

**O‘ZBEKISTON MILLIY UNIVERSITETI BIOFIZIKA VA BIOKIMYO
INSTITUTI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
DSc.03/30.12.2019.B.01.13 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

BIOFIZIKA VA BIOKIMYO INSTITUTI

RUSTAMOV SHAVKAT YUSUBOVICH

**DIGIDROKVERSETIN VA F-18 ALKALOIDI KONYUGATINING
KARDIOPROTEKTIV XUSUSIYATINI BAHOLASH**

03.00.02 – Biofizika va radiobiologiya

**Biologiya fanlari bo‘yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi
AVTOREFERATI**

Toshkent – 2024

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi avtoreferati mundarijasi

Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)

Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Rustamov Shavkat Yusubovich

Digidrokversetin va F-18 alkaloidi konyugatining kardioprotektiv xususiyatini baholash..... 5

Рустамов Шавкат Юсубович

Оценка кардиопротекторного действие комплекса дигидрокверцетина и алкалоида F-18..... 22

Rustamov Shavkat Yusubovich

Evaluation of the cardioprotective effect of the complex of dihydroquercetin and alkaloid F-18..... 42

E'lon qilingan ishlar ro'yxati

Список опубликованных работ

List of published works..... 45

**O‘ZBEKISTON MILLIY UNIVERSITETI BIOFIZIKA VA BIOKIMYO
INSTITUTI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
DSc.03/30.12.2019.B.01.13 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

BIOFIZIKA VA BIOKIMYO INSTITUTI

RUSTAMOV SHAVKAT YUSUBOVICH

**DIGIDROKVERSETIN VA F-18 ALKALOIDI KONYUGATINING
KARDIOPROTEKTIV XUSUSIYATINI BAHOLASH**

03.00.02 – Biofizika va radiobiologiya

**Biologiya fanlari bo‘yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi
AVTOREFERATI**

Toshkent – 2024

Biologiya fanlari bo'yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi mavzusi O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiyalar vazirligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B2021.4.PhD/B296 raqam bilan ro'yxatga olingan.

Dissertatsiya ishi O'zbekiston Milliy universiteti huzuridagi Biofizika va biokimyo institutida bajarilgan.

Dissertatsiya avtoreferati uch tilda (o'zbek, rus, ingliz (rezyume)) Ilmiy kengash veb-sahifasida (www.ibb-nuu.uz) va "ZiyoNet" Axborot – ta'lim portalida (www.ziynet.uz) joylashtirilgan.

Ilmiy rahbar:

Usmanov Pulat Bekmuratovich
biologiya fanlari doktori, professor

Rasmiy opponentlar:

Nasirov Kobil Erkinovich
biologiya fanlari doktori, professor

Xadjimetov Abdugafur Axatovich
biologiya fanlari doktori, professor

Yetakchi tashkilot:

Toshkent pediatriya tibbiyot instituti

Dissertatsiya himoyasi O'zbekiston Milliy universiteti Biofizika va biokimyo instituti huzuridagi Ilmiy darajalar beruvchi DSc.03/30.12.2019.B.01.13 raqamli ilmiy kengashning 2024 yil "____" soat ____dagi majlisida bo'lib o'tadi (Manzil: 100174, Toshkent shahri, Olmazor tumani, Talabalar shaharchasi, Universitet ko'chasi, 174-uy. Tel: (99871) 246-68-96).

Dissertatsiya bilan O'zbekiston Milliy universiteti Biofizika va biokimyo instituti Axborot–resurs markazida tanishish mumkin (№ ____ raqami bilan ro'yxatga olingan). Manzil: 100174, Toshkent shahri, Olmazor tumani, Talabalar shaharchasi, Universitet ko'chasi, 174-uy. Tel.: (99871) 246-68-96, e-mail: ibb-nuu@mail.ru; mamurjon2281@mail.ru.

Dissertatsiya avtoreferati 2024 yil "____" _____ kuni tarqatildi
(2024 yil "____" _____dagi № ____ raqamli reyestr bayonnomasi).



Saatov

Saatov Tal'at Saatovich

Ilmiy daraja beruvchi ilmiy kengash raisi o'rinbosari,
b.f.d., akademik

Pozilov

Pozilov Ma'murjon Komiljonovich

Ilmiy daraja beruvchi ilmiy kengash
ilmiy kotibi, b.f.d.

Axmedjanov

Axmedjanov Iskandar Gulyamovich

Ilmiy daraja beruvchi ilmiy kengash
qoshidagi ilmiy seminar raisi, b.f.d., professor

KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasining annotatsiyasi)

Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zarurati. Bugungi kunda kardioproteksiya yurak-qon tomir kasalliklarini (YuQTK) oldini olish va davolashning eng dolzarb va ustuvor yo‘nalishlaridan biri bo‘lib, ularning terapiyadagi sezilarli yutuqlariga qaramay, rivojlangan mamlakatlar aholisi salomatligiga salbiy ta‘sir ko‘rsatmoqda. Jaxon sog‘liqni saqlash tashkiloti (JSST) ekspertlarining fikriga ko‘ra, ushbu holatning sababi YuQTK larida qo‘llaniladigan dori terapiyasining samaradorligi pastligi, ishlatilayotgan dorilarning imkoniyatlari cheklanganligi, aksariyatining nojo‘ya ta‘siri borligi sababli zarur talablarga javob bermaydi. Shunga ko‘ra, ushbu kasalliklarning oldini olish va davolashning zamonaviy konsepsiyasida yuqori samarali kardioprotektorlardan foydalanishga asoslangan kardiomiotsitlar shikastlanishining rivojlanishini oldini olish bo‘yicha kombinatsiyalangan kardioprotektor agentlar ta‘sirining yangi chora-tadbirlarini ishlab chiqish muhim ahamiyat kasb etadi.

Jahonda yurakning ishemik kasalliklarini davolash va oldini olish maqsadida butun dunyo yetakchi ilmiy tadqiqot markazlarida farmakologik preparatlar ishlab chiqarish yo‘nalishida bir qancha biologik faol birikmalar jumladan, alkaloidlar va flavonoidlar istiqbolli manbalar ekanligi ta‘kidlangan. Shu munosabat bilan, samarali kardioprotektiv ta‘sirga ega bo‘lgan yangi avlod dori vositalarini yaratish bo‘yicha butun dunyo farmakolog va kardiologlarining mazkur yo‘nalishdagi ilmiy tadqiqotlarini davom ettirishi yurakning ishemik kasalliklarini davolash va oldini olishni takomillashtirishga katta e‘tibor qaratilmoqda.

Respublikamizda yurak kasalliklarini davolash va oldini olish borasida islohotlar amalga oshirilayotgan bo‘lib, buning natijasida alkaloidlar va flavonoidlar hamda ularni gibridlarining kimyosi va farmakologiyasi yo‘nalishida keng ko‘lamda ilmiy va amaliy tadqiqotlarga katta e‘tibor qaratildi. Bu borada, jumladan, farmakologiya sohasida ilmiy-innovatsion ishlanmalarni amaliyotga samarali tadbiriq etish bo‘yicha chora tadbirlar ishlab chiqildi. O‘zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo‘yicha Harakatlar strategiyasining 4-yo‘nalishida «farmasevtika sanoatini yanada rivojlantirish, aholi va tibbiyot muassasalarini arzon, sifatli dori vositalari bilan ta‘minlanishini yaxshilash» yuzasidan muhim vazifalar belgilab berilgan. Ushbu vazifalardan kelib chiqqan holda hozirgi vaqtda ushbu yo‘nalishda amalga oshirilgan dasturiy chora-tadbirlar asosida muayyan natijalarga, jumladan, biologik faol moddalar asosida samarali farmakologik preparatlarni ishlab chiqish muhim ilmiy-amaliy ahamiyat kasb etadi.

O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi PF-4947-son «O‘zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo‘yicha Harakatlar strategiyasi to‘g‘risida» gi Farmoni¹, 2018 yil 14 fevraldagi PQ-3532-son «Farmasevtika tarmog‘ini jadal rivojlantirish bo‘yicha qo‘shimcha chora-tadbirlar to‘g‘risida» gi Qarori va 2019 yil 6 maydagi PQ-4310-son «Tibbiyot va farmasevtika ta‘limi va

¹ O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 07.02.2017-yildagi PF-4947-sonli «O‘zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo‘yicha Harakatlar strategiyasi to‘g‘risida»gi Farmoni.

ilm-fani tizimini yanada rivojlantirish chora-tadbirlari to'g'risida» gi Qarori va 2022 yil 26 yanvardagi PQ-103-sonli «Yurak-qon tomir kasalliklarining oldini olish va davolash sifatini oshirish chora-tadbirlari to'g'risida»gi qarori 2-ilovasi 14-bandi ijrosini ta'minlash yuzasidan hamda mazkur faoliyatga tegishli boshqa me'yoriy-huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni amalga oshirishga ushbu dissertatsiya tadqiqoti muayyan darajada xizmat qiladi.

Tadqiqotning respublika fan va texnologiyalarini rivojlanishining asosiy ustuvor yo'nalishlariga mosligi. Mazkur tadqiqot respublika fan va texnologiyalarini rivojlantirishning VI. «Tibbiyot va farmakologiya» ustuvor yo'nalishiga muvofiq bajarilgan.

Muammoning o'rganilganlik darajasi. Ushbu yo'nalishda dunyoning ko'plab tadqiqot markazlarida ilmiy izlanishlar olib borilmoqda. L.R. Santos va boshqalar (2023) tomonidan olib borilgan tajribalarda yurak muskul qisqarish faolligida musbat inotropizmning mexanizmlarini tavsiflagan va bu esa asosan β -adrenoretseptor (β -AR) signal yo'lining faollashishi orqali protein kinaza A ga (PKA) bog'liq L-tip Ca^{2+} kanallari (LTCC) va rianodin retseptor (RyR) larning fosforlanishi natijasida musbat inotropizm yuzaga kelishini aniqlagan (Sergip federal universiteti Fiziologiya kafedrasi L.R.Santos et al., 2023). Bundan tashqari, kardiomiotsit sarkoplazmatik retikulum (SR) ishemiyasi/reperfuziyasi (I/R) sabab bo'lgan apoptozda hal qiluvchi rol o'ynaganligi sababli, izoxinolin alkaloidlar kardioprotektor ta'siri I/R vaqtida SR modulyatsiya qilish natijasida yuzaga kelishi Yongjun Wang va boshqa bir guruh Xitoy olimlari tomonidan isbotlangan (Yongjun Wang et al., 2015).

Ushbu yo'nalishda Rossiya Fanlar Akademiyasi Kardiologiya ilmiy tadqiqot institutining Tomsk milliy ilmiy tibbiyot markazida yurakning turli kasalliklarida jumladan, infarkdan keyingi kardiosklerozda miokardning inotropik faolligi o'zgarishining tafsilotlari tadqiqotlarda yoritib berilgan (Dina S Kondrat'eva et al., 2023). Shuningdek, turli xil gipoksiya sharoitida biologik faol moddalarning kardioproteksiya qilish mexanizmlarini tadqiq qilishga alohida e'tibor berilgan (Sataeva, 2020).

Respublikamizda ushbu sohada O'zMU huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti Hujayra biofizikasi laboratoriyasi uzoq vaqtdan buyon miokard qisqarish faolligiga biologik faol moddalarning ta'sir mexanizmlarini aniqlash bo'yicha bir qancha tadqiqotlar olib borilgan. Shu bilan birga, ayrim izoxinolin alkaloidlarning inotrop va antiaritmik ta'sir mexanizmlari aniqlangan va tavsiflangan (I.Z.Jumaev, 2012-2021). Biroq, izoxinolin alkaloidlari va digidrokversetin flavonoidi konyugatlarining inotrop va kardioprotektiv ta'sir mexanizmlari o'rganilmagan. Shu nuqtai nazardan, ushbu konyugatlarining musbat inotrop ta'sirining o'ziga xos xususiyatlarini yanada tavsiflash ular orasida yangi kardioprotektiv vositalarni yaratish uchun istiqbolli bo'lganlarini aniqlash imkonini beradi. Albatta, musbat inotrop ta'sirga ega izoxinolin alkaloidlari va DGK asosida yangi kardioprotektiv vositalarni yaratish kardioproteksiyaga yangi adekvat yondashuvlarni ishlab chiqish imkonini beradi, bu esa o'z navbatida katta ilmiy va amaliy ahamiyatga ega bo'ladi.

Dissertatsiya tadqiqotining dissertatsiya bajarilgan ilmiy-tadqiqot muassasasining ilmiy-tadqiqot ishlari rejalari bilan bog'liqligi. Dissertatsiya tadqiqoti O'zbekiston Milliy universiteti huzuridagi Biofizika va biokimyo institutining ilmiy-tadqiqot ishlari rejasining FA-F-6-004: «Yurak-qon tomir kasalliklarini davolashning adekvat yo'llarini ishlab chiqish uchun yurak va silliq muskul hujayralari istiqbolli nishonlarini modulyatsiya mexanizmlarining kompleks tavsifi» (2017-2020) va F-OT-2021-154: «Yurak va silliq muskul hujayralari Ca^{2+} -gomeostazini o'simlik biologik faol birikmalari bilan modulyatsiya qilish mexanizmlari» (2021-2025) mavzusidagi ilmiy loyihalar doirasida bajarilgan.

Tadqiqotning maqsadi digidrokversetin flavonoidi va F-18 izoxinolin alkaloidi hamda ular asosida olingan DKV-11 konyugatining kardioprotektiv xususiyatini baholashdan iborat.

Tadqiqot ishining vazifalari:

kalamush yuragi papillyar muskul qisqarish faolligiga F-18 izoxinolin alkaloidi, digidrokversetin flavonoidi va ular asosida olingan DKV-11 konyugatining dozaga bog'liq ta'sirini baholash;

F-18 alkaloidi, digidrokversetin flavonoidi va DKV-11 konyugatining musbat inotrop ta'sirida Na^{+} -, Ca^{2+}_L -kanallari, K^{+}_{ATF} -kanallari, Na^{+}/Ca^{2+} -almashuvchi, Na^{+}/K^{+} -ATFaza ishtirokini tahlil qilish;

F-18 alkaloidi, digidrokversetin flavonoidi va DKV-11 konyugatining β -adrenoretseptorlar va SR Ca^{2+} -transport tizimlari (RyR2, SR Ca^{2+} - ATFaza (SERCA2a)) faolligiga ta'sirini aniqlash;

F-18 alkaloidi, digidrokversetin flavonoidi va DKV-11 konyugatining gipoksiya va oksidlovchi stress sharoitida kardioprotektor ta'sirini o'rganish;

F-18 alkaloidi, digidrokversetin flavonoidi va DKV-11 konyugatining kardioprotektor xususiyati mexanizmlarini tavsiflash.

Tadqiqotning ob'ekti sifatida kalamush yuragi papillyar muskuli, Na^{+} -, Ca^{2+} -, K^{+}_{ATF} -kanallari, Na^{+}/K^{+} -ATFaza va Na^{+}/Ca^{2+} -almashuvchi, RyR2 va SERCA2a olingan.

Tadqiqotning predmeti F-18 izoxinolin alkaloidi, digidrokversetin flavonoidi hamda ular asosida olingan DKV-11 konyugati hisoblanadi.

Tadqiqotning usullari. Dissertatsiyada kalamush yuragi papillyar muskulining qisqarish faolligini qayd qilish va tahlil qilishning zamonaviy fiziologik va biofizik usullaridan foydalanildi. Papillyar muskul qisqarish faolligi izometrik sharoitda boholandi. Har bir eksperiment kamida 4-5 marta takrorlangan holda amalga oshirildi. Olingan natijalarni statistik tahlili uchun OriginLab. Pro v. 9.0 SR1 (EULA, AQSh) dasturidan foydalanilgan.

Tadqiqotning ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:

F-18 alkaloidi, DGK flavonoidi va ularning konyugati DKV-11 ning musbat inotrop faollikka ega ekanligi aniqlangan;

F-18 alkaloidi, DGK flavonoidi va ularning kon'yugati DKV-11 ning musbat inotrop ta'siri Na^{+}/K^{+} -ATFaza tizimlari funksiyasini modulyatsiyasi hisobiga Na^{+}/Ca^{2+} -almashuvchiga teskari reversion rejimga olib kelishi orqali

hamda β_2 -AR-AS-sAMP-PKA kaskad reaksiyasi orqali Ca^{2+}_L -kanallarini faollashtirishi bilan amalga oshgan.

DGK, F-18, DKV-11 larning musbat inotrop ta'siri SERCA2a ni faollashtirilishi orqali amalga oshishi aniqlangan.

In vitro gipoksiya va oksidlovchi stress sharoitida DKV-11 konyugati DGK va F-18 larga ko'ra yanada aniqroq kardioprotektor ta'sirga ega ekanligi ko'rsatilgan.

Tadqiqotning amaliy natijalari quyidagilardan iborat:

biologik faol moddalarning musbat inotrop va kardioprotektiv ta'sir mexanizmlari o'rganildi, plazmalemma va SR ning Ca^{2+} transport tizimlari modulyatsiyasi asosida yotuvchi kompleks mexanizmlar aniqlandi.

Olingan natijalar alkaloidlar va flavonoidlarning inotrop va kardioprotektiv ta'sirining mumkin bo'lgan mexanizmlari haqidagi mavjud nazariy bilimlar doirasini kengaytiradi. Kardiomiositlardagi Ca^{2+}_L kanali, Na^+/Ca^{2+} almashuvchisi, SR Ca^{2+} transport tizimlari faolligini korreksiya qilish hisobiga $[Ca^{2+}]_i$ dinamikasining modulyatsiyasiga asoslangan DKV-11 konyugatining inotrop va kardioprotektiv ta'siri haqida olingan ma'lumotlar kardioprotektiv vositalarning yangi avlodini ishlab chiqish uchun nazariy asos sifatida foydalanish mumkin. Ushbu ishni bajarish davomida olingan ma'lumotlar yurak-qon tomir kasalliklarini oldini olish va davolash uchun yangi samarali preparatlarning dizaynida ratsional yondashuvlarni ishlab chiqish imkonini beradi.

Tadqiqot natijalarining ishonchliligi zamonaviy biofizik va fiziologik tadqiqot usullari va asboblaridan foydalanish, shuningdek, maxsus dasturlar yordamida olingan natijalarni matematik va statistik qayta ishlash bilan belgilanadi.

