAL SCIENCE**

**Tashkent-2021**

The dissertation of DSc has been registered with number B2021.1.DSc/B93 at the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan.

The dissertation carried out at the at the Institute of Biophysics and biochemistry at the National University of Uzbekistan named after Mirzo Ulugbek.

The abstract of the dissertation in three (Uzbek, Russian, and English (Resume) languages on the website of the Scientific Council (www.ibb-nuu.uz) and on the website of «ZiyoNet» information and educational portal (www.ziynet.uz).

**Scientific consultant:**

**Asrarov Muzaffar Islamovich**  
doctor of biological sciences, professor

**Official opponents:**

**Kurbannazarova Ranokhon Sharapovna**  
doctor of biological sciences, professor

**Zaynobiddinov Anvar Erkinjonovich**  
doctor of biological sciences, professor

**Axmerov Rashid Nasipovich**  
doctor of biological sciences, professor

**Leading organization:**

**Karshi State University**

Defence will take place on 28 iyul 2021 at 14<sup>00</sup> the meeting of the Scientific council DSc.03/30.12.2019.B.01.13 on award of scientific degrees at the Institute of biophysics and biochemistry, at the National University of Uzbekistan (address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Student's town, University st., 174. Phone: (99871) 262-68-96).

Dissertation is registered at the Information Resource Centre at the Institute of biophysics and biochemistry, National University of Uzbekistan (registration number № 28). (address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Student's town, University st., 174. Phone: (99871) 262-68-96). e-mail: [ibb-nuu@mail.ru](mailto:ibb-nuu@mail.ru).

Abstract of dissertation is distributed on « 13 » iyul 2021  
(Protocol at the register № 1 dated « 13 » iyul 2021)



**Sabirov Ravshan Zairovich**  
Chairman of the scientific council awarding  
Scientific degrees, D.B.Sc., academician

**Pozilov Mamurjon Komiljonovich**  
Scientific secretary the scientific council awarding  
Scientific degrees, D.B.Sc.

**Ahmedjanov Iskandar Gulyamovich**  
Chairman of the academic seminar under the  
Scientific council awarding scientific degrees, D.B.Sc., professor

## INTRODUCTION (abstract of DSc dissertation)

**The aim of the research work** is to study the mechanisms of action of polyphenol compounds on the functional parameters of rat liver mitochondria and identify new antihypoxic agents based on them.

**The objects of the research work** are mature laboratory rats and white mice, rat liver and heart mitochondria, mitoK<sub>ATP</sub>-channel, mitochondrial cyclosporine-sensitive pore - *mPTP*, LPO process in mitochondria, local flora (*Rhus coriaria*, *Euphorbia ferganensis polifenensis* to *B.Fedtichgan B.Fedtch*, *Geranium*) and normobaric and gemic hypoxia models.

**The scientific novelty of the research work** is as follows:

membrane-active properties of polyphenolic compounds isolated from native plants (*Rhus coriaria*), (*Euphorbia ferganensis B.Fedtch*), (*Geranium sanguineum*) were determined in the mitochondrial model;

polyphenol compounds have been shown to effectively inhibit the opening of *mPTP* and increase the activity of mitoK<sub>ATP</sub>-channel;

antioxidant and antiradical activities of rutan, getasan and euphorbin polyphenols were determined;

the link between antioxidants and antiradicals has been proven;

anti-hypoxic properties of rutan, getasan and euphorbin polyphenols were determined in different models of hypoxia;

**Implementation of research results.** Based on the results of scientific studies on the effect of polyphenol compounds on mitochondrial functional parameters and their antihypoxic activity:

received a patent for the invention of the Intellectual Property Agency of the Republic of Uzbekistan for an anti-diabetic drug based on the composition of plant polyphenols (№IAR 06027. 2019). As a result, the antioxidant properties of plantagin allowed the creation of a hypoglycemic drug;

the results of studies on the effect of polyphenol compounds on mitochondrial functional structures were used in foreign journals with high impact factor to determine the biological activity of polyphenols and analyze their pharmacological effects (*Journal of Nova Biotechnol Chim* 2018, V.17 (1), Scopus CiteScore, IF - 1.1; *Journal of Microbiology , Biotechnology and Food Sciences* 2019, V.8, Scopus CiteScore, IF - 0.5; *Journal of Chinese Journal of Applied Ecology* 2018, V.29 (1), Scopus CiteScore, IF - 1.3. which allowed to determine the pharmacological properties;

antihypoxic and antioxidant activities of rutan polyphenols were used in the practical project FA-A11-T-061 "Development of antiviral drugs based on local plant raw polyphenols" to determine the medicinal properties of new types of substances (Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan December 12, 2018 4/1255- Reference №.3244). The result was the creation of a new type of effective antiviral drug;

determined membrane activity of getasan polyphenols was used in the practical project FA-A11-T-061 "Development of antiviral drugs based on polyphenols of local plant raw materials" in the development of drugs with HIV

