

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС
ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ**

**М.УЛУҒБЕК НОМИДАГИ ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ**

БИОЛОГИЯ-ТУПРОҚШУНОСЛИК ФАКУЛЬТЕТИ

ТОҒАЕВ САЛИМЖОН ҚЎШАЕВИЧ

**ЮРАК ПАТОЛОГИЯСИДА БАЪЗИ УГЛЕВОД-ЛИПИД
КЎРСАТКИЧЛАРИГА ЭКЗИФЛОННИНГ
ТАЪСИРИНИ ЎРГАНИШ**

МАЛАКАВИЙ БИТИРУВ ИШИ

Илмий рахбар:
Биология фанлари номзоди, доцент
Умарова Гулбахор Базарбаевна

Ташкент – 2012

МУНДАРИЖА

1.	Кириш	3
2.	1. Адабиётлар шарҳи	4
	1.1. Липидларнинг перекисли оксидланиши натижасида эркин радикалларни ҳосил бўлиш механизми	
3.	1.2. Фитоэкдистероидларнинг умумий хусусиятлари.....	8
4.	1.3. Фитоэкдистероидларнинг тузилиши ва уларнинг моддалар алмашинувига таъсири.....	14
5.	2. Материаллар ва методлар	23
	2.1. Биоматериал тайёрлаш.....	
6.	2.1.1. Зардобни тайёрлаш	23
7.	2.1.2-Юрак ва жигар гомогенатини тайёрлаш	24
8.	2.2. Биокимёвий тадқиқотлар	24
	2.2.1. Умумий оксилни Лоури методи орқали аниқлаш.	
9.	2.2.2.Гликоген миқдорини аниқлаш..	25
	2.2.3. Пироузум кислота миқдорини аниқлаш.	26
	Калибрлаш эгри чизик қуриш.	
	2.2.4. Липидларнинг перекис оксидланиш тезлигини аниқлаш	28
	2.2.5.Олинган натижаларнинг статистик ишлов бериш усули	29
10.	3. Натижалар ва улар таҳлили	30
	3.1. Фитомажмуаларни углевод алмашинуви кўрсаткичларига таъсири.....	
11.	3.2. Умумий оксил таркибига фитомажмуаларни таъсири.....	30
12.	3.3. Фитомажмуаларни зардобдаги малон диальдегиди миқдорига таъсири.....	31
13.	Хулосалар.	32
14.	Фойдаланган адабиётлар рўйхати.....	33

КИРИШ

Мавзунинг долзарблиги: Ҳозирги замон тиббиётидаги энг актуал муаммолардан бири-турли патологик ҳолатлар, шу жумладан, турли юрак патологияларни самарали даволаш йўллари тадқиқ этиш ҳисобланади, чунки юрак патологияларда углевод-липидларнинг алмашинуви бузилиши катта аҳамиятга эга, ўз навбатида, булар юракнинг ишемик касаллиги, инфаркт, инсультлар каби қон-томир системаси касалликларига ўтиш хавфи нисбатда юқори.

Ҳар йили жаҳон бўйича инфарктдан 1млн. атрофида одам ҳалок бўлади. Касалликларнинг асосида кардиоцитларда деструктив жараёнлар фаолланиши кузатилади. Юрак патологиясини даволашда кардиоцитларда кечиб ўтадиган метабolik функционал ва таркибий ўзгаришларга чек қўядиган кардиоҳимоя дори воситалар қўлланилади, бу дори воситалар анча қиммат, чунки чет давлатларда ишлаб чиқарилади.

Шунинг учун ҳам юрак қон-томир касалликларни даволаш учун кардиопротектор таъсирига эга бўлган янги, эффектив, республикада чиқариладиган дори дармонларни излаб топиш зарур. Шу нуқтаи назардан охириги йилларда ўсимликлардан ажратиб олинadиган полифенол моддаларга қизиқиш кучли. Бу моддалар – биологик фаол, молекуласида икки ёки кўпроқ фенол гуруҳига эга моддалардир. Полифеноллар хилма – хил биологик активликка эга, паст токсикли. Улар тиббиётда таъсири кенг спектрга эга дори – дармон сифатида қўлланилади. Полифеноллар хилма – хил этиологияга эга юрак қон-томир патологиясини даволашда ҳам қўлланилади.

I.БОБ. Адабиётлар шарҳи

1.1. Липидларнинг перекисли оксидланиши натижасида

эркин радикалларни ҳосил бўлиш механизми

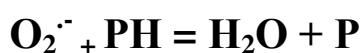
Биологик мембраналардаги липидларнинг таркибини ва сифатини бир меёрда ушлаб турилишини ва липид алмашинувини бошқариб турувчи икки тизим мавжуд: биринчиси микросомаларда жойлашган липидлар биосинтези тизимлари ва иккинчиси, турли биологик мембраналарда, шу жумладан митохондрия мембраналарида жойлашган липолитик энзимлар тизими. Липидларнинг перекисли оксидланиши ҳамма биологик мембраналарни тўсиқ, рецептор ва каталитик функцияларини зарарланишига, яъни бузилишига олиб келади. Липидларнинг перекисли оксидланиши натижасида биомембраналар зарарланиши учта асосий сабабларни айтиб ўтиш мумкин:

1. Мембранадаги фосфолипид таркибига кирувчи яримтўйинган ёғ кислоталарида гидроперекис гидрофил гуруҳини пайдо бўлиши ва натижада фосфолипид бикарбонати гидрофоблиги бузилиб, ионлар учун ўтказувчанликни ошириб кетиши (хусусан H^+ ва Ca^{2+} ионлари учун).
2. Липидларнинг перекисли оксидланиши натижасида малон диальдегидидек диальдегидларнинг пайдо бўлиши кўндаланг тикунви бифункционал реагентлар хусусиятига эга бўлади. Улар биомолекулаларни (мембрана оқсиллари ва липидларни) полимерланишига ва агрегацияга олиб келиши липосульфат бирикмалар ҳосил қилади.