Olingan ma'lumotlar OriginPro v. 9.0 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060-4401, AQSh) dasturida statistik tahlil yordamida qayta ishlandi, bu erda o'rtacha ishonchlilik qiymati intervali t-Student me'zonlari yordamida hisoblangan. Natijalarning ishonchliligi ularning ilmiy nashrlarda nashr etilishi bilan tasdiqlanadi.

Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati. Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati F-18 izoxinolin alkaloidi, digidrokversetin flavonoidi va ularning konyugati DKV-11 ning norma, gipoksiya va oksidlanish stress sharoitida inotrop va kardioprotektiv ta'sir mexanizmini aniqlashdan kelib chiqib, biologik faol birikmalarning farmakologik xususiyatlari haqidagi tushunchalarni sezilarli darajada kengaytirishi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati F-18 izoxinolin alkaloidi va digidrokversetin flavonoid asosidagi DKV-11 konyugatining kompleksini hosil qilishi natijasida musbat inotrop va kardioprotektiv ta'sirlarning sezilarli darajada oshishi aniqlandi. Ushbu natijalar muhim amaliy ahamiyatga ega, chunki ular yurak-qon tomir tizimi kasalliklarini davolash va oldini olish uchun yangi avlod dori vositalarini yaratishda ratsional struktura dizayni eng oqilona usullarini belgilaydi.

Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi. Digidrokversetin va F-18 alkaloidi konyugatining kardioprotektiv xususiyatini baholash bo'yicha olingan ilmiy natijalar asosida:

O'zbekiston Respublikasi Intellektual mulk agentligidan yurak ishemik kasalliklarining oldini olish va davolash uchun kardioprotektiv vositaga, ixtiroga patent olindi (IAP № 06753. 2022 y.). Natijada, 2-(3,4-dihidroksifenil)-6-[1-(2'-bromo-4',5'-dimetoksifenil)-6,7-dimetoksi-3,4-dihidroizokinolin-2(1N) -il]metil-3,5,7-trihidroksi-xroman-4-on (DKV-11) gipoksiya va oksidlovchi stress tufayli yurak muskul qisqarish faolligidagi buzilishlarni samarali tuzatish imkonini bergan;

F-18 izoxinolin alkaloidi, digidrokversetin flavonoidi va ularning kompleksi (DKV-11) ta'sir mexanizmi haqidagi ma'lumotlar yuqori impakt faktorli xorijiy ilmiy jurnallarda biologik ta'sirlarni tavsiflash uchun ishlatilgan (Molecules) 2023 Jan; 28(2), Scopus CiteScore-6,7, Eksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya, 2023, 86(4), Scopus CiteScore-0,4 va Chemistry of Natural Compounds, 2023, 59(4), Scopus CiteScore-1,4). Natijada izoxinolin alkaloidlari va flavonoidlarning farmakologik xususiyatlari haqida mavjud ma'lumotlarni sezilarli darajada kengaytirish imkonini bergan.

Tadqiqot natijalarining aprobatsiyasi. Dissertatsiya ishining tadqiqot natijalari 2 ta xalqaro va 9 ta respublika ilmiy-amaliy anjumanlarida muhokamadan o'tkazilgan.

Tadqiqot natijalarining e'lon qilinishi. Dissertatsiya mavzusi bo'yicha jami 17 ta ilmiy ish chop etilgan, shulardan O'zbekiston Respublikasi Oliy attestatsiya komissiyasining PhD dissertatsiyalari asosiy ilmiy natijalarini chop etish tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda 5 ta maqola, jumladan 2 tasi respublika va 3 tasi xorijiy jurnallarda nashr etilgan. 1 ta patent olingan.

Dissertatsiyaning hajmi va tuzilishi. Dissertatsiya kirish, 4 ta bob, yakuniy qism, xulosa, foydalanilgan adabiyotlar ro'yxatidan iborat. Dissertatsiyaning hajmi 102 betni tashkil etgan.

DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

Kirish qismida olib borilgan ilmiy tadqiqotlar dolzarbligi va zaruriyati, tadqiqot maqsadi va vazifalari asoslab berilgan, tadqiqot ob'ekti va predmeti tavsiflangan, tadqiqotning respublika ilm va texnologiyalar rivojlanishining ustuvor yo'nalishlariga mos kelishi ko'rsatilgan, tadqiqot ilmiy yangiligi va amaliy natijalari bayon qilingan, olingan natijalarni ilmiy va amaliy ahamiyati, tadqiqot natijalarini amaliyotga tatbiq etish, chop etilgan ishlar va dissertatsiya tuzilishi bo'yicha ma'lumotlar keltirilgan.

Dissertatsiyaning **“Yurak muskul hujayralarining struktura-funksional faolligining molekulyar mexanizmlari”** deb nomlangan birinchi bobida zamonaviy adabiyot ma'lumotlariga asoslanib, miyokardning tuzilishi va funksiyalari asoslari, kardiomiotsitlarning ion tashish tizimlari (Na^+ , K^+ va Ca^{2+} -ion kanallari, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -almashinuv, Na^+/K^+ -ATFaza), SR ning Ca^{2+} transport tizimlari, hamda adreneroretseptorlari haqida ma'lumotlar berilgan.

Kardiomiotsitlarning qisqarish va bo'shish jarayonida ushbu ion kanallari va retseptorlari faoliyatining roli va molekulyar mexanizmlari ham tavsiflangan. Shuningdek, yurak kasalliklari va ularning turlari, yurak kasalliklarini davolashda ishlatiladigan biologik faol moddalarning (yurak glikozidlari va boshqalar) ta'sir qilish mexanizmlari haqida umumiy ma'lumot berilgan.

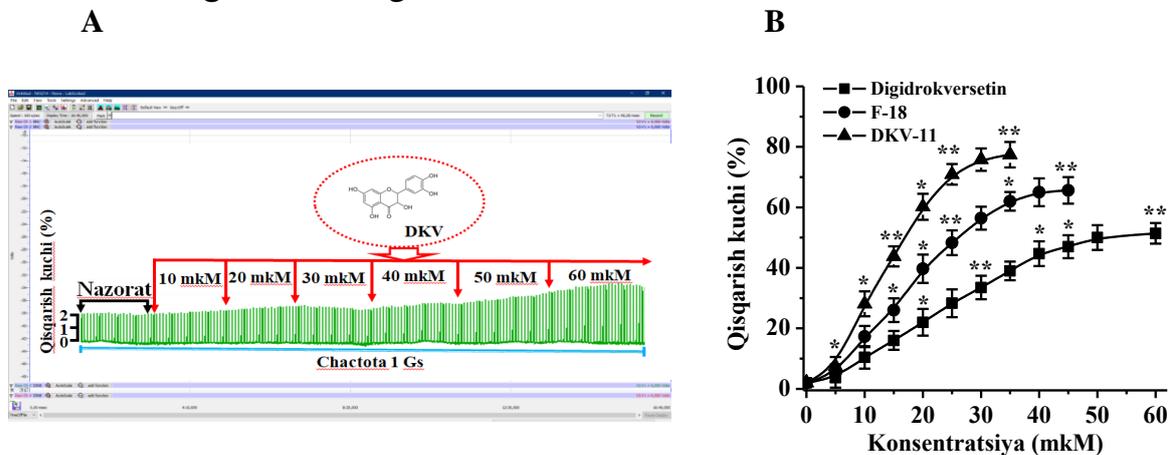
Dissertatsiyaning "**Digidrokversetin, F-18 alkaloidi va ularning konyugati DKV-11 ning inotrop va kardioprotektiv faolligini baholash metodlari**" deb nomlangan ikkinchi bobida ushbu tadqiqotda foydalanilgan asbob-uskunalar va kalamush yuragi papillyar muskul qisqarish faolligini qayd qilish usullari batafsil tavsiflangan. Turli xil eksperimental sharoitlarda papillyar muskul qisqarish faolligiga F-18 izoxinolin alkaloidi, digidrokversetin flavonoidi va DKV-11 konyugatining ta'sirini baholash bo'yicha eksperiment protokollari keltirilgan. Shuningdek ion kanallar, retseptorlar va sarkolemma tashuvchilari (Na^+ , K^+ va Ca^{2+} ion kanallari, $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATFaza}$) va SR Ca^{2+} -transport tizimlari funksional faolligiga F-18 izoxinolin alkaloidi, digidrokversetin flavonoidi va DKV-11 konyugatining ta'sirini baholash metodlari taqdim etilgan.

Dissertatsiyaning "**F-18 izoxinolin alkaloidi, digidrokversetin flavonoidi va ular konyugati DKV-11 ning inotrop ta'siri**" deb nomlangan uchinchi bobida F-18 alkaloidi, DGK flavonoidi va DKV-11 konyugatining kalamush yuragi papillyar muskul qisqarish faolligiga inotrop ta'sirida Na^+ , Ca^{2+}_L , ATF ga bog'liq K^+ -kanallari (K_{ATF}), $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATFaza}$, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -almashuvchi va β -adrenoretseptorlarning o'rnini baholash uchun olib borilgan tadqiqot natijalari keltirilgan.

So'nggi yillarda o'tkazilgan eksperimental tadqiqotlar shuni ko'rsatdiki, bir qator tabiiy va sintetik moddalar ishemiya-reperfuzya sharoitida aniq kardioprotektiv xususiyatlarga ega (Jintao W., 2012 yil). Xususan, o'simliklardan ajratib olingan ba'zi flavonoidlar va alkaloidlar kuchli kardioprotektiv ta'sirga ega bo'lib, bugungi kunda yurak-qon tomir tizimi kasalliklarini davolashda istiqbolli vosita sifatida qaralayotgani isbotlangan (Barnaulov O.D., 2010 yil). Bundan tashqari, ushbu biologik faol moddalar asosida olingan konyugatlarining kardioprotektiv ta'siri katta qiziqish uyg'otadi. Shuni hisobga olib, tajribalarimizda DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va ularning konyugati DKV-11 ning kalamushlar yuragi papillyar muskul qisqarish faolligiga ta'siri o'rganilganda ushbu birikmalar aniq musbat inotrop ta'sirga ega ekanligi aniqlandi. Bunda DGK (5-60 mkM), F-18 (5-45 mkM) va DKV-11 (5-35 mkM) papillyar muskul qisqarish kuchini nazorat bilan solishtirganda nazoratga nisbatan mos ravishda $51,4 \pm 3,4\%$, $65,6 \pm 4,4\%$ va $77,4 \pm 4,2\%$ ga oshirdi. O'rganilayotgan birikmalarning EC_{50} qiymati (mushak qisqarishining yarim maksimal o'sishiga olib keladigan konsentratsiya) mos ravishda 21,2 mkM, 14,6 mkM va 9,7 mkM ni tashkil etdi (1-rasm, A, B).

Na^+ ning hujayra ichidagi konsentratsiyasi ($[\text{Na}^+]_i$) miyokardning elektr va qisqarish faolligini modulyatsiya qilishda muhim ahamiyatga ega. Miyokardning elektr stimulyatsiyasi bilan potensialga bog'liq Na^+ -kanallari ochilib, harakat potensialini (HP) amalga oshirish jarayoni boshlanadi. HP ning plato bosqichida tashqi muhitdan Ca^{2+} ionlari L tipidagi Ca^{2+} kanallari orqali miotsitlarga kiradi.

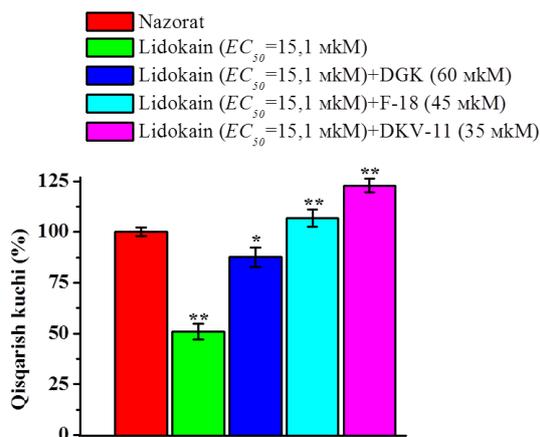
Ca²⁺ ionlarining kirishi sarkoplazmatik retikulumdan (SR) sitozolga Ca²⁺ ionlarining chiqishini stimullaydi, bu esa kardiomiotsitlarning qisqarish jarayonini qo'zg'atadi. Yurak muskullarining qisqarish jarayonida Na⁺ kanallarining roli muhimligini hisobga olib, keyingi tajribalar seriyasida DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va ularning konyugati DKV-11 ning kardiomiotsitlar membranalarining Na⁺ kanallariga ta'siri o'rganildi.



1-rasm. Digidrokversetin flavonoidi, F-18 izoxinolin alkaloidi va ularning konyugati DKV-11 ning dozaga bog'liq inotrop ta'siri. A. (original yozuv). B. Ordinata o'qida – maksimalga nisbatan foiz hisobida ifodalangan qisqarish kuchi, absissa o'qida – BFMlarning konsentratsiyasi (mkM) ko'rsatilgan. Stimulyatsiya chastotasi 1 Gs ((t=+36±0,5oC); n=5).

DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugatining musbat inotrop ta'sirini ta'minlashda Na⁺- kanallarining rolini baholash uchun ushbu kanallarning spesifik blokatori - lidokain ishtirokida kalamush yuragi papillyar muskul qisqarish faolligiga ularning ta'sirini tekshirdik (Jielin Pu et al., 1998 yil).

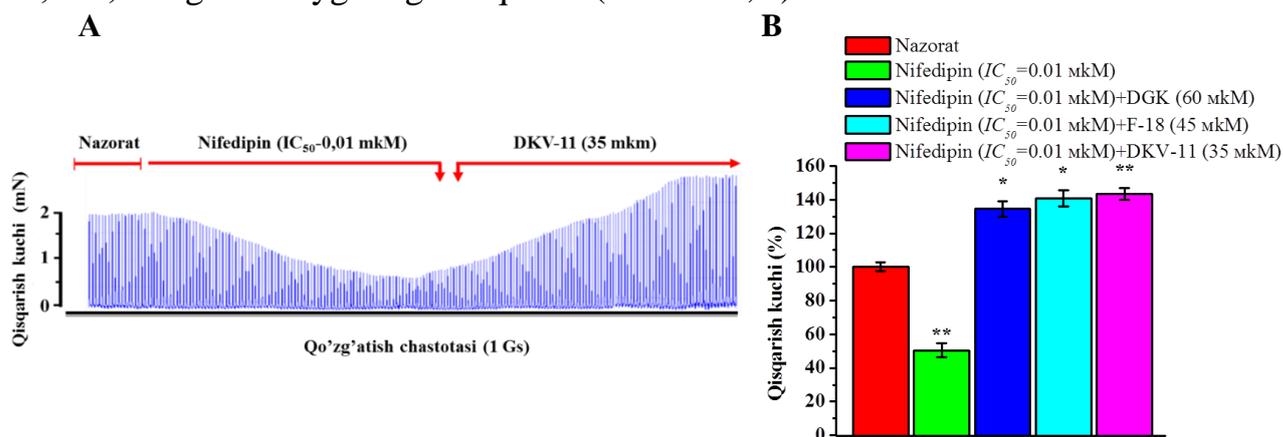
Ushbu tajribalarda 15,1 mkM lidokain (yarim maksimal ingibirlovchi konsentratsiyasi) mavjudligida DGK (5-60 mkM), F-18 (5-45 mkM) va DKV-11 (5-35 mkM) larning musbat inotrop ta'siri mos ravishda 63,8±4,7%, 58,8±4,1% va 54,6±4,6% ga kamaydi (2-rasm).



2-rasm. DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugatining muhitda lidokain mavjud sharoitda kalamush papillyar muskul qisqarish kuchiga ta'siri. Ordinata o'qida – muskul qisqarish kuchi maksimalga nisbatan foiz (%) hisobida ifodalangan. Stimulyatsiya chastotasi 1 Gs (t=+36±0,5oC). Barcha holatlarda * - p<0,05; ** - p<0,01; n=5.

Ushbu tajribalarda olingan natijalar DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugatining musbat inotrop ta'sirini ta'minlashda kardiomiotsitlarning Na⁺ kanallarining ishtiroki mavjud ekanligini ko'rsatadi. Bunda Na⁺ kanallarining faollashuvi kardiomiotsitlarda Na⁺ ionlari miqdorining ko'payishiga olib keladi, bu esa Na⁺/Ca²⁺ almashuvchi funksiyasining teskari reversion o'zgarishi natijasida sitozolga Ca²⁺ ionlari kirib [Ca²⁺]_i va SR dagi Ca²⁺ zahiralari ortishiga sabab bo'ladi.

Ma'lumki, Ca²⁺ kanallari yurakning elektr va qisqarish funksiyalarini ta'minlash va tartibga solishda yetakchi rol o'ynaydi. Ca²⁺_L-kanallari harakat potentsialining davomiyligini tartibga soladi va Ca²⁺ ionlarining kardiomiotsitlarga kirishiga imkon beradi, bu erda ular signal uzatish va yurak qisqarishi bilan bog'liq jarayonlarning boshqarilishida muhim rol o'ynaydi. Buni hisobga olgan holda keyingi tajribalarda Ca²⁺_L-kanallarining spetsifik blokatori nifedipin yordamida DGK, F-18 va DKV-11 ning musbat inotrop ta'sirida Ca²⁺_L kanallarining roli o'rganildi. Dastlabki tajribalarda nifedipinning IC₅₀ qiymati (yarim maksimal ingibirlovchi konsentratsiyasi) aniqlandi va usbu qiymat IC₅₀ = 0,01 mkM ni tashkil etdi. Keyingi tajribalarda nifedipinning ushu konsentratsiyasi mavjud sharoitda DGK (60 mkM), F-18 (45 mkM) va DKV-11 (35 mkM) ning musbat inotrop ta'siri nazoratga nisbatan mos ravishda 61,7±4,5%, 66,9±3,7% va 50,6±3,8% ga kamayganligi aniqlandi (3-rasm A,B).