(human immunodeficiency virus) activity (Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan 2018 Reference №.4/1255-3244 of 12 December). As a result, Punitan has developed a new antiviral drug based on getasan polyphenols.

**The structure and volume of the thesis.** The content of the dissertation consists of an introduction, five chapters, conclusions, a list of references. The volume of the dissertation is 174 pages.

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

**I бўлим (I част; I part)**

1. Абдуллаева Г.Т., Комилов Э.Ж., Набиев А.Н., Урманова Г.У., Асраров М.И. Влияние растительных препаратов на состояние митохондриальной поры // *Узбекский биологический журнал*. – 2013. – № 3. – С. 3-5. (03.00.00; №5).

2. Ishimov U.J., Abdullayeva G.T., Ziyavitdinov J.F., Asrorov A.M., Ergashev N.A., Asrarov M.I. The effects of isoleted fractions of red pepper *Capsicum annuum L.* on the mitochondrial permeability transition pore and lipid pereoxidation // *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. – 2015.–P. 259-262. (Scopus CiteScore - 0.25).

3. Абдуллаева Г.Т., Абдулладжанова Н.Г., Комилов Э.Ж., Позилов М.К., Асраров М.И. Гетасан полифенолининг антиоксидант фаоллигини митохондрия моделида ўрганиш// *Инфекция иммунитет и фармакология*. – 2016. – № 1. –Б. 16-20. (03.00.00; №7).

4. Абдуллаева Г.Т., Гайибов У.Г, Комилов Э.Ж., Миробидов С.А., Абдулладжанова Н.Г., Асраров М.И. Гетасан полифенолининг антиоксидантлик ва антирадикаллик хоссалари // *ЎзМУ хабарлари*. –2017. – № 3/2. – Б. 6-9. (03.00.00; №9).

5. Абдуллаева Г.Т., Есимбетов А.Т., Эргашев Н.А., Позилов М.К., Комилов Э.Ж., Рискулов Д.Р., Асраров М.И. Ўсимлик фаол бирикмларининг турли патологиялардаги мембранавий бузилишларга коррекцияловчи таъсири // *Бердақ номидаги Коракалпоқ давлат университетининг ахборотномаси*. – 2018. – № 2. – Б. 18-21. (03.00.00; №11).

6. Абдуллаева Г.Т., Комилов Э.Ж., Абдулладжанова Н.Г., Асраров М.И. Взаимосвязь между химической структурой и антиоксидантным действием фенольных соединений на модель митохондрий // *Узбекский биологический журнал*. – 2019. №1. –С.6-11. (03.00.00; №5).

7. Абдуллаева М.М., Абдуллаева Г.Т., Косимова З.Т., Аннакулова Г.А., Сатимбоева А.А., Асраров М.И. Гетасан полифенолининг антигипоксик фаоллиги // *ЎзМУ хабарлари*. – 2018. – № 3/1. – Б. 14-17. (03.00.00; №9).

8. Абдуллаева Г.Т., Гайибов У.Г., Абдуллаева М.М., Абдуллажанова Н.Г., Асраров М.И., Назаров К.К. Антирадикальная активность некоторых полифенольных соединений // *Universum: химия и биология*. –2019. – № 8/62. – С. 10-14. (02.00.00; №1).

9. Зиявитдинов Ж.Ф., Ишимов У.Ж., Абдуллаева Г.Т., Асраров М.И., Ощепкова Ю.И., Салихов Ш.И. Комплексообразование и биологическая активность мегосина с  $\gamma$ -циклодестрином // *ДАН РУз*. – 2019. –№2. –С.60-64. (03.00.07; №6).

10. Абдуллаева Г.Т., Асраров М.И., Файзиева З.Ш., Исамухамедова Д.Р., Шодмонова М.К. Изучение антиоксидантных свойств некоторых

полифенолов на процесс ПОЛ в мембранах митохондрий // *Universum: химия и биология*. – 2019. – № 12/66. – С. 6-9. (02.00.00; №1).