Перекисли оксидланиш натижасида мембрана оқсилларининг аминокислоталари оксидланишга учраб, шу жумладан энзимларни фаол марказларининг оксидланиши уларнинг активликларини йўқолишига олиб келади. Эркин радикал деб, ташқи орбитал қаватида бир ёки бир неча тоқ электрони бўлган атом ёки молекулага айтилади. Мустахкам молекуладан эркин радикални ҳосил бўлишини, эркин ёки валентли орбиталда янги электронни пайдо бўлиши ёки аксинча, бир электрон жуфтлигидан чиқиб кетиши билан тушинтириш мумкин. Бу жараёнлар асосан, оксидланиш ёки қайтарилиш реакциялари натижасида рўёбга чиқади.

Кислород радикалларини ҳосил бўлиши ва ўзгариши радикаллари регенерация қонуниятига бутунлай бўйсунди. Шундай қилиб, диоксидни ёки унинг протонинли шакли гидроксиднинг ҳосил бўлиши биологик тизимларда кислород молекуласида бир электроннинг қайтарили натижасидир: $O_2^{+e} \rightarrow O_2 \rightarrow H^+ \rightarrow H_2O$

Хужайрада жуда оз миқдорда супероксид бўлиб, унинг физиологик ўрни ҳар хил биологик жараёнларда: лиоцитозда, дифференциацияда, фагоцитозда, сперматогенезда, мембраналар ўтказувчанлигини бошқариши, кўриш механизми, нерв қўзғалувчанлиги ва бошқаларнинг иштирок этиши билан белгиланади. Кислороднинг кимёвий хусусиятлари унинг атрофидаги қутудланишга боғлиқ. Шунга кўра, гидрофоб муҳитда-бу кучли асос (протонлар акцептори) нуклеофил ва қайтарувчи агент (боғловчи)дир. Супероксид бу ҳолатда оксидловчи агент сифатида фақат водород донори иштирокида ҳаракат қила олади (катехол, аскорбат ёки а-токоферол); ва оксидланишнинг эркин радикал механизми сифатида борса-эркин радикал оксидланишини ҳосил қилади:



Сувли эритмаларда кислороднинг асосий хусусиятлари ва нуклеофиллик худди оксидланиш хусусиятидек жуда пасайиб кетади. Шунда кислород қайтарувчи агент сифатида ўзини намоён қилади. Масалан, Fe^{3+} ни Fe^{2+} гача цитохром с актив марказида ва Si^{3+} ни Si^+ гача пластоционин актив марказида қайтаради. Бундан ташқари органик гидрофоб муҳитда кислороднинг агрессивлиги сувли муҳитга қараганда юқорироқ. Кислороднинг мембранага боғланган фермент тизимларида ҳосил бўлишини ҳисобга олган ҳолда, мембраналарнинг гидрофоб қаватида у эркин радикал оксидланишининг актив боғловчиси бўлиши мумкин деб фикр билдирса бўлади. Ҳақиқатдан ҳам, супероксид фосфолипид эфирларини карбонил боғларига, ёғ кислоталарини глицерин билан боғловчи боғларига нуклеофил таъсир эттириш орқали парчаловчи таъсир кўрсатади. Бундан ташқари, биомолекулаларни эркин радикал генерациясида иштирок этиш билан бирга,

кислород бошқа эркин радикаллар билан реакцияга киришиб молекуляр махсулотлар ҳосил қилади.(буни эркин радикаллар оксидланишини “узилиши” реакцияси д-ди), шунингдек дисмутация реакциясига киришиб, иккинчи кислород билан H_2O_2 ҳосил қилади, бу эса кислородни икки электронли қайтарилган шаклидир: $\text{O}_2^{\cdot-} + \text{O}_2^{\cdot-} + 2\text{H}^+ \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$

Ионнинг асосий манбаси бўлиб ксантооксидаза, митохондриал ва макросомал боғларни электрон узатилиши реакциялари хизмат қилади, шу билан бирга улар кислородни ҳам манбаидир. Шунингдек, хужайра гидроперекисини генерация қилувчи жой махсус ферментлар тутувчи пероксисомалар бўлиб, уни ҳосил қилувчи H_2O_2 каталаза ва пероксидазалар учун субстрат бўлиб ҳисобланади. H_2O_2 ни H_2O га ферментатив қайтарилиши субстрат оксидланиши билан бир қаватда юқори тезлик билан боради ва субстратларни кенг доирасини ўраб олади. Организмда H_2O_2 га таъсир қилувчи ферментларга мисол қилиб глутатионпероксидаза ва миелопероксидазани олиш мумкин. Улар қуйидаги реакцияларни катализлайди:



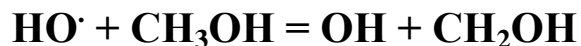
Водород пероксиди эркин радикаллар қаторига крмайди. У супероксидазаларга нисбатан стабил бўлиб, электрик заряди йўқ. Шу хусуиятларига кўра H_2O_2 молекуласи $\text{HO}^{\cdot}$, $\text{HO}_2^{\cdot}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$ -га нисбатан биологик мембраналар орқали эркин ўтиш имконини беради. Хужайра ичига кирган H_2O_2 темир ёки мис ионлари билан таъсирланиши ва гидроксил радикаллар ҳосил қилган ҳолда парчаланиши мумкин.