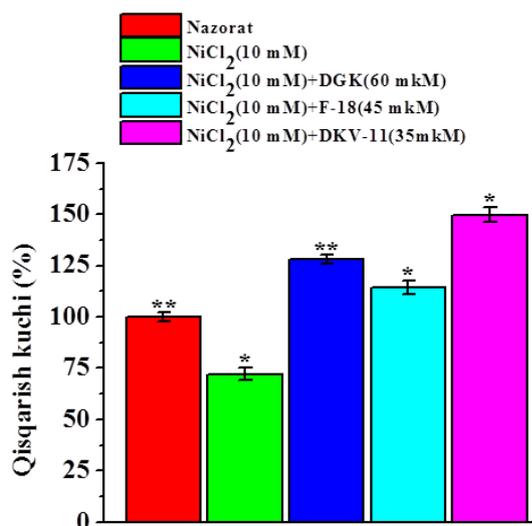
3-rasm. A. DKV-11 konyugatining nifedipin ishtirokida kalamush yuragi papilyar muskul qisqarish kuchiga ta'sirining original yozuvi. B. DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugatining muhitda nifedipin ishtirokida kalamush papilyar muskul qisqarish kuchiga ta'siri. Ordinata o'qida – qisqarish kuchi foiz (%) hisobida ifodalangan. Barcha holatlarda * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.; $n=5$.

Nifedipin ishtirokida o'tkazilgan tajribalar natijalari shuni ko'rsatadiki, DGK, F-18 va DKV-11 konyugatining musbat inotrop ta'siri nazorat bilan solishtirilganda kamayishi kuzatildi, bu esa kardiomiotsitlarning o'rganilayotgan BFM larning musbat inotrop ta'sirida Ca²⁺_L-kanallarining ishtiroki mavjud bo'lishi mumkinligidan dalolat beradi.

Na⁺/Ca²⁺ almashinuv kardiomiotsitlarda Ca²⁺ gomeostazini saqlashda muhim rol o'ynaydi, buning natijasida diastol paytida Ca²⁺ ionlarining ≈30% miotsitlardan chiqariladi. Biroq, Na⁺/K⁺-ATFazani blokirovka qilish sharoitida Na⁺/Ca²⁺ almashinuv teskari rejimda ishlashi va [Ca²⁺]_i ning hujayra ichidagi

konsentratsiyasini oshirishi mumkin, bu esa musbat inotropizm rivojlanishiga olib kelishi mumkin.

Yuqoridagilarni hisobga olib, keyingi tajribalarda $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ almashinuvning nospesifik blokatori NiCl_2 ishtirokida o'rganilayotgan birikmalarning musbat inotrop ta'siri o'rganildi. Bunda 10 mM NiCl_2 mavjud sharoitda DGK (60 mkM), F-18 (45 mkM) va DKV-11 (35 mkM) ning musbat inotrop ta'siri nazoratga nisbatan mos ravishda $23,3 \pm 2,9\%$, $51,2 \pm 4,7\%$ va $27,6 \pm 3,5\%$ ga kamayishi aniqlandi. 10 mM NiCl_2 mavjud sharoitda bundan tashqari, F-18 alkaloidining musbat inotrop ta'siri sezilarli darajada kamayishi kuzatildi (4-rasm).

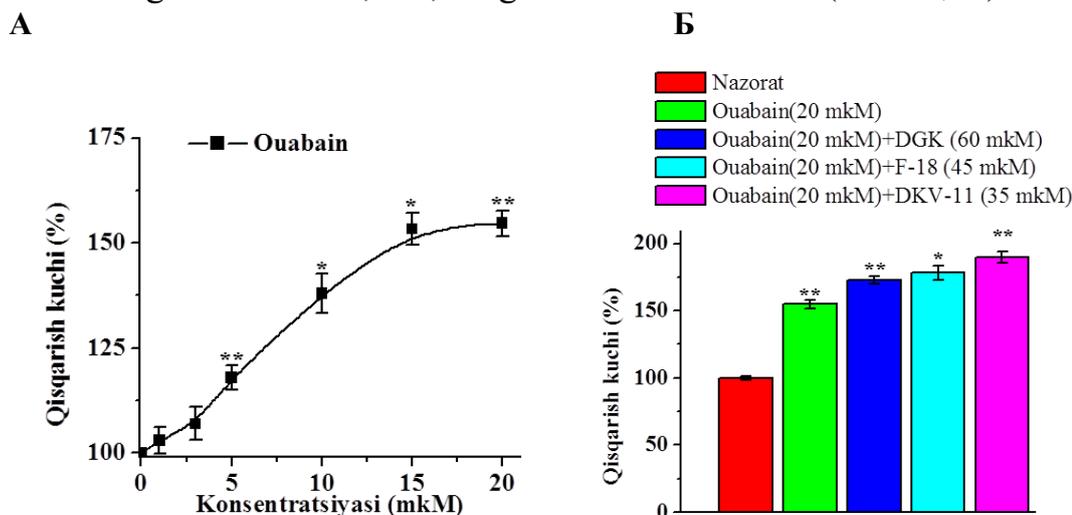


4-rasm. NiCl_2 mavjud sharoitda DGK, F-18 va DKV-11ning papillyar muskul qisqarish kuchiga ta'siri. Ordinata o'qi bo'yicha – muskulning qisqarish kuchi foizda berilgan. Barcha holatlarda (** $p < 0,05$; $n=5$). Preparatni qo'zg'atish chastotasi 1 Gs.

Tadqiqotlar natijalari shuni ko'rsatadiki, musbat inotrop ta'sirni ta'minlashda $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ almashinuvning ishtiroki DGK va DKV-11 ga nisbatan F-18 alkaloidida ko'proq namoyon bo'ldi.

Na^+/K^+ -ATFaza turli yurak patologiyalari bilan chambarchas bog'liq bo'lgan kardiomiotsitlarning funksional faolligini ta'minlashda muhim rol o'ynaydi (Dongdong Chen, 2014 yil). Xususan, yurak yetishmovchiligida Na^+/K^+ -ATFazaning funksional faolligi 40% gacha kamayishi aniqlangan, bu esa kardiomiotsitlar membranasidagi K^+ va Na^+ ionlari gradiyentlarining buzilishiga va yurak muskul qisqarish faolligining pasayishiga olib keladi (Keld Kjeldsen, 2003 yil). Na^+/K^+ -ATFaza funksiyasini korreksiya qilish uchun Na^+/K^+ -ATFaza ingibitorlari bo'lgan ouabain va digoksin kabi yurak glikozidlari keng qo'llaniladi. Ushbu ingibitorlar hujayradan tashqarida ortiqcha K^+ ionlarining va hujayra ichida ortiqcha Na^+ ionlarining to'planishiga olib keladi. Hujayra ichida Na^+ ionlarining to'planishi konsentratsiya gradiyentiga ta'sir qiladi, bu odatda $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ almashinuvning teskari reversion rejimida faollashishi natijasida hujayradan Na^+ ionlarini chiqaradi va Ca^{2+} ionlari esa hujayra ichiga kirishi hisobiga yurakning qisqarish faolligining ortishiga olib keladi (Gordon M., 2001 yil).

Kalamush yuragi papillyar muskullarida o'tkazgan nazorat tajribalarimizda ouabain musbat inotrop ta'sir ko'rsatdi va 20 mkM konsentratsiyada qisqarish kuchini nazoratga nisbatan $54,3\pm 3,2\%$ ga oshirishi kuzatildi (5-rasm, A).



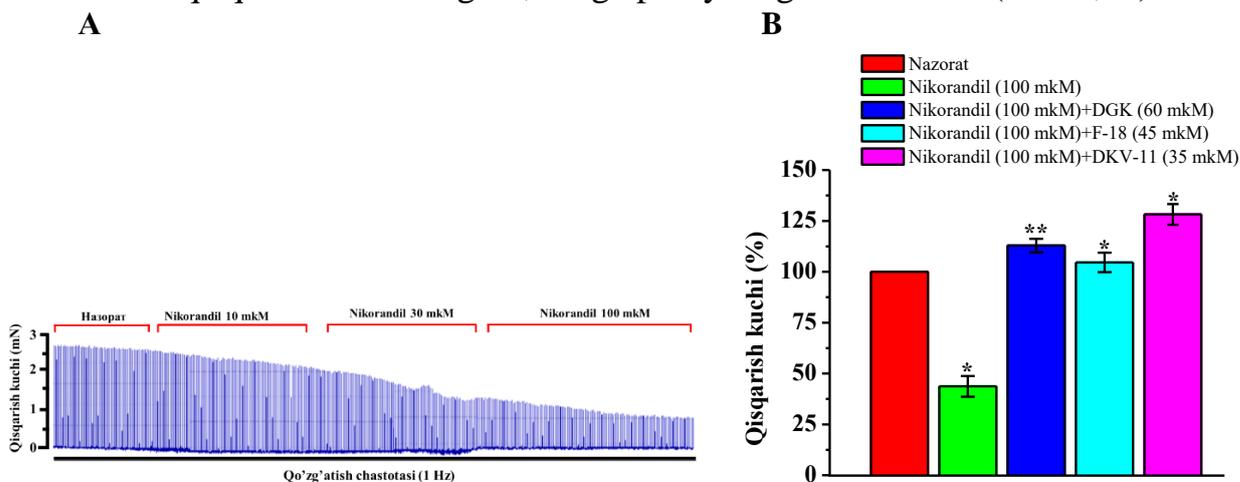
5-rasm. A. Ouabainning kalamush papillyar muskul qisqarish faolligiga dozaga bog'liq ta'siri. Ordinata o'qida – maksimalga nisbatan foiz (%) hisobida ifodalangan muskul qisqarish kuchi, absissa o'qida - ouabainning konsentratsiyasi (mkM) ko'rsatilgan (*- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$). Stimulyatsiya chastotasi 1 Gs ($t = +36 \pm 0,5^\circ\text{C}$); $n = 4$. **B. DGK, F-18 va DKV-11 ning ouabain ishtirokida kalamush papillyar muskul qisqarish kuchiga ta'siri.** Ordinata o'qida – muskulning qisqarish kuchi foizda berilgan. Barcha holatlarda *- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; $n = 5$. Preparatni qo'zg'atish chastotasi 1 Gs.

O'rganilayotgan birikmalarning musbat inotrop ta'sirida Na^+/K^+ -ATFazaning rolini baholash uchun ularning ta'siri ouabain ishtirokida o'rganildi. Ushbu tajribalarda papillyar muskulni ouabain (20 mkM) bilan oldindan inkubatsiya qilinishi muskul qisqarish kuchini $54,7\%$ ga oshirishi kuzatildi (5-rasm, A.). Ouabain (20 mkM) fonida DGK (60 mkM), F-18 (45 mkM) va DKV-11 (35 mkM) qo'shilishi bilan mos ravishda $21,7 \pm 2,7\%$, $27,2 \pm 3,3\%$ va $43,8 \pm 4,6\%$ ga muskul qisqarish kuchini oshirishi qayd qilindi. (5-rasm, B).

Ouabainning Na^+/K^+ -ATFazani ingibirlashi orqali $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ almashinuvni teskari ish rejimiga olib kelishi natijasida Ca^{2+} ionlari kirishining ortishi hisobiga musbat inotrop ta'siri yuzaga kelishini hisobga olib, DGK, F-18 va DKV-11 Na^+/K^+ -ATFazani ingibirlashi orqali musbat inotrop ta'siri ta'minlanishini taxmin qilish mumkin.

Kardiomiotsitlarda Ca^{2+} gomeostazini saqlashda K_{ATF} kanallari muhim rol o'ynaydi, ular membrana potensialini nazorat qilish orqali sarkolemmaning potensialga bog'liq Ca^{2+} kanallari va SR Ca^{2+} transport tizimlari faoliyatining regulatsiyasida ishtirok etadi (Schlichter L. et.al., 1993 yil). Ushbu kanallar miyokardning metabolik jarayonlari va energiya sarfini optimallashtirishda, ATF parchalanish tezligini va yurakning qisqarish chastotasini kamaytiradigan mexanizmlarni faollashtirishda yetakchi rol o'ynashi hamda yurakning ishemik kasalliklaridan himoya qilishi aniqlangan (Garvan C. Kane, et.al., 2005 yil). Yuqoridagilarni hisobga olgan holda, biz o'rganilayotgan birikmalarning sarkolemma K_{ATF} -kanallariga ta'sirini ularning aktivatori nikorandil ishtirokida tekshirdik. Nikorandilning K_{ATF} -kanallarini faollashtirishi kardiomiotsitlarning

membrana potensialining pasayishiga, bu esa potensialga bog‘liq bo‘lgan Ca^{2+} kanallari orqali Ca^{2+} ionlari oqimining kamayishiga [Takeshi Iwai, at all., 2002 yil] va miokard qisqarish kuchining 43,7% ga pasayishiga olib keladi (6-ram, A).



6-rasm, A. Nikorandilning kalamush yuragi papilyar muskul qisqarish faolligiga dozaga bog‘liq ta’siri (original yozuv). **B.** Nikorandil mavjud sharoitda DGK, F-18 va DKV-11 ning papilyar muskul qisqarish kuchiga ta’siri. Ordinata o‘qi bo‘yicha – muskulning qisqarish kuchi foizda berilgan. Barcha holatlarda $*-p<0,05$; $**p<0,01$; $n=5$. Preparatni qo‘zg‘atish chastotasi 1 Gs.

Ushbu tajriba natijalari shuni ko‘rsatdiki, nikorandil (100 mkM) ishtirokida DGK (60 mkM), F-18 (45 mkM) va DKV-11 (35 mkM) qo‘shilishi kalamush papilyar muskul qisqarish kuchini nazoratga nisbatan mos ravishda $69,3\pm 3,3\%$, $60,5\pm 4,8\%$ va $84,5\pm 3,1\%$ oshishi kuzatildi (6-rasm, B). Olingan natijalar shuni ko‘rsatadiki, K_{ATP} -kanallari DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugatining musbat inotrop ta’sirini ta’minlashda ishtirok etishi mumkin.

Ko‘plab farmakologik vositalarning musbat inotrop effekti kardiomiotsitlarda β_2 -adreneroretseptorlar (β_2 -AR) va adenilatsiklaza (AS) faollashishi orqali ta’minlanadi. Ushbu tizimning faollashishi siklik adenzin monofosfat (sAMF) konsentratsiyasining ortishi natijasida L tipidagi Ca^{2+} kanallarini va SR Ca^{2+} transport tizimlarini faollashtirishi orqali yuzaga keladi va bu esa kardiomiotsitlarda Ca^{2+} ionlari konsentratsiyasining oshishini ta’minlaydi (Dirk von Lewinski, et.al., 2005 йил). Buni hisobga olgan holda, biz o‘rganilayotgan birikmalarning musbat inotrop ta’sirida β_2 -AR ning rolini o‘rgandik. Ushbu tajribalar β_2 -AR ning spetsifik blokatori propranolol ishtirokida olib borildi (Hobeom Lee, et.al., 2010 йил). Ushbu tajribalar natijalari shuni ko‘rsatadiki, propranolol (10 mkM) mavjudligida DGK (60 mkM), F-18 (45 mkM) va DKV-11 (35 mkM) qo‘shilganda papilyar muskul qisqarish kuchi mos ravishda $68,4\pm 3,3\%$, $74,6\pm 4,7\%$ va $87,8\pm 3,5\%$ ni tashkil etdi (1-jadval).

β_2 -AR blokadasida DGK, F-18 va DKV-11 ning musbat inotrop ta’sirining sezilarli darajada pasayishi bu β_2 -AR-AS-sAMF signalizatsiya tizimining faollashishi bilan bog‘liqligini ko‘rsatadi, bu esa L-tipli Ca^{2+} kanallari orqali kardiomiotsitga Ca^{2+} ionlari kirishining ortishini ta’minlaydi. Ushbu ma’lumotlar shuni ko‘rsatadiki, o‘rganilayotgan birikmalarning musbat inotrop

ta'siri kardiomiotsitlarda $[Ca^{2+}]_i$ konsentratsiyasining ortishi bilan birga β_2 -AR-AS-sAMF signalizatsiya tizimining faollashuviga asoslangan bo'lishi mumkin.

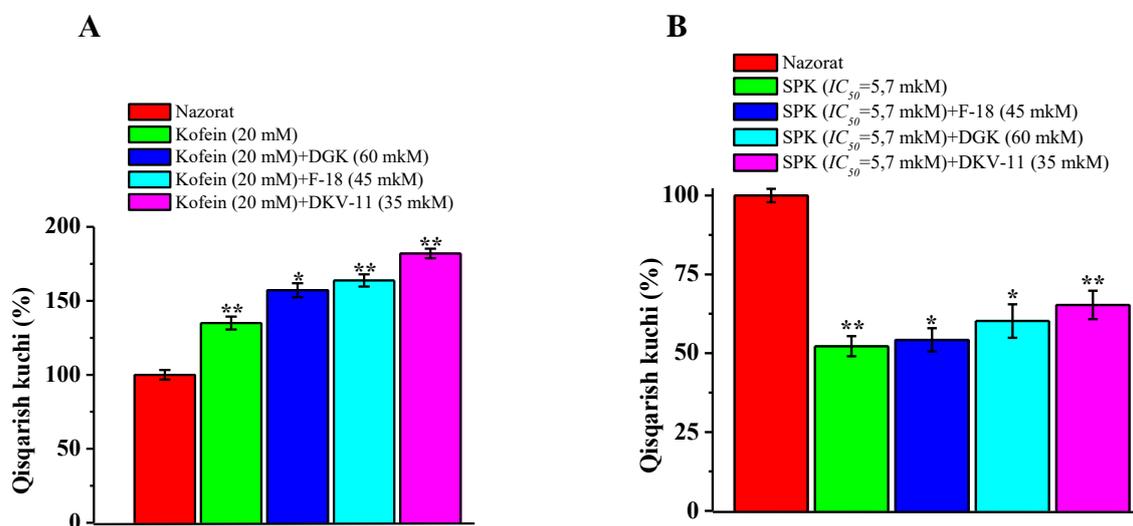
1-jadval

β -adrenoretseptor blokadasining DGK, F-18 va DKV-11 preparatlarining musbat inotrop effekti ta'siri

Tajriba sharoiti	Qisqarish amplitudasi (%)			
	Nazorat	DGK (60 mkM)	F-18 (45 mkM)	DKV-11 (35 mkM)
Propranolol (10 mkM)	62,5±3,2%	** 68,4±3,3% (n=5)	* 74,6±4,7% (n=5)	** 87,8±3,5% (n=6)

Izoh: papillyar qisqarish kuchi nazoratga nisbatan foiz (%) hisobida ifodalangan, nazorat 100% sifatida qabul qilingan. Qo'zg'atish chastotasi 1 Gs (*- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; $n = 5-6$).