11. Асраров М.И., Мавлянов С.М., Шкинев А.В., Позилов М.К., Махмудов Р.Р., Абдулладжанова Н.Г., Эргашев Н.А., Абдуллаева Г.Т., Салихов Ш.И. Антидиабетическое средство // Патент UZ. – № 06027. –2019.

12. Abdullaeva G.T., Usmanova F., Asrarov M.I. Study of antioxidant and antiradical activities of euforbin (*Euphorbia ferganensis b.fedtch*) polyphenol // *Academicia an international multidisciplinary research journal*. – 2020, –V. 10. –P. 1714-1721. (IF: SJIF =7.13).

## II бўлим (II част; II part)

13. Абдуллаева Г.Т., Набиев А.Т., Асраров М.И. Влияние алкалоида соласодина на состояние митохондриальной поры печени крыс // «Экспериментальная и теоретическая биофизика». Международная конференция молодых ученых. – Пущино, 2012. – С. 76.

14. Абдуллаева Г.Т., Комилов Э.Ж., Асраров М.И. Влияние некоторых растительных препаратов на состояние митохондриальной поры проницаемости // «Актуальные проблемы развития биоорганической химии» Сборник тезисов международной научной конференции. –Ташкент, 2013. – Б.104.

15. Абдуллаева Г.Т., Ишимов У.Ж., Зиявитдинов Ж.Ф., Эргашев Н.А., Асраров М.И. Действие фракции капсаициноидов стручкового перца на перекисное окисление липидов в митохондриях // 19-Международная конференция молодых ученых «Биология наука XXI века». – Пущино, 2015. – С. 124.

16. Абдуллаева Г.Т., Абдуллажанова Н.Г., Тожикулова О.Ж., Эргашев Н.А., Асраров М.И. Действие полифенола рутан на перекисное окисление липидов а модели набухания митохондрий // «Экспериментальная и теоретическая биофизика-15». Международная конференция молодых ученых. – Пущино, 2015. – С. 69-70.

17. Абдуллаева Г.Т., Абдуллажонова Н.Г., Куканова Н.Ф. Антиоксидантные свойства полифенола гетасана // XIX Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина-человек и его здоровье». – Санкт-Петербург, 2016. – С. 10-11.

18. Абдуллаева Г.Т., Комилов Э.Ж., Тожикулова О.Дж., Абдулладжанова Н.Г. Действие полифенола эуфорбина на перекисное окисление липидов мембран митохондрий печени крыс // «Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2017». Сборник тезисов докладов XXI Международной научно-практической конференция молодых учуных. –Минск, БГМУ, 2017. – С. 1471.

19. Abdullaeva G.T., Abdulhakova G.V., Ahmedova Z.Sh, Abdullajanova N.G., Asrarov M.I. Action of euforbin on the rat liver mitochondria functions // «12-International Symposium on the Chemistry of natural Compounds» . –

Tashkent, 2017. –Р. 402.

20. Абдуллаева Г.Т., Абдулладжанова Н.Г., Тожикулова О.Ж., Комилов Э.Ж. Влияние полифенола гетасан на состояние митохондриальной поры печени крыс // XX Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина-человека и его здоровье». –Санкт-Петербург, 2017. – С. 11-12.

21. Зиявитдинов Ж.Ф., Ишимов У.Ж., Бердиев Н.Ш., Абдуллаева Г.Т., Асраров М.И., Ощепкова Ю.И. Изучение биологической активности клатрата мегосин-γ-циклодекстрин // «Табиий бирикмалар асосида дори воситалар» халқаро илмий анжуманининг тезислар тўплами. – Тошкент, 2018. – Б. 11-12.

22. Тожикулова О.Ж., Абдуллаева Г.Т., Эргашев Н.А. Оғир метал тузлари таъсиридаги митохондрия мембранаси дисфункциясини коррекциялаш // «Табиий бирикмалар асосида дори воситалар» халқаро илмий анжуманининг тезислар тўплами. – Тошкент, 2018. – Б. 132-133.

23. Абдуллаева Г.Т., Лутпиллаева М.Х., Абдуллажанова Н.Г., Комилов Э.Ж., Асраров М.И. Гетасан полифенолини антигипоксик фаоллиги // Табиий бирикмалар асосида дори воситалар». Халқаро илмий анжуманининг тезислар тўплами. – Тошкент, 2018. – Б. 68.