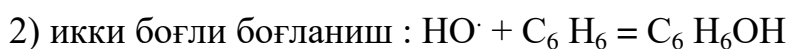
Бу реакцияни фентон реакцияси деб аталиб биологик тизимларда $\text{HO}^{\cdot}$ радикал ҳосил қилувчи юқори кимёвий активликка эга асосий реакциядир. Шу билан H_2O_2 ни заҳарли хусусияти тушунтирилади. $\text{HO}^{\cdot}$ радикали жуда

юқори кимёвий активликка эга бўлиб, турли бирикмаларга таъсир этади, хусусан, ёғлар, оксиллар, нуклеин кислоталарга ва углеводларга.

Гидроксил радикал таъсир қилувчи ҳамма реакцияларни 3 асосий турга бўлиш мумкин: 1) водород атомини узиш:



Бу тип реакцияларга НОни ёғ молекуласи занжиридаги тўйинмаган ёғ кислоталарга таъсирини айтиб, худди шу реакция биологик мембраналарда липидларнинг перекисли оксидланишини асосий механизми деб кўрсатиб мумкин.



НО· радикал нуклеин кислоталарнинг пурин ва пиримидин асослари билан таъсирланади.



НОдан H_2O_2 ва $\text{O}_2^{\cdot -}$ ҳосил бўлиш реакцияси (Хабар Вейс реакцияси) қуйидагича бўлади: $\text{O}_2^{\cdot -} + \text{H}_2\text{O}_2 = \text{OH}^- + \text{HO}\cdot + \text{O}_2$

Бу реакциялар оддий шароитларда кичик тезликка эга бўладиган НОни эффектив генерация қилиш мумкин эмас. Аммо, металллар асосан, Fe^{2+} иштирокида кескин активлаб кетади. $\text{O}_2^{\cdot -}$ ни вазифаси Fe^{3+} ни Fe^{2+} гача қайтаришдан иборат бўлиб, H_2O_2 ни Fe^{2+} иони иштирокида парчалаши натижасида эса бевосита НО· ҳосил бўлишидан иборат (Фентон реакцияси). Бошқа қайтарувчилар ҳам, масалан, аскорбат хужайра супероксид ўрнида катнашиб гидроксил радикал ҳосил қилади.

Супероксид ва гидропероксидга нисбатан активлиги паст бўлиб, ўзи ҳосил бўлган жойда силжиб $\text{OH}\cdot$ ни хужайранинг ҳар хил қисмларида регенирацияга келтириш мумкин. H_2O_2 бундан ташқари ҳамма хужайра мембраналари орқали енгиллик билан ўта олади, $\text{O}_2^{\cdot -}$ эса махсус каналлар орқали ҳаракат қилиши керак. Гидроксил радикал мембранани кесиб ўтмасданок, ўз йўлида учраган биринчи компонент билан реакцияга киришади.

Шундай қилиб кислороднинг ҳамма актив шакллари хужайрада эркин радикал оксидланишни рағбатлантиришда муҳим ўрин тутуди. Нуклеин кислоталарнинг эркин радикалли оксидланиши уларда узилишларга олиб келади, оксилларнинг эркин радикалли оксидланиши хужайраларда чоклар пайдо қилиб ферментатив бузулишларга олиб келади, углеводларнинг эркин радикалли оксидланиши уларни полимеризацияга олиб келади, ёғларнинг эркин радикалли оксидланиши, уларни перекисли оксидланишига ва деградациясига олиб келади.

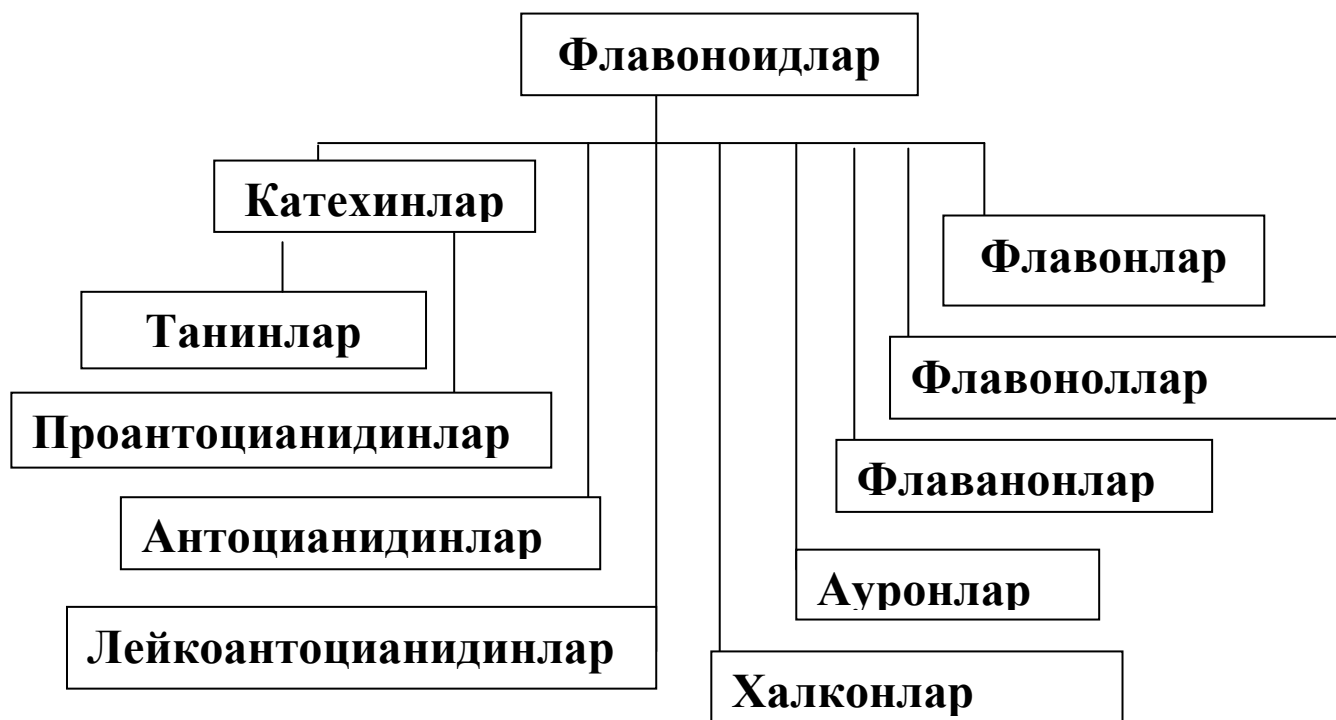
1.2. Фитоэкдистероидларнинг умумий хусусиятлари