Ca^{2+} gomeostazini va yurak muskul hujayralarining qisqarishi va bo'shashish jarayonlarini saqlashda SR Ca^{2+} transport tizimlari muhim rol o'ynaydi. RyR - SR membranalarida Ca^{2+} kanali bo'lib, u Ca^{2+}_L -kanallari orqali kiruvchi Ca^{2+} ionlari tomonidan faollashganda, yurak muskul qisqarish jarayonini boshlash uchun zarur bo'lgan Ca^{2+} ionlarining SR dan sitozolga chiqishini ta'minlaydi. Yurak muskulining bo'shashish jarayoni SERCA2a va plazmolemma Na^+/Ca^{2+} almashinuv tomonidan ta'minlanadi, ular Ca^{2+} ionlarini SR ga kiritib, ularni kardiomiotsitdan chiqarib sitozoldagi Ca^{2+} ionlarining konsentratsiyasini kamaytirish orqali bo'shashishni ta'minlaydi. Yurak muskul qisqarish faolligining regulatsiyasida SR RyR va Ca^{2+} -ATFazaning muhim rolini hisobga olib, biz DGK, F-18 va DKV-11 ning musbat inotrop ta'sirida ularning rolini o'rgandik.

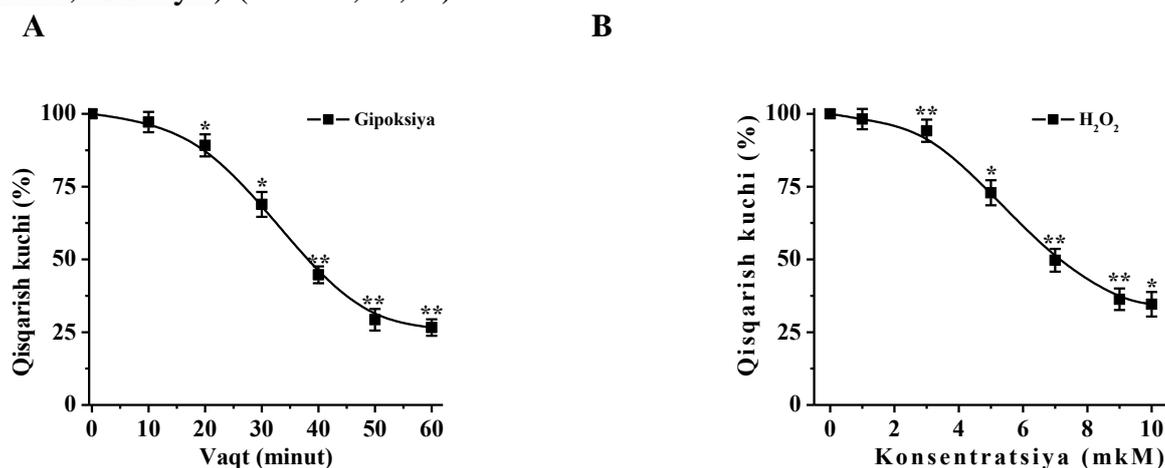


7-rasm. A. SR RyR2 aktivatori - kofein (20 mM) inkubatsiyasi sharoitida papillyar muskul yakka qisqarishiga DGK, F-18 va DKV-11 ning ta'siri. Ordinata o'qida - 100% deb qabul qilingan maksimalga nisbatan foizda ifodalangan papillyar muskulning qisqarish kuchi keltirilgan. ($t=+36\pm 0,5^\circ C$). * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, ($n=5$). **B. Inkubatsiya muhitida Ca^{2+} -ATFaza blokatori – siklopiazon kislotasi ($IC_{50}=5,7$ mkM) mavjud sharoitda DGK flavanoidi, F-18 izoxinolin alkaloidi va DKV-11 konyugatining papillyar muskul qisqarish kuchiga ta'siri.** Ordinata o'qida – papillyar muskulning qisqarish kuchi foiz (%) hisobida ifodalangan. Stimulyatsiya chastotasi 1 Gs ($t=+36\pm 0,5^\circ C$; $-p < 0,05$; $n=5$).

Ushbu tajribalar RyR2 ni kofein bilan faollashtirish va SERCA2a ni siklopiazon kislotasi (SPK) bilan qisman blok qilish sharoitida amalga oshirildi. Kofein (20 mM) bilan o'tkazilgan tajribalarda uni hech qanday stimulyatsiyasiz sharoitda kalamush papillyar muskulga qo'llash amplitudasi 150% bo'lgan yakka qisqarishni keltirib chiqardi. 60 mkM DGK, 45 mkM F-18 va 35 mkM DKV-11 bilan inkubatsiya qilingan muskulga kofein (20 mM) qo'llanilganda, muskulning yakka qisqarish amplitudasi mos ravishda $22,3 \pm 4,8\%$, $28,6 \pm 3,6\%$ va $46,8 \pm 3,3\%$ ga ortishi kuzatildi (7.A-rasm). Ushbu tajribalar natijalari shuni ko'rsatadiki, o'rganilayotgan birikmalar ishtirokida kofein tomonidan qo'zg'atilgan papillyar muskul yakka qisqarish amplitudasining oshishi SR dan chiqadigan Ca^{2+} ionlari konsentratsiyasining ortishi bilan bog'liq bo'lishi mumkin.

Ushbu taxmin SERCA2a ingibitori SPK bilan olib borilgan tajribalarda tasdiqlandi. Ushbu tajribalarda papillyar muskul preparatlarini oldindan SPK ($IC_{50} = 5,7$ mkM) bilan inkubatsiya qilinganda DGK, F-18 va DKV-11 ta'siri tekshirilganda muskul qisqarish kuchining pasayishi kuzatildi va mos ravishda $91,2 \pm 2,3\%$, $111,4 \pm 2,7\%$ va $112,1 \pm 2,5\%$ ni tashkil etdi (7-rasm, B). Ushbu ma'lumotlar o'rganilgan DGK, F-18 va DKV-11 birikmalari SERCA2a ni faollashtirish va shu bilan muskul qisqarish kuchini oshirish orqali SR da Ca^{2+} ionlarining qo'shimcha to'planishiga olib kelishi mumkinligini ko'rsatadi.

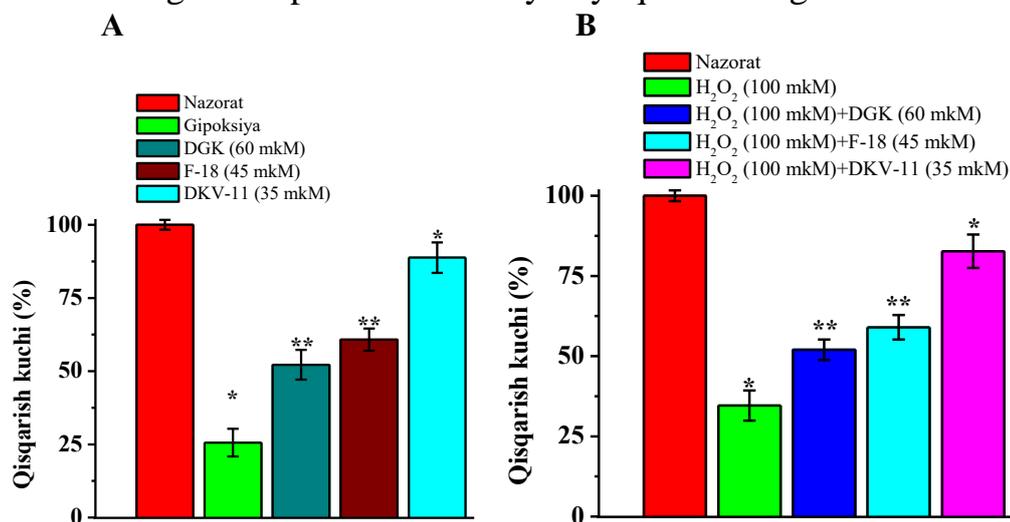
Dissertatsiyaning "**DGK, F-18 va DKV-11 ning kardioprotektiv faolligining tavsifi**" deb nomlangan to'rtinchi bobida DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugatining *in vitro* sharoitida gipoksiya va oksidlovchi stress modelida kardioprotektiv faolligi baholandi. Gipoksiya va oksidlovchi stress modellari 95% $N_2/5\%$ CO_2 gaz tarkibiga ega Krebs eritmasi bilan kalamush yurak papillyar muskul preparatini perfuziya qilish va mos ravishda inkubatsiya muhitiga vodorod peroksidni qo'shish orqali olingan. (Satoh K., et.al., 2014 yil; Goldhaber J.I., et.al., 1994 yil) (8-rasm, A, B).



8-rasm. Kalamush yuragi papillyar muskul qisqarish faolligiga gipoksiya va H₂O₂ning ta'siri. A. Ordinata o'qida – muskul qisqarish kuchi, fiziologik eritmaning normal oksigenatsiyasi sharoitida olingan nazorat foizda ifodalangan va 100% deb qabul qilingan. Absissa o'qida - 95% $N_2/5\%$ CO_2 aralashmasi bilan preparatni aeratsiya qilinuvchi Krebs eritmasining perfuziya vaqti keltirilgan. B. H₂O₂ ning papillyar muskul qisqarish faolligiga dozaga bog'liq ta'siri. Ordinata o'qida – maksimalga nisbatan foiz (%) hisobida ifodalangan qisqarish kuchi, absissa o'qida - H₂O₂ ning konsentratsiyasi (mkM) ko'rsatilgan (*- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$). Stimulyasiya chastotasi 1 Gs $t = +36 \pm 0,5^\circ C$; $n = 5$.

8-rasmda ko‘rish mumkinki, gipoksiya va oksidlovchi stressning rivojlanishida kalamush papillyar muskul qisqarish kuchining sezilarli darajada kamayishi kuzatildi. Bundan tashqari, papillyar muskul preparatini 1 soat davomida 95% N₂/5% CO₂ aralashmasi bilan gazlangan Krebs eritmasi bilan perfuziya qilinganda, muskul qisqarish kuchini 73,6% ga kamaytirishi aniqlandi (8-rasm, A). Gipoksiya sharoitida yurak muskul qisqarish faolligining bunday kamayishi ionlarni tashish tizimlarining metabolizmi va ishlash mexanizmlari hamda kardiomiotsitlarning qisqarish apparatining jiddiy shikastlanishi bilan bog‘liq hisoblanadi (Chjanxao Su, at all., 2021 yil).

O‘rganilayotgan birikmalarning gipoksiya sharoitida ta‘sirini o‘rganishda, papillyar muskul preparatlarini DGK (60 mkM), F-18 (45 mkM) va DKV-11 (35 mkM) bilan oldindan inkubatsiya qilganda, gipoksiya tufayli yuzaga kelgan papillyar muskul qisqarish kuchini kamayishini mos ravishda 25,8±2,1%, 34,4±3,6% va 62,4±4,3% ga pasaytirdi (9-rasm, A). Ushbu tajribalar natijalari shuni ko‘rsatadiki, o‘rganilayotgan birikmalar gipoksiya tufayli kelib chiqqan papillyar muskul qisqarish faolligidagi buzilishlarni samarali ravishda oldini oladi va bu esa ularning kardioprotektiv salohiyati yuqori ekanligidan dalolat beradi.



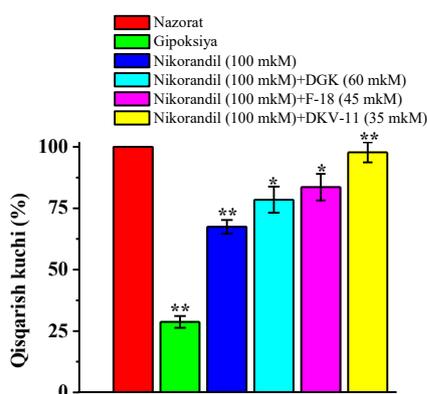
9-rasm. Gipoksiya (A) va oksidlovchi stress (B) sharoitida kalamush yuragi papillyar muskul qisqarish faolligiga DGK, F-18 va DKV-11 ning ta‘siri. Ordinata o‘qi bo‘yicha – foizda ifodalangan muskulning qisqarish kuchi berilgan. Stimulyasiya chastotasi 1 Gs ($t=+36\pm 0,5^{\circ}\text{C}$). * - $r<0,05$, ** - $r<0,01$, ($n=5$).

Kalamush yuragi papillyar muskul preparati inkubatsiya muhitiga 100 mkM H₂O₂ bilan qo‘shilganda muskul qisqarish kuchi nazoratga nisbatan 65,4% ga kamayishi kuzatildi. Ushbu sharoitda DGK flavonoidi (60 mkM), F-18 alkaloidi (45 mkM) va DKV-11 konyugati (35 mkM) qo‘shilishi papillyar muskul qisqarish kuchini mos ravishda 18,6±3,2%, 24,8±3,8% va 48,3±3,6% ga oshirilishiga olib keldi (9-rasm, B).

Ushbu tajribalar natijalari shuni ko‘rsatadiki, DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugati gipoksiya va oksidlovchi stress tufayli yuzaga kelgan kalamush yuragi papillyar muskul qisqarish faolligidagi buzilishlarni samarali bartaraf etish xususiyatiga ega ekanligidan dalolat beradi. O‘rganilayotgan birikmalar effektining tahlili shuni ko‘rsatdiki, DKV-11 konyugati gipoksiya va

oksidlovchi stress sharoitida protektor ta'sirga ega ekanligini yaqqol nomoyon qildi. Bu esa, DGK flavonoidini bilan F-18 alkaloidi asosida olingan konyugatning ta'siridagi sinergizmning yuzaga kelishi bilan izohlanadi.

Yurakning ishemik shikastlanishi sharoitida kardiomiotsit membranasi va mitoxondriyalarining K_{ATF} kanallari kardioproteksiya mexanizmida muhim rol o'ynashi aniqlangan. Xususan, yurakning ishemik kasalliklarida K_{ATF} kanallarining faollashishi ishemik yoki metabolik muammolar tufayli yuzaga keladigan hujayra shikastlanishini minimallashtirishi ko'rsatilgan. Shu sababli, so'nggi yillarda turli patologiyalarda yurak faoliyatini yaxshilash uchun K_{ATF} kanallarini farmakologik yoki fiziologik faollashtirishning yangi yondashuvlarini ishlab chiqishga katta e'tibor qaratilmoqda.



10-rasm. DGK, F-18 va DKV-11 larning gipoksiya sharoitida nikorandil ishtirokida kalamush yuragi papilyar muskul qisqarish faolligiga ta'siri. Ordinata o'qida papilyar muskul qisqarish kuchi nazoratga nisbatan foiz hisobida ifodalangan va 100% deb olingan. Preparatni qo'zg'atish chastotasi 1 Gs. Barcha holatlarda * - $r < 0,05$, ** - $r < 0,01$, ($n=5$).

Buni hisobga olgan holda, biz gipoksiya sharoitda DGK, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugatining kalamush yuragi papilyar muskul qisqarish faolligiga effektida kardiomiotsit K_{ATF} kanallarining rolini tadqiq qildik. Ushbu tajribalarda biz K_{ATF} kanallarining selektiv aktivatori bo'lgan nikorandildan foydalandik va bunda nikorandil kalamush yuragi papilyar muskul qisqarish kuchiga gipoksiyaning shikastlovchi ta'sirini 40% ga kamaytirdi. Nikorandilning bunday ta'siri uning tarkibida nikotin kislotaning amid qoldig'i mavjudligi bilan bog'liq bo'lib, u K_{ATF} kanallarining faollashishini ta'minlashi natijasida kardiomiotsitlarda Ca^{2+} ionlari transportining optimallashtirishi kuzatiladi [Yasuxide Vatanabe, 2019 yil]. Biroq, nikorandilning bunday ta'siri azot oksidi ishlab chiqarishning ko'payishi bilan bog'liq bo'lib, u koronar tomirlarni kengaytirib, miokard kislorodiga bo'lgan talabni oshirmasdan yurak muskullarining qisqarish faolligini normallashtirishi mumkin (Marek A. Deja, et al., 2006 yil). Yuqoridagilarni hisobga olsak, biz o'rgangan birikmalarning gipoksiya sharoitda papilyar muskul qisqarishiga protektor ta'siri nikorandilga o'xshash mexanizm orqali amalga oshadi deb taxmin qilish mumkin. Ushbu taxminni tekshirish uchun DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugatining nikorandil ishtirokida

gipoksiya sharoitda kalamush papillyar muskul qisqarishiga ta'siri bo'yicha qiyosiy tadqiqotlar o'tkazildi. Ushbu tadqiqotlar natijalari shuni ko'rsatdiki, kalamush papillyar muskul preparatini nikorandil bilan oldindan inkubatsiya qilish bilan gipoksiyaning muskul qisqarish kuchiga ta'siri 38,7% ga kamayishi kuzatildi (10-rasm). Nikorandil ishtirokidagi inkubatsiya muhitiga DGK flavonoidi (60 mkM), F-18 alkaloidi (45 mkM) va DKV-11 konyugati (35 mkM) qo'shilganda, gipoksiyaning papillyar muskul qisqarish kuchiga shikastlovchi ta'siri mos ravishda $49,8 \pm 2,4\%$, $54,9 \pm 2,2\%$ va $69,1 \pm 3,1$ ga kamaydi (10-rasm).

Ushbu tadqiqotlar natijalari shuni ko'rsatadiki, DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugati nikorandil ishtirokida gipoksiya natijasida kelib chiqadigan buzilishlarni nikorandil mavjud bo'lmagandagiga nisbatan samaraliroq bartaraf etishi aniqlandi (9-rasm A). Ushbu natijalar DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugati kardioprotektiv ta'sirga ega ekanligini ko'rsatadi, bu esa kardiomiotsit K_{ATP} kanallari faolligini modulyatsiya qilish orqali ta'minlanadi.