24. Абдуллаева Г.Т., Асраров М.И., Самарходжаева Н.Р., Файзиева З.Ш., Исамухаммедова Д.Р., Маматова З.А., Абдуллажанова Н.Г. Гемик гипоксия моделида эуфорбин полифенолининг антигипоксик фаоллигини тадқиқ қилиш // Сборник научных трудов. Материалы и научно-практической видеоконференции студентов-медиков и молодых ученых с международным участием «Инновации в медицине». –Андижан, 2019. –С. 8-9.

25. Абдуллаева Г.Т., Абдуллажанова Н.Г., Асраров М.И. Изучение антиоксидантных свойств галловой кислоты на  $Fe^{2+}$ / аскорбат-зависимое набухание митохондрий печени крыс. «Достижения и перспективы биофизики и биохимии». I-Научно-практическая конференция молодых учёных. –Ташкент, 2019. –С.13-14.

26. Абдуллаева Г.Т., Асраров М.И., Файзиева З.Ш., Исамухаммедова Д.Р., Маматова З.А., Абдуллажанова Н.Г. Митохондрия АТФ га боғлиқ  $K^+$  канали фаоллигини рутан, гетасан ва эуфорбин полифеноллари таъсирида бошқариш // «Re-health» илмий элетрон журнал. Андижон, –2020. №3-1. –Б. 581-584.

27. Абдуллаева Г.Т. Митохондрия АТФ га боғлиқ  $K^+$  канали фаоллашувини гетасан полифеноли таъсирида бошқариш // «Роль инноваций в повышении качества медицины и образования» материалы республиканской научно-практической онлайн конференции с участием международных партнерских ВУЗов, посвященной «Году развития науки, просвещения и цифровой экономики». – Фергана, 2020. –С. 63-64.

28. Абдуллаева Г.Т., Асраров М.И., Обиджонова М.А. Эуфорбин (*Euphorbia ferganensis b.fedtch*) полифенолининг антигипоксик фаоллиги // «Роль инноваций в повышении качества медицины и образования» материалы республиканской научно-практической онлайн конференции с

участием международных партнерских ВУЗов, посвященной «Году развития науки, просвещения и цифровой экономики». –Фергана, 2020. –С. 64-65.

29. Abdullaeva G.T., Usmanova F.A., Nazarov K.K., Abdullajanova N.G., Asrarov M.I. Study of antioxidant activities of euforbin polyphenol // Proceedings of Online International Conference on Advances in Technology, Social Sciences and Humanities. Multidisciplinary Peer Reviewed Journal.. –Pune, 2020. –P. 31-34.

30. Abdullaeva G.T., Usmanova F.A., Eshmuradova N.Sh., Ishimov U.J., Asrarov M.I. Effects of capsaicinoids in different concentrations on rat liver mitochondrial swelling // Proceedings of Online International Conference on Advances in Technology, Social Sciences and Humanities. Multidisciplinary Peer Reviewed Journal. –Pune, 2020. –P. 44-46.

31. Абдуллаева Г.Т., Ахмедова С.Э., Усманова Ф., Асраров М.И. мРТР дисфункциясини рутан полифеноли таъсирида коррекциялаш // «Физиология ва валеология асослари фанларининг долзарб муаммолари». Республика онлайн илмий конференцияси материаллари тўплами. –Наманган, 2020. –Б. 93.

32. Абдуллаева Г.Т., Жабборова М.М., Обиджонова М.А., Ахмедова М.О. Кверцетин полифенолининг антигипоксик фаоллигини тадқиқ қилиш // «Наука и инновации» халқаро конференция материаллари тўплами. – Тошкент, 2020. –Б. 25-27.

33. Абдуллаева Г.Т., Шкинев А.В., Асраров М.И. Характеристика антигипоксантных свойств полифенола рутана на модели гемической гипоксии // «Ўзбекистонда табиий бирикмалар кимёсининг ривож ва келажаги» илмий-амалий анжумани. – Тошкент, 2021. –Б. 240.

34. Асраров М.И., Абдуллаева Г.Т., Шкинев А.В., Куканова Н.Ф. Гемик гипоксия моделида рутан полифенолининг антигипоксик фаоллиги // «Биофизика ва биокимё муаммолари – 2021» илмий конференция материаллари. –Тошкент, 2021. –Б. 28-29.