Экдистероидлар полигидроксилланган стероид бирикмаларнинг катта гуруҳи бўлиб, ҳайвонот ва ўсимлик олами объектларида кенг тарқалган. Ажратиб олинган манбаига кўра, бу моддалар зоо- ва фитоэкдистероидларга бўлинади [1,31].

Фитоэкдистероидлар структурасига кўра, зооэкдистероидларга яқин ёки ўхшаш бўлади. Бу гуруҳнинг дастлабки вакиллари 1966 йилда ажратиб олинган ва экдистероидлар ўсимликлар оламида кенг тарқалганлиги тезда маълум бўлди. Ҳозирги вақтда 80 дан ортиқ оилага мансуб ўсимликларнинг [28] вегетатив органларидан (илдизи, пояси, баргларида) ажратиб олинган 150 дан ортиқ турли фитоэкдистероидлар мавжуд [8]. Бирикмалар одатда эркин ҳолатда олинади, экдистерон, экдизон, поностерон А, инокостерон, птеростерон, полиподин В ва циастерон тез-тез учрайди [16]. Фитоэкдистероидларнинг ўсимликлардаги биологик функцияси ҳали тўлиқ аниқланмаган, лекин уларнинг ўсимликхўр ҳашоротлардан [2,15] ҳимоя қилишдаги роли маълум, улар шунингдек, ўсимликлар ўсишининг регулятори ҳам ҳисобланади [28]. Ўсимликлардан ҳашоротлар гармонининг топилиши уларни кўплаб олишга имкон бериши ва одамда ҳамда бошқа сут эмизувчиларда уларнинг биологик активлигини ўрганиш мумкин бўлди. Экдистероидлар кенг кўламда қулай фармокологик (тонусни нормаллаштирувчи, адаптоген, антидиабетик, микробларга қарши ва бошқа) таъсир кўрсатиши аниқланган [10, 18, 22], бу эса таркибида экдистероидлар

бўлган айрим ўсимликлардан турли мамлакатлар халқ табобатида фойдаланишни билдиради.

Лекин бу моддалар, энг аввало, юксак ҳайвонлар организмида оксил синтезланиши жараёнини активлаштириш хоссаси билан қизиқарлидир. Улар таъсирида массаси оғирлашади (23), шунингдек, таркибида оксил кўпайиши билан юрак, буйраклар, жигар ва скелет мушаклари ҳам оғирлашади [7].



1 расм. Флавоноидлар классификацияси.

Альбуминлар ҳисобига ҳам қонда умумий оксил миқдорининг ортиб кетиши, каламушларда фитоэкдистероидлар таъсирида эритропоэз кучайиши ва гемоглабин даражаси ортиши [30] шунингдек, *in vitro* тажрибаларда одам териси фибробластларининг ва сут эмизувчилар гепатоцитларининг оксил синтезланиши кучайиши бир қанча ишларда аниқланган. Улардан фарқ қилиб, экдистероидлар специфик гормонал (адоптоген, тимолитик, антигонодотроп ва бошқа) самара бермайди [28]. Бу синфга мансуб бирикмалар сезиларли даражада гипогликемик таъсир кўрсатмайди [17, 30].

Улар каламушларда асосан оксил синтезланиши кучайиши ҳисобига аллоксан таъсирида пайдо бўлган гипергликемияни пасайтиради. Танага узок

вақт экистероидлар юборилса, юрак, жигар ва скелет мушакларидаги гликоген миқдори кўпайиб кетади, бу айниқса гликогенсинтетик жараёнлар билан кечадиган патологик ҳолатда кўпроқ кузатилади [30].