Umuman olganda, dissertatsiya ishini bajarish jarayonida olingan ma'lumotlar, DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugati musbat inotrop va kardioprotektiv ta'sirga ega ekanligini ko'rsatadi hamda DKV-11 konyugatida bunday xususiyati ko'proq namoyon bo'ladi. DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugatining musbat inotrop ta'sir mexanizmi murakkab bo'lib, Na^+/K^+ -ATFaza va Na^+/Ca^{2+} -almashuvchi, shuningdek, β_2 -AR/AS/sAMF signal kaskadi va SR RyR2 modulyatsiyasi asosida $[Ca^{2+}]_i$ ning ortishi va yurak muskul qisqarish kuchini oshirishini ta'minlovchi kompleks mexanizmga asoslangan. DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugatining kardioprotektiv ta'siri β_2 -AR/AS/sAMF signalizatsiya kaskadi, SR Ca^{2+} ATFaza va K_{ATP} kanali faolligining modulyatsiyasi, shuningdek digidrokversetinni antioksidant faolligining mavjudligi bilan bog'liq bo'lishi mumkin va bu esa kardiomiotsitlarda $[Ca^{2+}]_i$ ni normallashtirish bilan birga yurak muskuli qisqarish faolligini optimallashtirishi mumkin.

XULOSALAR

1. Digidrokversetin flavonoidi (DGK), F-18 izoxinolin alkaloidi va ular asosida olingan DKV-11 konyugati musbat inotrop ta'sirga ega ekanligi aniqlandi.

2. DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugatining musbat inotrop ta'siri asosan Na^+/K^+ -ATFaza, Na^+/Ca^{2+} -almashuvchi va K_{ATP} kanali funksiyalarini modulyatsiya qilib kardiomiotsitlarda $[Ca^{2+}]_i$ ning ortishi orqali ta'minlanishi aniqlandi.

3. DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugatining musbat inotrop ta'sirining ta'minlanishida β_2 -AR/AS/sAMF signal kaskadi va sarkoplazmatik retikulum rianodin retseptorlari (RyR2) faollashishi ham ma'lum hissa qo'shishi ko'rsatilgan.

4. *In vitro* gipoksiya modelida DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugati gipoksiya natijasida kelib chiqqan kalamush yuragi papillyar muskul qisqarish faolligidagi buzilishlarini samarali oldini olishi va ularning kardioprotektor potensialga ega ekanligi aniqlandi.

5. DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugatining kardioprotektiv ta'siri β 2-AR/AS/sAMF signal kaskadi, SR Ca^{2+} ATFaza va K_{ATF} kanali faolligining modulyatsiyasi bilan bog'liq bo'lishi mumkinligi ko'rsatildi, shuningdek digidrokversetinni antioksidant faolligining mavjudligi, bu birgalikda kardiomiotsitlarda $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ni normallashtirishi va yurak muskul qisqarish faolligini optimallashtirishi mumkin.

6. DGK flavonoidi, F-18 alkaloidi va DKV-11 konyugatining inotrop va kardioprotektiv ta'sir qilish mexanizmi to'g'risidagi ma'lumotlar gipoksik yurak shikastlanishining oldini olish va davolash uchun samarali va kardioprotektiv dori vositalarining yangi avlodini yaratishda ilmiy asoslangan yondashuvni ishlab chiqishda nazariy asos bo'lib xizmat qilishi mumkin.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.03/30.12.2019.B.01.13 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ БИОФИЗИКИ И
БИОХИМИИ НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА УЗБЕКИСТАНА**

ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И БИОХИМИИ

РУСТАМОВ ШАВКАТ ЮСУБОВИЧ

**ОЦЕНКА КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ КОМПЛЕКСА
ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА И АЛКАЛОИДА F-18**

03.00.02 – Биофизика и радиобиология

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

Ташкент – 2024

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2021.4.PhD/B296.

Диссертационная работа выполнена в Каракалпакском государственном университете.

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

Научный руководитель:

Усманов Пулат Бекмуратович
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Насиров Кобил Эркинович
доктор биологических наук, профессор

Хаджиметов Абдугафур Ахатович
доктор биологических наук, профессор

Ведущая организация:

**Ташкентский педиатрический
медицинский институт**

Защита диссертации состоится «__» _____ 2024 года в __ часов на заседании Научного совета DSc.03/30.12.2019.B.01.13 по присуждению ученых степеней при Институте биофизики и биохимии Национального университета 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 Национального университета Узбекистана (зарегистрировано за № __). (Адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, ул. Университетская, 174. Тел: (99871) 246-68-96. e-mail: ibb-nuu@mail.ru; mamurjon2281@mail.ru.)

Автореферат диссертации разослан: «__» _____ 2024 г
(реестр протокола рассылки № «__» от _____ 2024).



[Signature]

Саатов Тальят Саатович
Заместитель председателя Научного совета
по присуждению ученых степеней д.б.н., академик

[Signature]

Позилев Маъмуржон Комилжонович
Ученый секретарь Научного совета
по присуждению ученых степеней, д.б.н.

[Signature]

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

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Кардиопротекция на сегодняшний день является одним из наиболее актуальных и приоритетных направлений профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), которые, несмотря на значительные достижения в терапии, продолжают оказывать негативное влияние на здоровье населения развитых стран. По мнению экспертов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), причиной такой ситуации является низкая эффективность медикаментозной терапии, применяемой при лечении ССЗ, ограниченность возможностей применяемых препаратов, многие из которых не отвечают необходимым требованиям по причине наличия побочных эффектов. Соответственно, в современной концепции профилактики и лечения этих заболеваний важное значение приобретает разработка новых мер воздействия для предотвращения развития поражения кардиомиоцитов, основанных на применении высокоэффективных кардиопротекторов комбинированного действия.

В последние годы в ведущих научно-исследовательских центрах мира в качестве перспективных источников для создания нового поколения лекарственных средств для профилактики и лечения ССЗ широко используются различные алкалоиды и флавоноиды растительного происхождения. В связи с этим научные исследования направленные на создание препаратов нового поколения с эффективным кардиопротекторным действием на основе алкалоидов и флавоноидов имеют важное научное и практическое значение.

В нашей республике при разработке новых подходов лечения и профилактике заболеваний сердца, большое внимание уделяется научным и практическим исследованиям в области химии и фармакологии алкалоидов и флавоноидов и их гибридов. В этом плане разработаны меры по эффективному внедрению научных и инновационных разработок в области фармакологии. В 4-м направлении «Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» определены важные задачи в контексте «дальнейшего развития фармацевтической промышленности, улучшения обеспечения населения и учреждений здравоохранения доступными лекарственными средствами, изделиями медицинского назначения и медицинской техникой». Исходя из этих задач, разработка эффективных фармакологических препаратов на основе биологически активных веществ с конкретными свойствами на основе реализуемых в этом направлении программных мероприятий имеет важное научное и практическое значение.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Указе Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года № УП-4947 «О Стратегии действий по

дальнейшему развитию Республики Узбекистан»², Постановлении от 14 февраля 2018 года № ПП-3532 «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли» и Постановлении от 6 мая 2022 года № ПП-4310 «О мерах по дальнейшему развитию системы медицинского и фармацевтического образования и науки» и Постановлении от 26 января 2022 г. № ПП-103 «О мерах по профилактике и повышению качества лечения сердечно-сосудистых заболеваний», а также других нормативно-правовых документов, принятых в данной сфере.

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

Степень изученности проблемы. В данном направлении во многих исследовательских центрах мира ведутся многочисленные и разнообразные научные исследования. В экспериментах, проведенных Santos et al. (2023), описаны механизмы положительного инотропизма в сократительной активности сердечной мышцы и ими обнаружено, что положительный инотропизм возникает главным образом в результате фосфорилирования протеин киназа А (РКА) зависимых кальциевых каналов-L –типа (LTCC) и риадинового рецептора (RyR), посредством активации сигнального пути β -адренорецептора (β -AR). Кроме того, китайскими учеными доказано (Yongjun Wang et al., 2015), что саркоплазматический ретикулум (СР) кардиомиоцитов играет решающую роль в апоптозе, индуцированном ишемией/реперфузией, а кардиопротекторный эффект изохинолиновых алкалоидов обнаруженный ими может быть результатом модуляции функции СР.

Широкомасштабные исследования особенностей инотропной активности миокарда при различных заболеваниях сердца, в том числе постинфарктном кардиосклерозе ведутся в Томском национальном исследовательском медицинском центре Научно-исследовательского Института кардиологии РАН (Кондратьева и др., 2023). При этом особое внимание в этих исследованиях отводится исследованиям механизмов кардиопротекции биологически активными веществами в различных условиях гипоксии (Сатаева, 2020).

В нашей республике в лаборатории биофизики клетки Института биофизики и биохимии при НУУз на протяжении долгого времени ведутся исследования направленные на выяснения механизмов действия биологически активных веществ растительного происхождения на сократительную активность миокарда. При этом было установлено и охарактеризованы механизмы инотропного и антиаритмического действия некоторых изохинолиновых алкалоидов (И.З. Джумаев, 2012-2021). Однако

² Указ Президента Республики Узбекистан от 02.07.2017 № УП-4947 «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан».

механизмы инотропного и кардиопротекторного действия конъюгата изохинолиновых алкалоидов и флавоноида дигидрокверцетина не были изучены. В связи с этим дальнейшая характеристика особенностей положительного инотропного действия этих конъюгатов позволит выявить среди них перспективные для создания новых кардиопротекторных средств. Безусловно, создание новых кардиопротекторных средств на основе изохинолиновых алкалоидов и ДГК обладающих положительным инотропным эффектом позволит разработать новые адекватные подходы кардиопротекции что будет иметь большое научно-практическое значение.

Связь диссертационного исследования с планами научных исследований научно-исследовательского учреждения, в котором выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках научных проектов ФА-Ф-6-004: «Комплексная характеристика механизмов модуляции перспективных мишеней сердечных и гладкомышечных клеток для разработки адекватных способов лечения сердечно-сосудистых заболеваний» (2017-2020 гг.) и Ф-ОТ-2021-154: «Механизмы модуляции Ca^{2+} -гомеостаза клеток сердца и гладкомышечных клеток растительными биологически активными соединениями» (2021-2025 гг.) плана научно-исследовательских работ Института биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана.

Целью исследования является оценка кардиопротекторного свойства конъюгата флавоноида дигидрокверцетина с изохинолиновым алкалоидом F-18 ДКВ-11.

Задачи исследовательской работы:

оценка дозозависимого влияния изохинолинового алкалоида F-18, флавоноида дигидрокверцетина и полученного на их основе конъюгата ДКВ-11 на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы;

анализ участия Na^+ -, Ca^{2+}_L -каналов, K^+ _{АТФ}-каналов, Na^+/Ca^{2+} -обменника, Na^+/K^+ -АТФазы в положительном инотропном действии алкалоида F-18, флавоноида дигидрокверцетина и конъюгата ДКВ-11;

оценка влияния алкалоида F-18, флавоноида дигидрокверцетина (ДГК) и конъюгата ДКВ-11 на активность β -адренорецепторов (β -АР) и Ca^{2+} -транспортных систем СР (RyR2, саркоплазматические Ca^{2+} -АТФазы (SERCA2a));

изучение кардиопротекторного действия алкалоида F-18, флавоноида дигидрокверцетина и конъюгата ДКВ-11 в условиях гипоксии и окислительного стресса;

характеристика механизмов кардиопротекторного свойства алкалоида F-18, флавоноида дигидрокверцетина и конъюгата ДКВ-11.

Объектом исследования являются Na^+ -, Ca^{2+} -, K^+ _{АТФ}-каналы, Na^+/K^+ -АТФаза и Na^+/Ca^{2+} -обменник, RyR2 и SERCA2a папиллярной мышцы сердца крысы.

Предметом исследования являются изохинолиновый алкалоид F-18, флавоноид дигидрокверцетин и полученный на их основе конъюгат ДКВ-11.

Методы исследования. В диссертации использованы современные физиологические и биофизические методы регистрации и анализа сократительной активности папиллярной мышцы сердца крысы. Сократительную активность папиллярной мышцы оценивали в условиях изометрии. Каждый эксперимент проводился не менее 4-5 раз в повторениях. Для статистической обработки полученных результатов использовали программы OriginLab. Pro v. 9.0 SR1 (EULA, США).

Научная новизна исследования заключается в следующем:

установлено, что алкалоид F-18, флавоноид ДГК и их конъюгат ДКВ-11 обладают положительной инотропной активностью;

положительный инотропный эффект флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11 реализуется за счет модуляции функций Na^+/K^+ -АТФазной системы, приводя к режиму реверсии $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника, а также через каскадную реакцию β_2 -АР-АЦ-цАМФ-ПКА с активацией Ca^{2+} -каналов;

установлено, что положительный инотропный эффект ДГК, F-18, ДКВ-11 осуществляется за счет активации SERCA2a;

показано, что конъюгат ДКВ-11 обладает более выраженным кардиопротекторным действием чем ДГК и F-18 в условиях гипоксии и окислительного стресса *in vitro*.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

изучены механизмы положительного инотропного и кардиопротекторного действия БАВ, установлены комплексные механизмы, лежащие в основе модуляции Ca^{2+} -транспортных систем плазмалеммы и СР.

Полученные результаты расширяют круг существующих теоретических знаний о возможных механизмах инотропного и кардиопротекторного действия алкалоидов и флавоноидов. Полученные сведения о инотропном и кардиопротекторном действии конъюгата ДКВ-11, основанном на модуляции $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в динамике за счет коррекции активности Ca^{2+} -канала, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника, Ca^{2+} -транспортных систем СР в кардиомиоцитах найдут применение в качестве теоретической основы при разработке нового поколения кардиопротекторных средств. Данные, полученные при выполнении работы позволяют разработать рациональные подходы к дизайну новых эффективных препаратов для лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний.

Достоверность результатов исследований определяется использованием в работе современных биофизических и физиологических методов исследования и приборов, а также математико-статистической обработки полученных результатов с использованием специальной программ. Полученные данные были обработаны с использованием статистического анализа в программном обеспечении OriginPro v. 9.0 SR1

(EULA, Northampton, MA 01060–4401, США), где были рассчитаны доверительные интервалы средних значений с помощью критерия t-Стюдента. Достоверность результатов подтверждается их публикацией в рецензируемых научных изданиях.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов исследования следует из определения механизма инотропного и кардиопротекторного действия изохинолинового алкалоида F-18, флавоноида дигидрокверцетина и их конъюгата ДКВ-11 в норме, в условиях гипоксии и окислительного стресса, что существенно расширяет представления о фармакологических свойствах биологически активных соединений.

Практическая значимость результатов исследования заключается в обнаружении существенного усиления положительного инотропного и кардиопротекторного действия при формировании комплекса конъюгата ДКВ-11 на основе изохинолинового алкалоида F-18 и флавоноида дигидрокверцетина. Эти результаты имеют важное практическое значение, так как определяют наиболее рациональные пути дизайна структуры при создании нового поколения лекарственных средств для лечения и профилактики заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Внедрение результатов исследований. На основании полученных научных результатов по оценке кардиопротекторных свойств комплекса дигидрокверцетина и алкалоида F-18:

получен патент на изобретение Агентства интеллектуальной собственности Республики Узбекистан на кардиопротекторное средство для профилактики и лечения ишемической болезни сердца (№IAP 06753. 2022). В результате 2-(3,4-дигидроксифенил)-6-[1-(2'-бром-4',5'-диметоксифенил)-6,7-диметокси-3,4-дигидроизохинолин-2(1N)-ил]метил-3,5,7-тригидрокси-хроман-4-он (ДКВ-11) позволил эффективно корригировать нарушения сократительной активности сердечной мышцы, индуцированные гипоксией и окислительным стрессом;

данные о механизме действия изохинолинового алкалоида F-18, флавоноида дигидрокверцетина и их комплекса (ДКВ-11) использованы при описании биологических эффектов в зарубежных научных журналах с высоким импакт-фактором (Molecules) 2023 Jan; 28(2), Scopus CiteScore-6,7, Экспериментальная и клиническая фармакология, 2023, 86(4), Scopus CiteScore-0,4 и Chemistry of Natural Compounds, 2023, 59(4), Scopus CiteScore-1, 4), что существенно позволило расширить имеющиеся сведения о фармакологических свойствах изохинолиновых алкалоидов и флавоноидов.

Апробация результатов исследования. Результаты исследования обсуждались на 2 международных и 9 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, из них 5 статей в научных журналах, в том числе 2 в республиканских и 3 - в зарубежных журналах, рекомендованных

Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертаций. Получен 1 патент.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключительной части, выводов и списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 102 страницы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновываются актуальность и необходимость научного исследования, цель и задачи исследования, описываются объект и предмет исследования, показано, соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики, научная новизна и практические результаты исследований, научная и практическая значимость полученных результатов, сведения о внедрении результатов исследований, опубликованные работы и структура диссертации.

В первой главе диссертации озаглавленной **«Молекулярные механизмы структурно-функциональной активности клеток сердечной мышцы»** на основе данных современной литературы приведены сведения об основах структуры и функции миокарда, ион-транспортных систем кардиомиоцитов (ионные каналы - Na^+ -, K^+ - и Ca^{2+} -каналы, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник, Na^+/K^+ -АТФаза и рианодиновый рецептор саркоплазматического ретикулула (СР) (RyR) и SERCA2, а также адренорецепторы). Также описаны роль и молекулярные механизмы функционирования этих ионных каналов и рецепторов в процессе сокращения и расслабления кардиомиоцитов. Также даются общие сведения о заболеваниях сердца и их видах, механизмах действия биологически активных веществ (сердечных гликозидов и др.), применяемых при лечении заболеваний сердца.

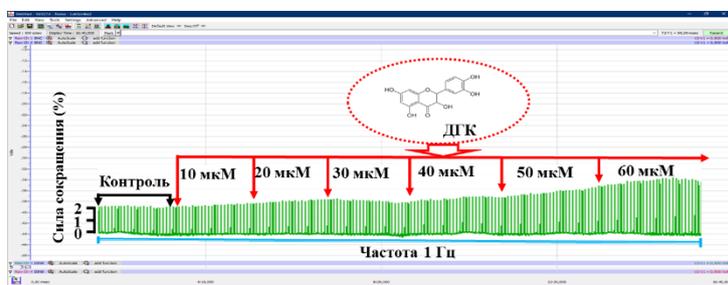
Во второй главе диссертационной работы озаглавленной **«Методы оценки инотропной и кардиопротекторной активности дигидрокверцетина, алкалоида F-18 и их конъюгата ДКВ-11»** подробно описано оборудование, использованное в данном исследовании и метод регистрации сократительной активности папиллярной мышцы сердца крысы. Представлены протоколы экспериментов по оценке влияния изохинолинового алкалоида F-18, флавоноида дигидрокверцетина и конъюгата ДКВ-11 на сократительную активность папиллярной мышцы в различных экспериментальных условиях. Представлены также методы оценки влияния алкалоида F-18, флавоноида дигидрокверцетина и конъюгата ДКВ-11 на функциональную активность ионных каналов, рецепторов и транспортеров сарколеммы (Na^+ , K^+ и Ca^{2+} -каналы, Na^+/K^+ -АТФаза) и Ca^{2+} -транспортирующую систему СР.

В третьей главе диссертации **«Инотропное действие изохинолинового алкалоида F-18, флавоноида дигидрокверцетина и их конъюгата ДКВ-11»** представлены результаты исследований по оценке роли Na^+ -, Ca^{2+} -L-, $\text{K}_{\text{АТФ}}$ -каналов, Na^+/K^+ -АТФаза, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника и β -адренорецепторов в реализации инотропного действия алкалоида F-18, флавоноида ДГК и

конъюгата ДКВ-11 на сократительную активность папиллярных мышц сердца крысы.

Экспериментальные исследования последних лет выявили, что ряд природных и синтетических веществ обладают выраженными кардиопротекторными свойствами в условиях ишемии-реперфузии (Jintao W., 2012). В частности показано что некоторые флавоноиды и алкалоиды, выделенные из растений, обладают сильными кардиопротекторным действием и сегодня рассматриваются как перспективные средства для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы (Барнаулов О.Д., 2010). Более того, большой интерес представляют кардиопротекторные эффекты конъюгатов, полученные на основе этих биологически активных веществ. Учитывая это, в наших экспериментах при изучении влияния флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и их конъюгата ДКВ-11 на сократительную активность папиллярных мышц сердца крыс установлено, что эти соединения обладают выраженным положительным инотропным эффектом. При этом ДГК (5-60 мкМ), F-18 (5-45 мкМ) и ДКВ-11 (5-35 мкМ) увеличивали силу сокращения папиллярной мышцы по сравнению с контролем на $51,4 \pm 3,4\%$, $65,6 \pm 4,4\%$ и $77,4 \pm 4,2\%$, соответственно, по сравнению с контролем. Значение EC_{50} , (концентрация вызывающая полумаксимальное увеличение мышечного сокращения) исследуемых соединений, составило 21,2 мкМ, 14,6 мкМ и 9,7 мкМ, соответственно (рис. 1, А, Б).

А



Б

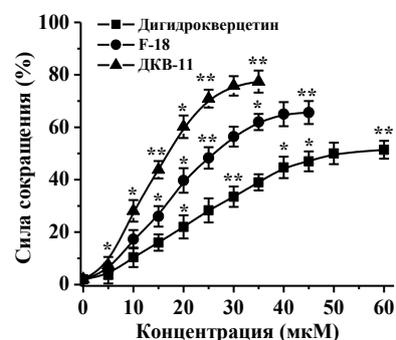


Рис. 1. Дозозависимое инотропное действие флавоноида дигидрокверцетина, изохинолинового алкалоида F-18 и их конъюгата ДКВ-11. А. (типичная оригинальная запись). **Б.** По оси ординат — сила сокращения, выраженная в процентах от максимума, по оси абсцисс — концентрация БАВ (мкМ). Частота стимуляции 1 Гц ($t=+36 \pm 0,5^\circ\text{C}$); $n=5$).

Внутриклеточная концентрация Na^+ ($[\text{Na}^+]_i$) имеет важное значение при модуляции электрической и сократительной активности миокарда. При электрической стимуляции миокарда открываются потенциал-зависимые Na^+ -каналы, запускающие процесс генерации потенциала действия (ПД). Во время фазы плато ПД ионы Ca^{2+} из внешней среды поступают в миоциты через Ca^{2+} -каналы L-типа. Поступающие ионы Ca^{2+} стимулируют выход ионов Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума (СР) в цитозоль, которые запускают процесс сокращения кардиомиоцитов. Учитывая важность роли

Na⁺-каналов в процессе сокращения сердечной мышцы, в следующей серии экспериментов было исследовано влияние флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и их конъюгата ДКВ-11 на Na⁺-каналы мембран кардиомиоцитов.

Для оценки роли Na⁺-каналов в обеспечении положительного инотропного действия флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11 было исследовано их влияние на сократительную активность папиллярных мышц сердца крысы в присутствии специфического блокатора этих каналов - лидокаина (Jielin Pu et al., 1998).

В этих экспериментах при действии ДГК (5-60 мкМ), F-18 (5-45 мкМ) и ДКВ-11 (5-35 мкМ), в присутствии 15,1 мкМ лидокаина (концентрации полумаксимального ингибирования), положительный инотропный эффект уменьшался на 63,8±4,7%, 58,8±4,1% и 54,6±4,6%, соответственно (рис. 2).

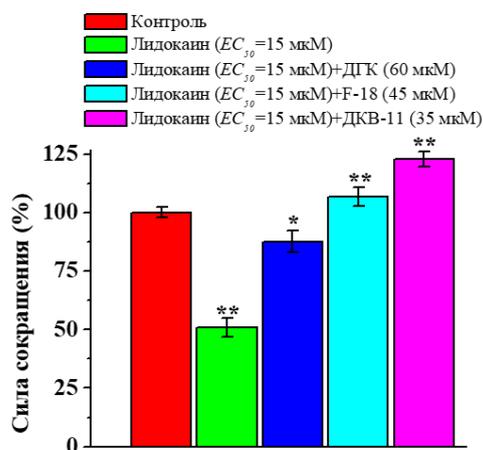


Рис. 2. Влияние флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11 на силу сокращения папиллярной мышцы крысы в присутствии лидокаина в среде. По оси ординат - сила сокращения мышцы, выраженная в процентах (%) от максимума. Частота стимуляции 1 Гц (t=+36±0,5°C). Во всех случаях * - p<0,05; ** - p<0,01; n=5.

Результаты полученные в этих экспериментах свидетельствуют об участии Na⁺-каналов кардиомиоцитов в обеспечении положительного инотропного эффекта флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11. При этом активация Na⁺-каналов приводит к увеличению количества ионов Na⁺ в кардиомиоцитах, что способствует реверсии функции Na⁺/Ca²⁺-обменника в результате которой ионы Ca²⁺ поступают в цитозоль и увеличивают (Ca²⁺)_i и его запасы в СР.

Известно, что Ca²⁺-каналы играют ведущую роль в обеспечении и регуляции электрической и сократительной функции сердца. Ca²⁺_L-каналы регулируют длительность потенциала действия, позволяют ионам Ca²⁺ поступать в кардиомиоциты где они играют важную роль в регуляции процессов, связанных с передачей сигналов и сокращением сердца. Учитывая это, в следующих экспериментах с помощью специфического блокатора Ca²⁺_L-каналов - нифедипина была изучена роль Ca²⁺_L-каналов в положительном инотропном действии ДГК, F-18 и ДКВ-11. В предварительных экспериментах была определена величина IC₅₀ нифедипина

(концентрация полумаксимального ингибирования) которая составила $IC_{50}=0,01$ мкМ. В последующих экспериментах было обнаружено, что в присутствии этой концентрации нифедипина положительный инотропный эффект ДГК (60 мкМ), F-18 (45 мкМ) и ДКВ-11 (35 мкМ) снизился на $61,7\pm 4,5\%$, $66,9\pm 3,7\%$ и $50,6\pm 3,8\%$, соответственно, относительно контроля (рис. 3 А,Б).

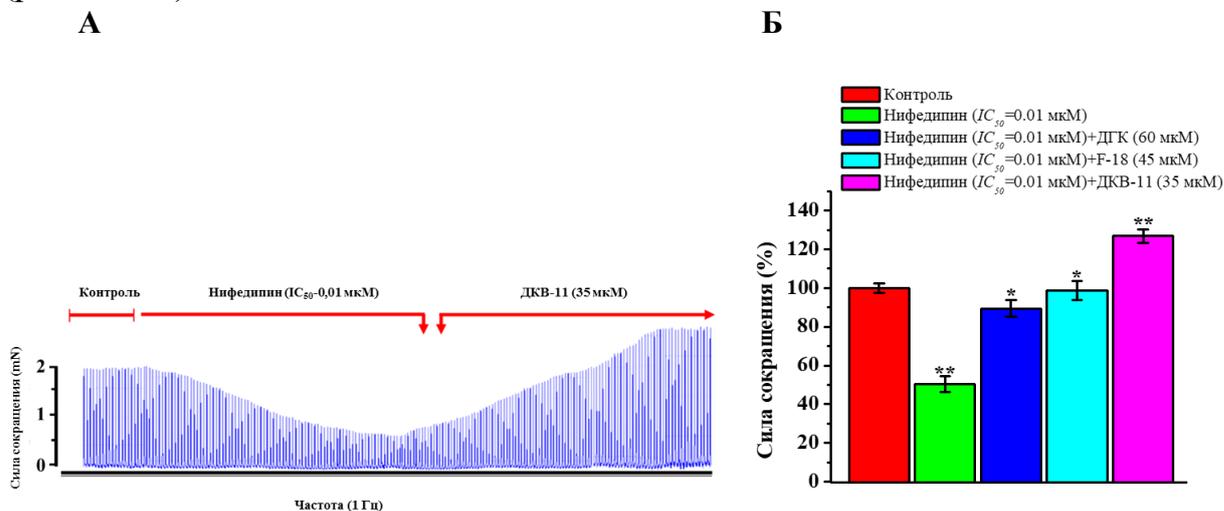


Рис. 3. А. Оригинальная запись влияние конъюгата ДКВ-11 на силу сокращения папиллярных мышц сердца крысы в присутствии нифедипина. Б. Влияние флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11 на силу сокращения папиллярной мышцы крысы в присутствии нифедипина в среде. По оси ординат - сила сокращения, выраженная в процентах (%). Во всех случаях * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; $n=5$.

Результаты экспериментов выполненные в присутствии нифедипина, показывают, что положительный инотропный эффект ДГК, F-18 и конъюгата ДКВ-11 снижается по сравнению с контролем, что может свидетельствовать об участии Ca^{2+}_L -каналов кардиомиоцитов в положительном инотропном действии изученных БАВ.

Важную роль в поддержании Ca –гомеостаза в кардиомиоцитах играет Na^+/Ca^{2+} -обменник, благодаря которому выводится $\approx 30\%$ ионов Ca^{2+} из миоцитов во время диастолы. Однако в условиях блокирования Na^+/K^+ -АТФазы Na^+/Ca^{2+} -обменник может функционировать в обратном режиме и повышать внутриклеточную концентрацию (Ca^{2+})_i, что может способствовать развитию положительного инотропизма.

Учитывая вышесказанное, в следующих экспериментах было изучено влияние неспецифического блокатора Na^+/Ca^{2+} -обменника $NiCl_2$ на положительный инотропный эффект исследуемых соединений. При этом было обнаружено, что в присутствии – 10мМ $NiCl_2$ положительное инотропное действие ДГК (60 мкМ), F-18 (45 мкМ) и ДКВ-11 (35 мкМ) уменьшается на $23,3\pm 2,9\%$, $51,2\pm 4,7\%$ и $27,6\pm 3,5\%$ от контроля, соответственно. При этом в присутствии 10мМ $NiCl_2$ положительный инотропный эффект алкалоида F-18 снижался более выраженно (рис. 4).

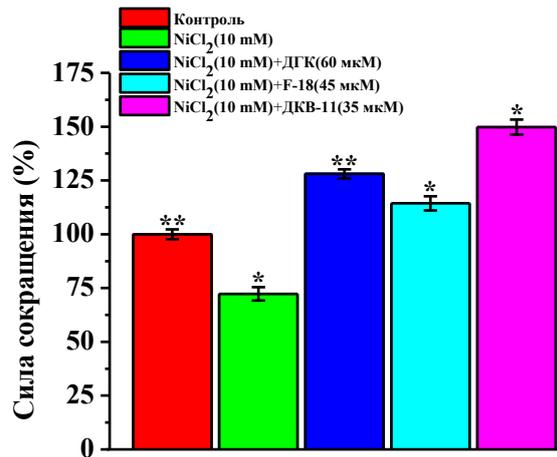


Рис. 4. Влияние ДГК, F-18 и ДКВ-11 на силу сокращения папиллярной мышцы крысы в присутствии NiCl₂. По оси ординат – сила мышечного сокращения в процентах. Во всех случаях (**p<0,05; n=5). Частота стимуляции препарата - 1 Гц.

Результаты проведенных исследований показывают, что участие Na⁺/Ca²⁺-обменника в обеспечении положительного инотропного эффекта более выражено у алкалоида F-18 по сравнению с ДГК и ДКВ-11.

Важную роль в обеспечении функциональной активности кардиомиоцитов играет Na⁺/K⁺-АТФаза с дисфункцией которой тесно связаны различные патологии сердца (Dongdong Chen, 2014). В частности установлено, что при сердечной недостаточности функциональная активность Na⁺/K⁺-АТФазы снижается до 40%, что приводит к нарушению градиентов ионов K⁺ и Na⁺ на мембране кардиомиоцитов и снижению сократительной активности сердечной мышцы (Keld Kjeldsen, 2003). Для коррекции функции Na⁺/K⁺-АТФазы широко используются сердечные гликозиды, такие как оубаин и дигоксин, которые являются ингибиторами Na⁺/K⁺-АТФазы. Эти ингибиторы приводят к накоплению избытка ионов K⁺ вне клетки и избытка ионов Na⁺ внутри клетки. Накопление ионов Na⁺ внутри клетки влияет на градиент концентрации, что обычно приводит к активации Na⁺/Ca²⁺-обменника в режиме обратной реверсии в результате которой он выводит ионы Na⁺ из клетки, в то время как ионы Ca²⁺ входят в клетку, что приводит к увеличению сократительной активности сердца (Gordon M., 2001).

В наших контрольных экспериментах на папиллярной мышце крысы оубаин вызывал положительный инотропный эффект и увеличивал силу сокращения при концентрации 20 мкМ на 54,3±3,2%, относительно контроля (рис. 5, А).

Для оценки роли Na⁺/K⁺-АТФазы в положительном инотропном действии исследуемых соединений их эффекты были изучены в присутствии оубаина. В этих экспериментах предварительная инкубация папиллярной мышцы с оубаином (20 мкМ) сопровождалась увеличением силы сокращения мышцы на 54,7% (рис. 5,А). При добавлении ДГК (60 мкМ), F-18 (45 мкМ) и ДКВ-11 (35 мкМ) на фоне оубаина (20 мкМ) сила сокращения

мышцы дополнительно увеличивалась на $21,7 \pm 2,7\%$, $27,2 \pm 3,3\%$ и $43,8 \pm 4,6\%$, соответственно (рис. 5, Б).

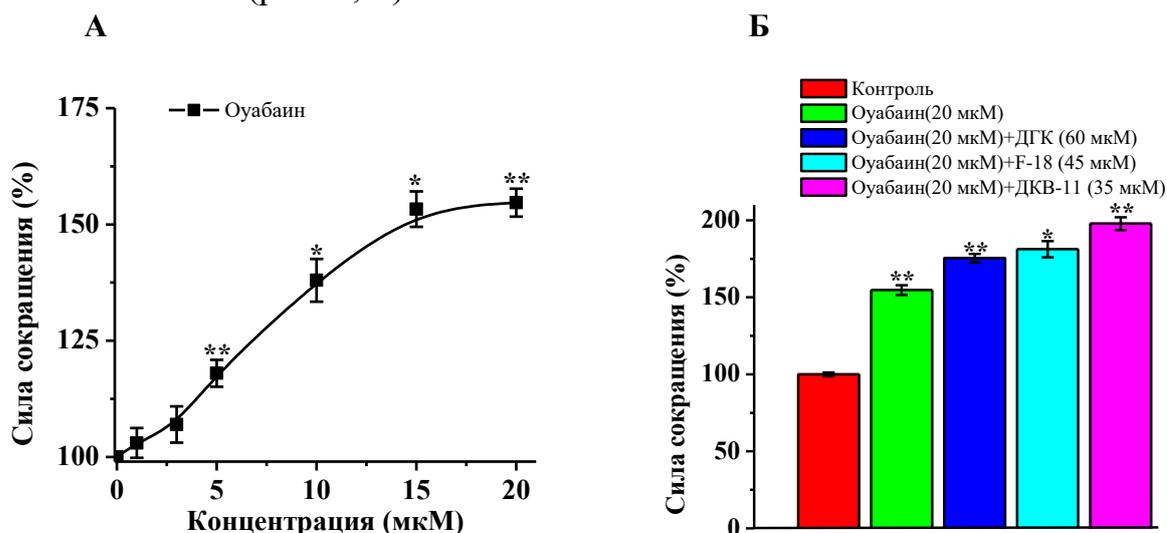


Рис. 5. А. Дозозависимое влияние оуабаина на сократительную активность папиллярной мышцы крысы. По оси ординат - сила сокращения мышцы, выраженная в процентах (%) от максимума, по оси абсцисс - концентрация оуабаина (мкМ) (*- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$). Частота стимуляции 1 Гц ($t = +36 \pm 0,5^\circ\text{C}$); $n = 4$. **Б. Влияние ДГК, F-18 и ДКВ-11 на силу сокращения папиллярной мышцы крысы в присутствии оуабаина.** По оси ординат - сила сокращения мышцы в процентах. Во всех случаях *- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; $n = 5$. Частота стимуляции препарата - 1 Гц.

Учитывая, то что положительный инотропный эффект оуабаина обусловлен увеличением поступления ионов Ca^{2+} посредством $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника, в результате его реверсии в обращенный режим работы при ингибировании Na^+/K^+ -АТФазы, можно предположить, что положительный инотропный эффект ДГК, F-18 и ДКВ может обеспечиваться за счет ингибирования Na^+/K^+ -АТФазы.