Экистероидларнинг липидлар алмашинувиға таъсири гипохолестерин гипотриглицерид ва антисклеротикларда самара беришдан намоён бўлади [22]. Экистероидларнинг липидларнинг пероксидли - оксидланиш жараёнларини ингибирлаш хоссаси ҳам маълум [5, 25]. Экистероидларнинг яна бошқа биологик самараси каламушларда церебрал ишемия туфайли қоннинг ёпишқоқлиги ортиши синдиномида фибролитик таъсир кўрсатишидан иборат [26]. Экспериментал миокардитни қайта тиклашда каламушларнинг юрак мушакларида экистероидлар таъсирида патологик ҳолатда аниқ ифодаланган ўзгариш бўлган [10], бу вақтда миокардда гликоген ва креатинфосфат миқдори нормал бўлиб турган [20]. Тажрибадаги миокард инфарктида танаға экистероидлар юборилса, некроз зонаси анчагина кичрайган, кейинчалик юракнинг зарарланган мушагида репаратив жараёнлар тезлашган [19]. Бунда антиаритмик таъсир намоён бўлган ва юрак қоринчаларида фибрилляция ривожланишининг олди олинган [12]. Миокард инфарктининг ўткир босқичидаги беморларда ҳам экистен яхши самара берган [38]. Индукционирланган глиотрин ва CCl_4 билан гепотитда экистероидларнинг гипотопротектор таъсири аниқланган, бу патологияда жигардаги дистрофик- некротик ўзгаришлар жигар ҳужайраларининг яхлитлиги ва функциясини тиклашға қаратилган репаратив жараёнларни тезлаштирувчи экистероидлар билан купирланган [21,32]. Экистероидларнинг ҳам интакт, ҳам ривожланган экспериментал гепатитли ҳайвонлар ўти (сафроси)нинг ажратмалари ва таркибига позитив таъсири аниқланган. Бунда холестерин миқдори кескин камаёди [11], билурибин алмашинуви ва ўт кислотаси синтези яхшиланади [6]. Экистероидлар меъда тўсатдан деструктив зарарланганда антиульцероген таъсир кўрсатган [23] ва тажрибада синган суяклар битишини тезлаштирган [32]. Баъзи тажрибаларда маълум бўлганидек, экистерон сичқонларда гексенал ва хлоральгидрат

таъсиридаги уйқунинг узоқлигини камайтиради [31], каламушларда шартли химоя рефлекс ҳосил бўлиши тезлашишига таъсир этади, ҳайвонларнинг динамик иш қобилиятини тезлаштиради ва классик стресс реакциясининг (инволяция, мимика- лимфатик аппарат, буйрак усти безлари гипертрофияси ва ҳ.к) ривожланишига тўсқинлик қилувчи хоссаларини яхшилади [29]. Б.Б. Кузьмицкий ва автордошлари маълумотига кўра [18], экдистероидларнинг иммунитетни кучайтирувчи активлиги аниқланган. Сичқонлар меъдасига бир суткада 5-10 мг-кг экдистерон юборилганда, Т-хужайралар иммунитетига ва фагоцитлар активлигига сусайтирувчи таъсир кўрсатганлиги, шу билан бирга гуморал иммунитетни кучайтирганлиги исботланган. Препарат талокдаги Ig М иммуноглобулинни синтезловчи антитела ҳосил қилувчи хужайралар (АОК) сонини кўпайтириб, антитела ҳосил бўлишини активлаштиради [24]. Экдистерон дозаси 20 мг- кг гача оширилганда, ҳам гуморал, ҳам хужайра иммунитетини тезлашган. Катта дозалари (50 мг-кг) иммунодепрессив самара берган [25]. Экдистероидларнинг иммуномодуловчи таъсири ҳақида Фамовска, Гао, Сергеевлар ҳам таъкидлаганлар [28,29].

Экдистероидларнинг юксак ҳайвонларнинг гормонал фонида таъсири тўғрисида маълумот кам. Маълумки, каламушлар танасига экдистерон юборилса, қонидаги самотроп гармон миқдорини жуда кам оширади, шунингдек, кортикостерон анчагина яққол кўпаяди ва пистерон ҳам кам ошади [28]. Узоқ вақт юборилганда эса тиреотроп гармоннинг эркин тироксини (T_4) ва инсулин миқдори кўпаяди [27]. Экдистеронлар тимуснинг массасини ошириши ҳам кузатилган, бу ҳам организм гормонал системасининг ҳолатига таъсир этади [9]. Экдистерон *in vitro* кератиноцитларининг дифференциациясига таъсир этади, одам киндик эндотелий хужайралари [26] ва остеобластсимон хужайралар пролиферациясини тезлаштиради. Айрим экдистероидлар (циастерон, туркестерон, экдисерон) каламушларда жароҳатнинг битишини тезлаштиради [31].

Экдистероидларнинг репродуктив система органларига таъсирини ўрганишда шу нарса маълум бўлди-ки, экдистерон сут эмизувчиларда жинсий ҳатти - ҳаракатни активлаштирар экан. Экдистерон диазепат ёки алкоголь таъсирида келиб чиқадиган амнезияда нерв системасининг ҳимоя механизмларини кучайтириши аниқланган. Экдистероидларнинг юксак ҳайвонларга нисбатан токсиклиги жуда пастлиги ҳам аниқланган. Сичқонлар танасига 500-2000 мг-кг дозада экдистерон юборилганда, унинг ташқи таъсирловчиларга нисбатан рефлектор қўзғалувчанлиги кучаяди. Экдистерон дозаси 3000-5000 мг-кг гача оширилганда, улар ланж бўлиб, биқинлари ичига тортилиб кетган, дум веналари кенгайиб, птоз бошланган, лекин улар нобуд бўлмаган [3]. Экдистероидларнинг айрим сут эмизувчилар (сичқон, каламушлар) организмидаги метобализминини ўрганиш натижасида шу нарса аниқланди-ки, улар организмида тез парчаланар экан. Экдистерон билан экдизоннинг фармакологиясини қон ва сийдик плазмасини радиоимунал мониторинг ёрдамида ўрганган P. Simon, J. Kool Man маълумотида кўра [31], экдистероннинг ярми организмдан чиқиб кетиши учун 9 соат, экдизон учун 4 соат вақт кетган. Сут эмизувчилар организмдан экдистероидлар чиқиб кетадиган асосий йул меъда-ичак тракти ва сийдик чиқариш йўлидир [32]. Жигар хужайралари экдистероидларни тутиб қолиб, ўт (сафро) га чиқаради.