Важную роль в поддержании Ca^{2+} гомеостаза в кардиомиоцитах играют АТФ-чувствительные калиевые ($\text{K}_{\text{АТФ}}$) каналы, которые контролируя мембранный потенциал участвуют в регуляции активности потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов сарколеммы и Ca^{2+} -транспортирующих систем СР (Schlichter L. et al., 1993). Установлено, что эти каналы играют ведущую роль в активации механизмов, оптимизирующих метаболические процессы и энергозатраты миокарда, снижающих скорость распада АТФ и уменьшающих частоту сердечных сокращений, тем самым защищая от ишемической болезни сердца (Garvan С. Кейн и др., 2005). Учитывая вышеизложенное, нами было исследовано влияние изучаемых соединений на $\text{K}_{\text{АТФ}}$ -каналы сарколеммы. в присутствии их активатора никорандила. Активация $\text{K}_{\text{АТФ}}$ -каналов никорандилом вызывает снижение мембранного потенциал кардиомиоцитов [Takeshi Iwai и др., 2002], что приводит к уменьшению поступления ионов Ca^{2+} - через потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы и уменьшению силы сокращения миокарда на $43,7\%$ (рис. 6, А).

Как показали результаты этих экспериментов добавление ДГК (60 мкМ), F-18 (45 мкМ) и ДКВ-11 (35 мкМ) в присутствии никорандила (100 мкМ)

сопровождалось увеличением силы сокращения папиллярной мышцы крысы на $69,3\pm 3,3\%$, $60,5\pm 4,8\%$ и $84,5\pm 3,1\%$, соответственно, относительно контроля (рис. 6, Б). Полученные результаты свидетельствуют о том, что в обеспечении положительного инотропного эффекта флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11 возможно участвуют K_{ATP} -каналы.

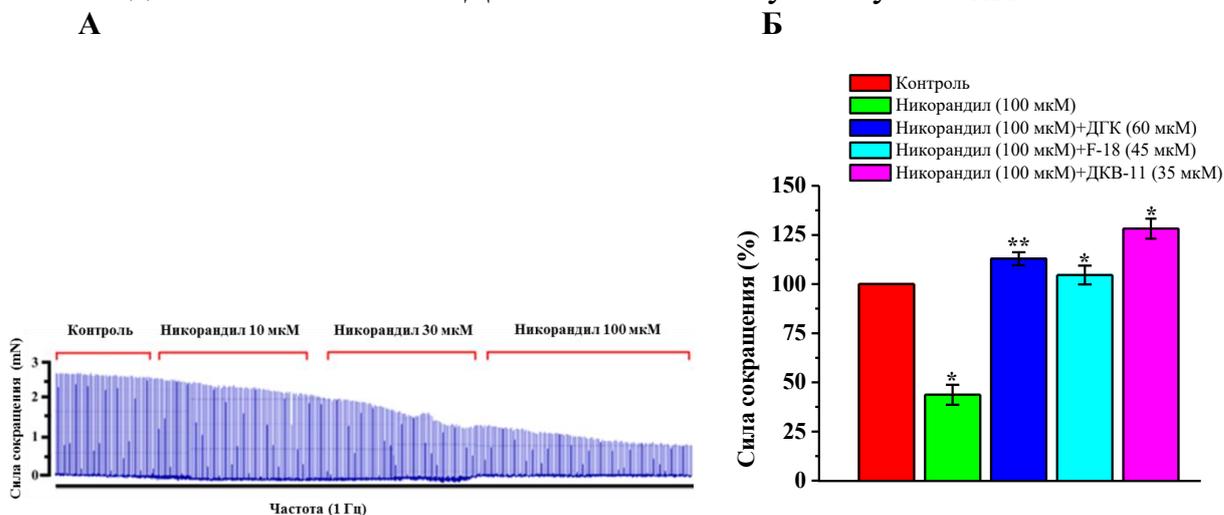


Рис.6. А. Дозозависимое влияние никорандила на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы (оригинальная запись). Б. Влияние ДГК, F-18 и ДКВ-11 на силу сокращения папиллярных мышц в присутствии никорандила. По оси ординат - сила сокращения мышц в процентах. Во всех случаях *- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; $n=5$. Частота стимуляции препарата - 1 Гц.

Положительный инотропный эффект большинства фармакологических средств обеспечивается через активацию β_2 -адренорецепторов (β_2 -АР) и аденилатциклазы (АЦ) в кардиомиоцитах. Активация этих систем сопровождается увеличением концентрации циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), который активирует Ca^{2+} -каналы L-типа и Ca^{2+} -транспортные системы СР обеспечивает увеличение концентрации ионов Ca^{2+} в кардиомиоцитах (Dirk von Lewinski, et.al., 2005). Учитывая это нами была изучена роль β_2 -АР в положительном инотропном эффекте исследуемых соединений. Эти эксперименты были проведены в присутствии пропраналола- специфического блокатора β_2 -АР (Nobeom Lee, et al., 2010). Как показывают результаты этих экспериментов в присутствии пропраналола (10 мкМ) при добавлении ДГК (60 мкМ), F-18 (45 мкМ) и ДКВ-11 (35 мкМ) сила сокращения папиллярной мышцы составляла $68,4\pm 3,3\%$, $74,6\pm 4,7\%$ и $87,8\pm 3,5\%$ соответственно (табл. 1).

Значительное снижение положительного инотропного действия ДГК, F-18 и ДКВ-11 в условиях блокады β_2 -АР указывает на то, что оно обусловлено активацией сигнальной системы β_2 -АР-АЦ-цАМФ, что обеспечивает увеличение поступления ионов Ca^{2+} в кардиомиоцит через Ca^{2+} -каналы L-типа. Эти данные могут свидетельствовать о том, что в основе положительного инотропного эффекта изучаемых соединений, может лежать активация сигнальной системы β_2 -АР-АЦ-цАМФ сопровождаемая увеличением концентрации $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах.

Таблица 1

Влияние блокады β -адренорецепторов на положительный инотропный эффект препаратов ДГК, F-18 и ДКВ-11

Условия эксперимента	Амплитуда сокращения (%)			
	Контроль	ДГК (60 мкМ)	F-18 (45 мкМ)	ДКВ-11 (35 мкМ)
Пропранолол (10 мкМ)	62,5±3,2%	** 68,4±3,3% (n=5)	* 74,6±4,7% (n=5)	** 87,8±3,5% (n=6)

Примечание: сила сокращения папиллярной мышцы крысы выражена в процентах (%) от контроля, принятого за 100%. Частота стимуляции составляла 1 Гц (*- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; n = 5-6).

Важную роль в поддержании Ca^{2+} - гомеостаза и процессах сокращения и расслабления клеток сердечной мышцы играют Ca^{2+} -транспортирующие системы СР (RyR и Ca^{2+} -АТФаза). RyR представляет собой Ca^{2+} -канал в мембранах СР, который активируясь ионами Ca^{2+} поступающими через Ca^{2+}_L -каналы обеспечивает высвобождение ионов Ca^{2+} из СР в цитозоль, необходимых для запуска процесса сокращения сердечной мышцы. Процесс расслабления сердечной мышцы обеспечивают Ca^{2+} -АТФаза СР (SERCA2a) и Na^+/Ca^{2+} -обменник плазмолеммы, которые закачивая ионы Ca^{2+} в СР и вынося их из кардиомиоцита обеспечивают восстановление концентрации ионов Ca^{2+} в цитозоле до уровня покоя. Учитывая важную роль RyR и Ca^{2+} -АТФазы СР в регуляции сократительной активности сердечной мышцы нами была изучена их возможная роль в положительном инотропном действии ДГК, F-18 и ДКВ-11.

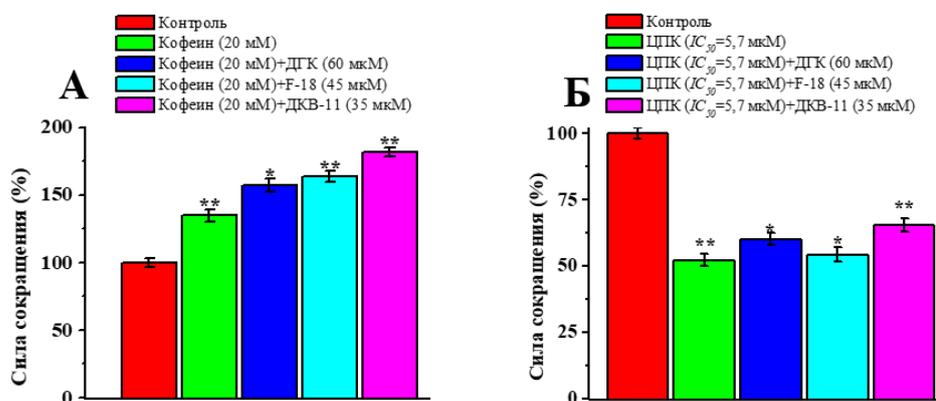


Рис. 7. А. Влияние ДГК, F-18 и ДКВ-11 на одиночные сокращения папиллярной мышцы индуцируемые активатором RyR2 СР – кофеином (20 мМ). По оси ординат - сила сокращения папиллярной мышцы, выраженная в процентах от максимального значения, принимаемого за 100%. Частота стимуляции 1 Гц ($t=+36\pm 0,5^\circ C$). * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ (n=5). Б. Влияние F-18 (45 мкМ), ДГК (60 мкМ) и ДКВ-11 (35 мкМ) на силу сокращения папиллярных мышц в присутствии в инкубационной среде блокатора Ca^{2+} -АТФазы - циклопиазоновой кислоты ($IC_{50}=5,6$ мкМ). По оси ординат - сила сокращения папиллярных мышц выражена в процентах (%). Частота стимуляции – 1 Гц ($t=+36\pm 0,5^\circ C$; - $p < 0,05$; n=5).

Эти эксперименты выполнялись в условиях активации $RyR2$ – кофеином и частичной блокады $SERCA2a$ - циклопиазоновой кислотой (ЦПК). В экспериментах с кофеином (20 мМ) его аппликация на папиллярную мышцу крысы в условиях отсутствия стимуляции вызывала одиночное сокращение амплитудой 150%. При аппликации кофеина (20 мМ) на мышцу проинкубированную с 60 мкМ ДГК, 45 мкМ F-18 и 35 мкМ ДКВ-11 наблюдалось увеличение амплитуды одиночного сокращения мышцы на $22,3 \pm 4,8\%$, $28,6 \pm 3,6\%$ и $46,8 \pm 3,3\%$, соответственно (рис. 7А). Результаты этих экспериментов показывают, что увеличение амплитуды одиночного сокращения папиллярной мышцы индуцированного кофеином в присутствии изучаемых соединений может быть обусловлено увеличением концентрации ионов Ca^{2+} высвобождаемых из СР.

Это предположение находит подтверждение в экспериментах с ингибитором $SERCA2a$ циклопиазоновой кислотой (ЦПК). В этих экспериментах предварительная инкубация препаратов папиллярной мышцы с ЦПК в концентрации ($IC_{50}=5,7$ мкМ) приводила к уменьшению силы сокращения мышцы индуцируемая ДГК, F-18 и ДКВ-11 составляла $91,2 \pm 2,3\%$, $111,4 \pm 2,7\%$ и $112,1 \pm 2,5\%$, соответственно. (Рис 7Б). Эти данные могут свидетельствовать о том, что исследуемые соединения ДГК, F-18 и ДКВ-11 могут вызывать дополнительное накопление ионов Ca^{2+} в СР активируя $SERCA2a$ и тем самым увеличивать силу мышечного сокращения.

В четвертой главе диссертации «Характеристика кардиопротекторной активности ДГК, F-18 и ДКВ-11» оценена кардиопротекторная активность алкалоида F-18, флавоноида ДГК и конъюгата ДКВ-11 *in vitro* при гипоксии и на модели окислительного стресса. Модели гипоксии и окислительного стресса получали путем перфузии препарата папиллярной мышцы сердца крысы раствором Кребса аэрируемым смесью 95% $N_2/5\%$ CO_2 и добавлением перекиси водорода, соответственно в среду инкубации (Sato K., et al., 2014; Goldhaber J.I., et al., 1994) (рис. 8, А, Б).

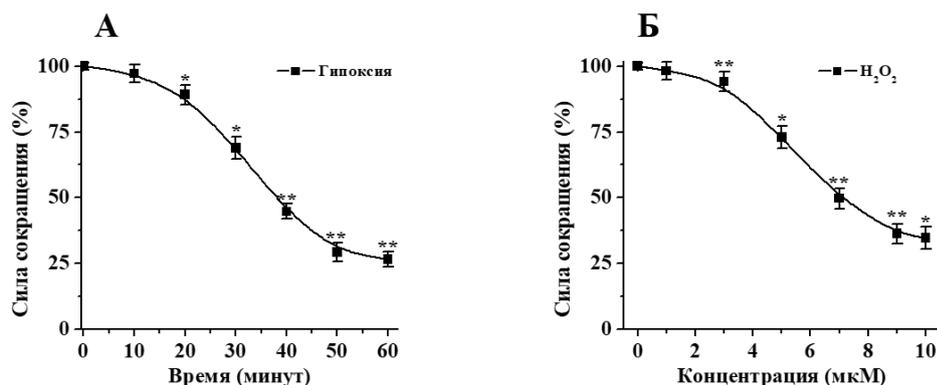


Рис. 8. Влияние гипоксии и H_2O_2 на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы. А. По оси ординат - сила мышечного сокращения, контрольная, полученная в условиях нормальной оксигенации раствора Кребса, выражена в процентах и принята за 100%. По оси абсцисс - время перфузии препаратов раствором Кребса аэрируемым смесью 95% $N_2/5\%$ CO_2 . **Б.** Дозозависимое влияние H_2O_2 на сократительную

активность папиллярной мышцы. По оси ординат - сила сокращения, выраженная в процентах (%) от максимума, по оси абсцисс - концентрация H_2O_2 (мкМ) (*- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$). Частота стимуляции - 1 Гц, $t = +36 \pm 0,5^\circ C$; $n = 5$.

Как можно видеть на Рис.8 развитие гипоксии и окислительного стресса сопровождается существенным подавлением силы сокращения папиллярной мышцы крысы. При этом при перфузии препарата папиллярной мышцы раствором Кребса, аэрируемого смесью 95% $N_2/5\% CO_2$ в течении 1 часа сила сокращения мышцы уменьшалась на 73,6 % (рис. 8, А). Такое снижение сократительной активности сердечной мышцы в условиях гипоксии обусловлено серьезными повреждениями в метаболизме и механизмах функционирования ион-транспортирующих систем и сократительного аппарата кардиомиоцитов (Chjanxao Su и др., 2021).

При изучении эффектов исследуемых соединений в условиях гипоксии было обнаружено, что при предварительной инкубации препаратов папиллярной мышцы с ДГК (60 мкМ), F-18 (45 мкМ) и ДКВ-11 (35 мкМ) подавление силы сокращения папиллярной мышцы вызываемое гипоксией уменьшалось на $25,8 \pm 2,1\%$, $34,4 \pm 3,6\%$ и $62,4 \pm 4,3\%$, соответственно (рис. 9, А). Результаты этих экспериментов показывают, что исследуемые соединения эффективно предотвращают нарушения сократительной активности папиллярной мышцы, вызываемые гипоксией, что свидетельствует о их кардиопротекторном потенциале.

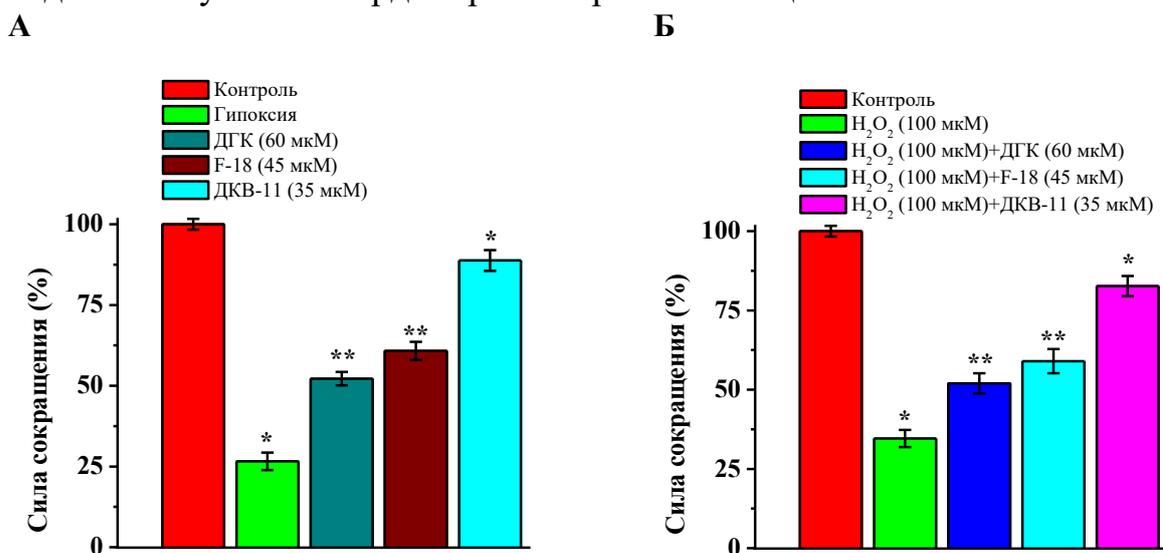


Рис. 9. Влияние ДГК, F-18 и ДКВ-11 на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы в условиях гипоксии (А) и окислительного стресса (Б). По оси ординат - сила сокращения мышцы выраженная в процентах. Частота стимуляции - 1 Гц ($t = +36 \pm 0,5^\circ C$). * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ ($n = 5$).

При внесении в среду инкубация препарата папиллярной мышцы крысы 100 мкМ H_2O_2 сила сокращения мышцы уменьшалась на 65,4% от контроля. Добавление в этих условиях флавоноида ДГК (60 мкМ), алкалоида F-18 (45 мкМ) и конъюгата ДКВ-11 (35 мкМ) приводило к увеличению силы сокращения папиллярной мышцы на $18,6 \pm 3,2\%$, $24,8 \pm 3,8\%$, и $48,3 \pm 3,6\%$, соответственно (рис. 9, Б).