Табиатда кенг тарқалган экдистероидлардан бири- экдистерон (кимёвий формуласи : 5β -холестерин-2 β , 3 β , 4 α , 20R, 25-гексал- 6-OH) *Rhaponticum carthamoides* (willd) дан ажратиб олинган. (*Iljin Leuzeae carthamoides* PC), асосида экдистен препарати ишлаб чиқилган. Ҳозирги вақтда экдистен таблеткаларидан тонусни адоптоген нормаллаштирувчи ва анаболический восита сифатида 0,05 г дан кенг фойдаланиш рухсат этилган. Экдистен кейинги йилларда клиника амалиётида кенг қўлланиладиган бўлди. У миокард инфарктини бошдан кечирган беморлар учун адаптоген восита сифатида ишлатилади. Экдистен уларнинг жисмоний ишчанлигини оширади [13, 30]. Препарат ИБСда миокарддаги метоболик жараёнлар ҳолатини билдирувчи кўрсаткичларни яхшилайдди, шунингдек, муайян касалликда

қийналинадиган марказий ва мия гемодинамикасини нормаллаштиради [29]. Экдистерон миокардиал ишемия, аритмия ва ангиокардиопатиянинг олдини олиш учун ҳам тавсия этилган [26]. Меъда ва ўн икки бармоқли ичак яраси бўлган беморларни даволашда экдистен анча истиқболли препарат ҳисобланади [27]. Нефрологик касалликларни даволашда ҳам экдистен яхши самара беради [24].

Ревматоид артрит билан касалланган беморлар экдистен қабул қилганда, аҳволи анча яхшиланган, бу эса препаратнинг липидларнинг пероксидли оксидланишига таъсирига боғлиқ. Молон диальдегиди, диен ва диен кетон конъюгатлари активлигининг камайиши ва антиоксидант системанинг нормаллашуви ҳисобига, клиникада қандли диабетли беморларда тажриба ўтказилганда, экдистерон диабетга қарши ораль восита сифатида самарали фойдаланилган [28]. Экдистерон тери касалликлари клиникасида фойдаланилганда у тери метобализмини активлаштириш, унинг қаришига тўсқинлик қилиш ва соч (тук) лар структурасини мустаҳкамлаши ҳақида маълумот олинган. Псориоз, куйиш ва бошқа яралар экдистерон билан даволанганда ҳам ижобий натижа олинган [24].

Экдистерон неврология амалиётида анальгетик сифатида ишлатилади, унинг одам Марказий асаб тизими (МАТ) учун ҳимоялаш хоссалари аниқланган [20]. Шундай қилиб, адабиётлар анализи шуни кўрсатди-ки, фитоэкдистероидлар кенг биологик активликка эга бўлган стероид структурали бирикмаларнинг ниҳоятда катта синфи эканлигини ва улар умуман нохуш қўшимча таъсир этмаслигини кўрсатди.

Илгари маълум бўлганидек, баъзи индивидуал фитоэкдистероидлар ва умумий экдистероид препаратлар тажрибадаги ҳайвонларнинг ишчанлиги (ҳаракати) ошишига таъсир этади, бу эса уларнинг мушак тўқималаридаги метаболик (энг аввало, оқсил синтезловчи) жараёнлар активлигига боғлиқ бўлади. Кейинги йилларда аниқланишича, экдистероидларга энг бой *Silene* туркуми ўсимликлари бўлиб, уларнинг таркибида жуда кўп бирикмалар бор,

улар гликозид (силенеозид) характерида бўлади ва моддалар алмашинувига ижобий таъсир кўрсатади.

Фитоэкдистероидларнинг ўсимлик ҳаётидаги аҳамияти ҳали тўлиқ аниқланмаган бўлиб, келтирилган маълумотларга кўра, улар ҳашоротлардан химоя қилиш вазифасини бажаради. Бу моддалар билан озиқланган ҳашоротларнинг организмида турли гормонал бузилишлар рўй бериши, ривожланишининг секинлашуви, авлодларнинг носоғлом туғилиши ва охир оқибатда ўсимликларга душман бўлган ҳашоротларнинг қирилишига олиб келади деб тахмин қилинади. Мисол учун игнабаргли ўсимлик – подокарпусга амалда ҳашоротлар хужум қилмайди ёки Кениядаги Шарқий Африка аюгаси чигирткалар хужумидан ҳоли бўлган ягона ўсимлик туридир. Иккала ўсимлик ҳам антифидантлик хусусиятига эга бўлиши билан бир қаторда ўз таркибида ҳашорот гормони – экдистероидлар сақлайди. Озмиқдордаги экдистероидлар ўсимликларга сезиларли физиологик таъсир кўрсатиб, уларнинг ўсиш, ғунчалаш, мева туғиш жараёнларини бошқаради. Экдистероидларнинг бир вақтда ҳам ҳашорот, ҳам ўсимлик таркибида учраши уларнинг озиқланиши билан боғлиқдир. Организмда холестерин ва мевалонат кислотасининг турли католитик реакциялари натижасида экдистероидларнинг ҳосил бўлиши тўғрисидаги тахминлар ҳозирги вақтга келиб ўз исботини топган [17,18,19].