Результаты этих экспериментов показывают, что флавоноид ДГК, алкалоид F-18 и конъюгат ДКВ-11 способны эффективно устранять нарушения сократительной активности папиллярной мышцы сердца крысы вызываемые гипоксией и окислительным стрессом. Анализ эффектов изученных соединений показал, что более выраженным протекторным действием в условиях гипоксии и окислительного стресса обладает конъюгат ДКВ-11. Это по-видимому объясняется появлением синергизма в действии при формировании конъюгата флавоноида ДГК с алкалоидом F-18.

Установлено, что АТФ-зависимые К⁺- каналы (K_{ATP}) кардиомиоцитов и митохондрий играют важную роль в механизме кардиопротекции в условиях ишемического повреждения сердца. В частности, показано, что активация K_{ATP}-каналов при ишемической болезни сердца может минимизировать повреждение клеток, вызванное ишемическими или метаболическими проблемами. Поэтому, в последние годы большое внимание уделяется разработке новых подходов фармакологической или физиологической активации K_{ATP}-каналов с целью улучшения работы сердца при различных патологиях.

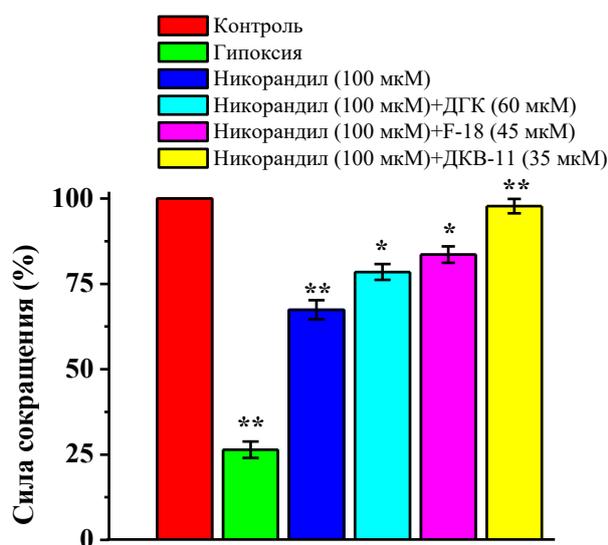


Рис. 10. Влияние флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11 на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы на фоне никорандила в условиях гипоксии. По оси ординат сила сокращения папиллярной мышцы выражена в процентах от контроля принятого за 100%. Частота стимуляции препарата - 1 Гц. Во всех случаях * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ ($n=5$).

Учитывая это, нами была исследована роль K_{ATP}-каналов кардиомиоцитов в эффектах флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11 на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы в условиях гипоксии. В этих экспериментах использовали селективный активатор K_{ATP}-каналов никорандил, который в условиях гипоксии на 40 % уменьшал повреждающее действие гипоксии на силу сокращения папиллярной мышцы крысы (рис.10). Этот эффект никорандила связан с наличием в его составе амидного остатка никотиновой кислоты, который

может обеспечивать активацию K_{ATP} -каналов, сопровождаемую оптимизацией транспорта ионов Ca^{2+} в кардиомиоцитах [Yasuxide Vatanabe 2019]. Вместе с тем этот эффект никорандила связан с увеличением продукции оксида азота, который расширяя коронарные сосуды может нормализовать сократительную активность сердечной мышцы без увеличения потребности миокарда в кислороде [Marek A. Deja и др., 2006]. Учитывая вышеизложенное, можно предположить, что протекторное действие исследованных нами соединений на сокращение папиллярных мышц в условиях гипоксии, может обеспечиваться механизмом, аналогичным таковому никорандила. Для проверки этого предположения были проведены сравнительные исследования эффектов флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11, на сокращения папиллярной мышцы крысы в условиях гипоксии в присутствии никорандила. Как показали результаты этих исследований при предварительной инкубации препарата папиллярной мышцы крысы с никорандилом эффект гипоксии на силу сокращения мышцы уменьшается на 38,7% (рис.10). При добавлении флавоноида ДГК (60 мкМ), алкалоида F-18 (45 мкМ) и конъюгата ДКВ-11 (35 мкМ) в среду инкубации в присутствии никорандила, повреждающий эффект гипоксии на силу сокращения папиллярной мышцы уменьшался на $49,8 \pm 2,4\%$, $54,9 \pm 2,2\%$ и $69,1 \pm 3,1$ соответственно (рис. 10).

Результаты этих исследований показывают, что флавоноид ДГК, алкалоид F-18 и конъюгат ДКВ-11 более эффективно предотвращают повреждения сократительной активности папиллярной мышцы вызываемые гипоксии в присутствии никорандила, чем при его отсутствии (рис.9А). Эти результаты свидетельствуют о том что, флавоноид ДГК, алкалоид F-18 и конъюгат ДКВ-11 обладают кардиопротекторным действием, которое может обеспечиваться модуляцией активности K_{ATP} -каналов кардиомиоцитов.

В целом данные полученные в процессе реализации диссертационной работы, свидетельствуют о том, что флавоноид ДГК, алкалоид F-18 и конъюгат ДКВ-11 обладают положительным инотропными и кардиопротекторным действием, которое более выражено у конъюгата ДКВ-11. Механизм положительного инотропного действия флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11 имеет комплексный характер в основе которого лежит модуляция активности Na^+/K^+ -АТФазы и Na^+/Ca^{2+} -обменника, а также β_2 -АР-АЦ-цАМФ сигнального каскада и $RyR2$ СР обеспечивающих увеличение $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах и рост силы сокращения сердечной мышцы. Кардиопротекторный эффект флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11 может быть обусловлен модуляцией активности β_2 -АР-АЦ-цАМФ сигнального каскада, Ca^{2+} АТФазы СР и K_{ATP} -канала, а также, наличием у дигидрокверцетина антиоксидантной активности, которые совместно нормализуя $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах могут оптимизировать сократительную активности сердечной мышцы.

ВЫВОДЫ

1. Обнаружено, что флавоноид дигидрокверцетин (ДГК), изохинолиновый алкалоид F-18 и полученный на их основе конъюгат ДКВ-11 обладают выраженным положительным инотропным эффектом.

2. Установлено, что положительный инотропный эффект флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11 в основном обеспечивается благодаря модуляции функций Na^+/K^+ -АТФазы и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника, сопровождаемой увеличением $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах.

3. Показано, что активация $\beta 2$ -АР-АЦ-цАМФ сигнального каскада и рианодинового рецептора (RyR2) саркоплазматического ретикулума также вносят определенный вклад в обеспечение положительного инотропного эффекта флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11.

4. Установлено, что на *in vitro* модели гипоксии флавоноид ДГК, алкалоид F-18 и конъюгат ДКВ-11 эффективно предотвращают нарушения сократительной активности папиллярной мышцы сердца крысы, вызванные гипоксией, указывая о их кардиопротекторном потенциале.

5. Показано, что кардиопротекторный эффект флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11 может быть обусловлен модуляцией активности $\beta 2$ -АР/АЦ/цАМФ сигнального каскада, Ca^{2+} АТФазы СР и $\text{K}_{\text{АТФ}}$ -канала, а также, наличием у дигидрокверцетина антиоксидантной активности, которые совместно нормализуя $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах могут оптимизировать сократительную активность сердечной мышцы.

6. Данные о механизме инотропного и кардиопротекторного действия флавоноида ДГК, алкалоида F-18 и конъюгата ДКВ-11 могут служить теоретической основой при разработке научно обоснованного подхода создания нового поколения эффективных и кардиопротекторных препаратов для профилактики и лечения гипоксических повреждений сердца.

**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

RUSTAMOV SHAVKAT YUSUBOVICH

**EVALUATION OF THE CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF THE
COMPLEX OF DIHYDROQUERCETIN AND ALKALOID F-18**

03.00.02 – Biophysics and radiobiology

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

Tashkent– 2024

The dissertation of PhD has been registered with number B2021.4.PhD/B296. at the Supreme Attestation Commission at the Ministry of higher education, science and innovations of the Republic of Uzbekistan.

The dissertation has been prepared at the Institute of Biophysics and biochemistry of the National University of Uzbekistan.

The abstract of the dissertation in three (Uzbek, Russian and English (resume)) languages has been placed 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 supervisor:

Usmanov Pulat Bekmurotovich
doctor of biological sciences, professor

Official opponents:

Nasirov Kobil Erkinovich
doctor of biological sciences, professor
Xadjimetov Abdugafur Axatovich
doctor of biological sciences, professor

Leading organization:

Tashkent pediatric medical institute

The dissertation will be defended on _____ 2024 year __ at the meeting of the Scientific Council DSc.03/30.12.2019.B.01.13 at the Institute of Biophysics and Biochemistry, at the National University of Uzbekistan at the following address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Student's town, University st., 174. Phone: (99871) 246-68-96.

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of Institute of Biophysics and Biochemistry, at the National University of Uzbekistan (registration number № ____). Address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Student's town, University st., 174. Phone: (99871) 246-68-96. e-mail: ibb-nuu@mail.ru; mamurjon2281@mail.ru.

The abstract of the dissertation has been distributed on “ _____ ” _____ 2024.
(Protocol at the register № _____ dated « _____ » _____ 2024).



[Signature]
Saatov Tal'at Saatovich
Deputy Chairman of the Scientific Degrees awarding
Scientific Council D.BSc., academician

[Signature]
Pozilov Ma'murjon Komiljonovich
Scientific secretary of the Scientific Council Awarding
Scientific Degrees, D.B.Sc.

[Signature]
Axmedjanov Iskandar Gulyamovich
Chairman of the academic seminar under the
Scientific Council Awarding Scientific
Degrees, D.B. Sc., professor

INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

The aim of the research work is to evaluate of the cardioprotective effect of the flavonoid dihydroquercetine (DGQ), and isoquinoline alkaloid F-18 and their conjugate DKV-11.

The object of the research work: rat cardiac papillary muscles. flavonoid dihydroquercetine, isoquinoline alkaloid F-18, conjugate DKV-11.

The scientific novelty of the research is as follows:

for the first time it was found that flavonoid DGQ, isoquinoline alkaloid F-18 and conjugate DKV-11 have a positive inotropic activity;

The positive inotropic effect of flavonoid DGQ, alkaloid F-18 and conjugate DKV-11 is mainly provided due to the modulation of the functions of Na^+/K^+ -ATPase and $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -exchanger, as well as by activation of 2-AR/AC/cAMP signaling pathway and ryanodine receptor (RyR2) accompanied by an increase in $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in cardiomyocytes.

It was found that flavonoid DGQ, alkaloid F-18 and conjugate DKV-11 effectively prevents damages in the contractile activity of the papillary muscle of the rat heart caused by hypoxia in the in vitro model of hypoxia, indicating their cardioprotective potential.

Implementation of research results. Based on the scientific results obtained on the evaluation of the cardioprotective properties of the conjugate DKV-11 of flavonoid dihydroquercitin and alkaloid:F-18:

a patent for the invention of the Intellectual Property Agency of the Republic of Uzbekistan was obtained for the cardioprotector tool for the prevention and treatment of ischemic heart disease (No. IAP 06753. 2022). The result is 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-6-[1-(2'-bromo-4',5'-dimethoxyphenyl)-6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinolin-2(1N)-yl] methyl-3,5,7-trihydroxychroman-4-one (DKV-11) allowed to effectively eliminate damages in cardiac muscle contractile activity caused by hypoxia and oxidative stress;

Information on the effect of flavonoid dihydroquercitin, isoquinoline alkaloid F-18 and their conjugate was used to determine the biological effect in foreign scientific journals with high impact factor (Molecules) 2023 Jan; 28(2), Scopus CiteScore-6,7, Eksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya, 2023, 86(4), Scopus CiteScore-0,4 and Chemistry of Natural Compounds, 2023, 59(4), Scopus CiteScore-1, 4). As a result, it was possible to expand the existing ideas about the pharmacological and cardioprotective effect of isoquinoline alkaloid, flavonoid and their conjugate.

The size and structure of the dissertation. The composition of the dissertation consists of an introduction, 4 chapters, a final part, a conclusion, and a list of used literature. The volume of the dissertation was 102 pages.

E'LON QILINGAN ISHLAR RO'YXATI
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; part I)

1. Usmanov P.B., Jumayev I.Z., Rustamov Sh.Yu., Zaripov A.A., Esimbetov A.T., Zhurakulov Sh.N., Vinogradova V.I. The Combined Inotropic and Vasorelaxant Effect of DHQ-11, a Conjugate of flavonoid dihydroquercetin with isoquinoline alkaloid 1-aryl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline // Biomedical & Pharmacology Journal.–2021. –V.-14(2), –P. 651-661. (SCOPUS Cite Score 1.5)

2. Rustamov Sh.Yu., Jumayev I.Z., Boboev S.N., Ibragimov E.B., Usmanov P.B., Zhurakulov Sh.N. Description of the mechanism of positive inotropic action of the isoquinoline alkaloid F-18 // Online Journal of Cardiology Research & Reports. –2021. –V.5 № 3. –P.1-5. (ResearchGate IF-1.4)

3. Рустамов Ш.Ю., Жумаев И.З., Усманов П.Б., Жўрақулов Ш.Н. Дигидрокверцетин флавоноидининг инотроп таъсирини тавсифлаш // ҚарДУ хабарлари.– 2021. –V 3. № 49. –P. 26-31. (03.00.00., №11)

4. Rustamov Sh.Yu., Jumayev I.Z., Usmanov P.B., Zhurakulov Sh.N. Assessment of cardioprotective properties conjugate DKV-11 // Asian journal of Pharmaceutical and biological research – 2022. – V 11, № 3. –P. 20-29. (UIF IF-7.928, SJIF IF-4.465)

5. Рустамов Ш.Ю., Жумаев И.З., Хасанов Э.Ф., Усманов П.Б., Жўрақулов Ш.Н. 1-арил-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин алкалоидининг мусбат инотроп таъсир механизмини баҳолаш // Инфекция, иммунитет и фармакология. Тош. –2023. –V.2. –P. 43-51. (03.00.00., №7)

6. Усманов П.Б., Жўрақулов Ш.Н., Жумаев И.З., Рустамов Ш.Ю., Зарипов А.А., Есимбетов А.Т., Виноградова В.И., Сагдуллаев Ш.Ш. Кардиопротекторное средство / Патент UZ № IAP 06753.

II бўлим (II часть; part II)

7. Rustamov Sh.Yu., Jumaev I.Z., Qo'ldoshov Z.K., Boboyev S.N., Ibragimov E.B., Usmanov P.B., Zhurakulov Sh.N. Evaluation of the cardioprotective properties of the alkaloid F-18 *in vitro* hypoxia // Наука и инновации. – Международная конференция. –Тошкент, 26 ноября 2020. –P. 197-198.

8. Рустамов Ш.Ю., Жумаев И.З., Усманов П.Б., Жўрақулов Ш.Н. Дигидрокверцетин флавоноидининг мусбат инотроп таъсирида кардиомиоцит Ca^{2+} L-каналларининг ролини тавсифлаш // Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари. Ташкент, 18 мая. 2021. –P. 141-143.

9. Рустамов Ш.Ю., Жумаев И.З., Ибрагимов Э.Б., Усманов П.Б., Жўрақулов Ш.Н. Дигидрокверцетин флавоноидининг миокард қисқариш

фаоллигига инотроп таъсири баҳолаш. // Abu Ali Ibin Sino (avicenna) and innovations in modern pharmaceutics. Toshkent, May 20. 2021. –P. 277-278.

10. Усманов П.Б., Рустамов Ш.Ю., Зарипов А.А., Жумаев И.З. Механизм кардиопротекторного действия конъюгата флавоноида дигидрокверцетина и изохинолинового алкалоида 1-арил -6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина // Биофизика ва биокимё муаммолари – 2021. –илмий конференция Тошкент, 21 май 2021.–С. 120-121.

11. Rustamov S.Yu., Jumayev I.Z., Usmanov P.B., Zhurakulov Sh.N. The combined inotropic effect of DHQ-11, A conjugate of flavonoid dihydroquercetin with isoquinoline alkaloid 1-aryl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4- tetrahydroisoquinoline // Proceedings of III International Scientific and practical conference. – Rome, June 20-21. 2021. –P. 83-86.

12. Rustamov Sh.Yu., Jumayev I.Z., Usmanov P.B., Zhurakulov Sh.N. Demonstration of the mechanism of positive inotropic action under influencing of the isoquinolinealkaloid F-18 // Biology and Biotechnology of Microorganisms. – Tashkent, September 16-17. 2021. –P.94-95.

13. Rustamov Sh.Yu., Jumayev I.Z., Usmanov P.B., Zhurakulov Sh.N. Comparison of the inotropic effects of F-18 alkaloid and nifedipine on the contraction force of extracted rat papillary muscle // Proceedings of III International Scientific and practical conference. –Kharkiv,. October 3-5. 2021. –P. 190-192.

14. Rustamov Sh.Yu., Jumayev I.Z., Usmanov P.B., Zhurakulov Sh.N. Vinogradova V.I. Evaluation of the positive inotropic effect of DHQ-11 conjugate. // 14 th International Symposium on the Chemistry of natural compounds. Toshkent, October 7-8. 2021. –P.206.

15. Рустамов Ш.Ю., Усманов П.Б., Хасанов Э.Ф., Жўрақулов Ш.Н. 1-(2'-бром-4',5'-диметоксифенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин алкалоидининг кардипротектор хусусияти баҳолаш. // Янги Ўзбекистонда иммунофизиологиянинг муаммолари ва ривожланиш босқичлари –илмий амалий конф. –Тошкент, 10 май 2023. –P. 126-127.

16. Рустамов Ш.Ю., Жумаев И.З., Усманов П.Б., Жўрақулов Ш.Н. ДКВ-11 Конъюгатининг антигипоксанти таъсири // Биофизика ва биокимё муаммолари – 2023 илмий конференция материаллари. –Тошкент 19 май. 2023.–P. 182-183.

17. Рустамов Ш.Ю., Жумаев И.З., Усманов П.Б., Жўрақулов Ш.Н. F-18 алкалоидининг $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинуви тизими таъсир механизми баҳолаш // Актуальные проблемы развития биоорганической химии 13-14 ноября 2023. Ташкент. -С. 278-279.