1.3. Фитоэкдистероидларнинг тузилиши ва уларнинг моддалар алмашинувига таъсири

Экдистероидларнинг бошқа табиий стероидлардан фарқли равишда ҳайвонот дунёсидаги каби ўсимликлар оламида ҳам кенг тарқалиши уларнинг ўзига хос хусусиятларидан биридир. Ўсимликлар таркибидаги фитоэкдистероидлар стероидларга хос бўлмаган хусусияти - қутбсиз эритувчиларда яхши эримаслиги ва кристалланиш қобилиятининг сустлиги натижасида анча вақтгача аниқланмай келинди. Фақат 1966 йилга келиб япон олимлари ўсимлик таркибидан α - экдизонга ўхшаш моддани ажратганликлари тўғрисида хабар беришди. Фитоэкдистероидларнинг тадқиқ

килиш жараёнининг биринчи босқичларидаёқ молекуланинг энг муҳим тузилиш элементлари ҳисобланган гидроксил гуруҳлари бир-биридан ўзининг реакция қобилияти билан фарқ қилиши маълум бўлди.

Фитоэкдистероидларнинг биринчи вакиллари 1966 йилда К. Nakanishi ва автордошлари томонидан ажратиб олинган. Ҳозирги вақтда 120 га яқин фитоэкдистероидлар маълум. Улар 80 турдан ортиқ ўсимликларнинг [16,17] турли хил вегетатив органлари (илдиз, барг, тана қисми, гуллари, уруғлари) дан эркин ҳолатда бу бирикмалар ажратиб олинади. Уларнинг таниқли оксигуруҳлари – оддий ва мураккаб эфирлар ҳамда гликозид характерли бирикмалардир [1]. Фитоэкдистероидларнинг ўсимлик қуруқ массаси таркибидаги миқдори одатда 0,01- 0,1% ни ташкил этади, баъзи ҳолларда 1-2 % [15] ёки 2,9 % га ошиши мумкин.

Фитоэкдистероидларнинг тузилиши етарли даражадаги кўп сонли вариантларга эга бўлиб, уларни асосан қуйидагиларда кўрсатиш мумкин:

а) қайси стериндан келиб чиққанлигига қараб таркибидаги углерод скелетини тўлиқ сақлаган ҳолда С-27 (баъзан С-28, С-29) та углерод атомлари ёки реакциялар таъсирида ён занжирни парчаланиши туфайли С-19, С-21 ёки С-24 та углерод атомлари тутаяди;

б) 3β- ОН, 3α- ОН ёки 3-оксо гуруҳи мавжуд бўлади;

в) стероид ядрода 1-С, 2-С, 4-С, 5-С, 11-С ҳолатларда гидроксил гуруҳлар жойлашган бўлади;

г) ён занжирнинг 20-С, 22-С, 23-С, 24-С, 25-С, 26-С ёки 27-С ҳолатларида гидроксил гуруҳлари учрайди;

д) 2-С, 3-С, 20-С, 22-С ёки 25-С ҳолатидаги гидроксил гуруҳлари ноорганик кислоталар билан конъюгирланган бирикмалар сульфат, фосфатлар, органик кислоталар билан ацетатлар, кротонатлар, бензоатлар, циннаматлар, п-кумаратлар, қандлар билан гликозидлар, галактозидлар, ксилозидлар ҳосил қилади.

Булардан ташқари фитоэкдистероидлар турли модификацияланган ҳолатларда бўлиши мумкин [28].

Холестеринни ўсимликларда учровчи экистероидларнинг бевосита бошланғич асоси эканлиги *Podocarpus elatus* ва *Polypodium vulgare* ўсимликларида [^{14}C] билан ўтказилган тажрибаларда аниқ далиллар орқали исботланди. Тажрибаларда аниқ бўлишича, биосинтезнинг биринчи босқичида холестерин молекуласида $^{7\wedge}$ -6 кетогурухланиш содир бўлиб, А/В халқа цис ҳолатга ўтади. Сўнгра эса 14- α -окси- $^{7\wedge}$ -6- кетогурухи, А цикли диоль гурухи, А ва В циклининг 2,3-цис ҳолати, 8 углерод атомидан ташкил топган бир ёки бир неча оксигурухлар ҳисобланади. Фитоэкистероидлар стероид скелетидаги углерод атомлар сонига қараб С-19, С-21, С-27, С-28 ва С-29 экистероидларга ажратиш қабул қилинган [1].

Фитоэкистероидларда кўп ҳолларда экистерон, α -экизон, полиподин В, понастерон А, инокостерон, птеростерон ва интегристерон А лар учрайди [1,14]. Ҳозирги вақтда фитоэкистероидлар юксак ўсимликларнинг асосий типлари бўлган қирққулоқлардан, очик уруғлилар ва ёпиқ уруғли ўсимликлардан топилган. Лекин тубан ўсимликлардан экистероидлар топилмаган. Шунини таъкидлаш керакки, *Laurencia pinnata* қизил денгиз сувўтидан пиннастерол, *Polyporus versicolor* замбруғидан 3 β , 5 α , 9 α – триоксиэргоста – 7, 22 – диен – ОН экистероидлар структурасига яқин моддалар ажратиб олинган.

Фитоэкистероидларнинг ўсимлик ҳаётидаги аҳамияти ҳали тўлиқ аниқланмаган. Улар ўсимлик - ҳашоротлар экологик системасида сезиларли роль ўйнайди деган хулосага келинган. Чунки, алоҳида ҳолларда ҳашоротлар учун бу бирикмалар алелохимёвий токсинлар сифатида таъсир қилар экан. Маълумотларга қараганда, бу бирикмалар гиббериллин кислотасига ўхшаб ўсимликнинг ўсишини стимуллайди.

Ҳозирги кунда асосий қизиқиш фитоэкистероидларнинг юксак ҳайвонлар ва инсонлар организмига таъсирини ўрганишга қаратилган. Шу масалаларни ўрганиш пайтида кўпгина ўсимликлардан олинган экистероидларнинг продуцентлари қадимдан сифатли озуқа сифатида ҳамда турли мамлакатларда халқ табиобатида кенг тарқалганлиги, ўзининг

тонизирловчи ва адаптоген хусусияти, ақлий ва физик ишчанликни оширувчи, моддалар алмашинувини тезлаштирувчи сифатлари маълум бўлди. Шу асосда кўпгина ўсимлик турлари (*Cyathulla*, *Serratula*, *Silena* ва бошқа) кимёвий таркиби уларнинг экидистероидлари топилишидан олдин маълум бўлган деган хулосани беради.

Фитоэкидистероидларнинг биологик таъсирини ўрганиш япон олимлари томонидан бошланган. Улар сичқонлар организмга фитоэкидистероидларни юбориш орқали, уларнинг организмда оксил синтезининг кучайганини аниқлашган. Турли хил ҳайвонларга (сичқон, каламуш) кўп маротабали фитоэкидистероидларнинг 5- 10 мг/кг дозада берилиши тана массаси ҳамда ички органларнинг ва скелет мушакларининг массаси ошишига эришилган [13,15,18]. М. Masuoka ва автордошларининг ишларида ҳам ҳайвонларда бош мия массаси уларнинг таъсирида ошиши исботланди.

Бу ўзгаришлар фитоэкидистероидларнинг таъсирида оксил биосинтезининг ошиши ва шунга боғлиқ ҳолда жигар, юрак, буйрак ва мушакларда оксил миқдорининг ошганлиги билан боғлиқдир. Фитоэкидистероидлар таъсири остида кечган бу жараёнлар шунга олиб келдики, ҳамма органлар ва тўқималарда бир хил суръатда уларнинг оксил структурасидаги ^{14}C – аминокислотасининг эффе́ктлари ва назорат маълумотлари билан солиштирилганда уларнинг бир хил фоизда массаси ортиши исбот бўлди [12].

Фитоэкидистероидларнинг таъсири остида ҳар хил органларда ва тўқималарда глутаматдекарбоксилаза, ацетилхолинэстераза, Na^+ , K^+ -АТФаза, сукцинатдегидрогеназа, лактатдегидрогеназа, ишқорий фосфотаза ва бошқа кўпгина организмнинг ферментатив системаларининг активлигини оширганлиги кўриб чиқилган ва маълум бўлган. М. Masuoka ва автордошлари таъкидлашларича, фитоэкидистероидларнинг анаболик таъсири натижасида қон зардобиди мочеви́на миқдори камайган.

Сичқонлар устида олиб борилган тажрибалардан фитоэкидистероидлар таъсирида ҳосил бўлган оксил биосинтезининг стимуляцияси и-РНК

синтезига боғлиқ эмаслиги ва фақатгина трансляция жараёнларининг тезлигига таъсир қилиши аниқланди. Шунинг натижасида оксил синтези активлашади, шу организм учун ва фақат уларнинг генетик детерминирланган индукцияси фонида характерлидир.

Етарлича кўпгина ишлар охири вақтда фитоэксдистероидларнинг таъсири ва бошқа хил оксил алмашинув турларини ўрганишга бағишланмоқда. Уларнинг углевод алмашинувига таъсири тўлиқ ўрганилган. Асосан экспериментал гипергликемия шароитида бу бирикмаларнинг гипогликемик эффекти турли тадқиқотларда аниқланди. Бунинг натижасида фитоэксдистероидларнинг гипогликемик эффекти инсулин секрецияси ошиши билан боғлиқ эмаслиги, инсулин стимули реализациясида қатнашувчи оксилли рецепторларнинг биосинтезини активлаш ва тўқимадаги глюкозанинг сарфланишини кучайтириш таъсирига эгаллиги аниқланди [19,15].

Айрим муаллифлар(2,3) ишларидан фитоэксдистероидларнинг таъсири остида ҳайвонларнинг тўқималари ва органларидаги аэроб оксидланиш жараёнлари натижасида ҳосил бўлувчи сут кислотаси ва пирозин кислотаси миқдорининг ошиши маълум бўлди. Фитоэксдистероидларнинг узок вақт қўлланилиши натижасида нормал ҳайвонлар органларида гликоген миқдорининг кўпайиши ва жуда муҳим томони, бу моддаларнинг кўпгина патологик ҳолатда гликоген ушловчи эффекти борлиги маълум бўлди [16].

Фитоэксдистероидлар организмнинг энергетик реакциясида муҳим роль тутувчи (глутамат, сукцинат, НАДН - дегидрогеназа, сукцинат-НАДН-оксидаза) ферментларининг синтезини кучайтириши ва активлигининг ортишига ижобий таъсир кўрсатади [28].

Яна шу нарса аниқланди-ки, фитоэксдистероидлар интакт каламушларнинг қонидаги холестеринни ва триглицеридларнинг миқдорини камайтиради ҳамда уларнинг wr -1339 тритон инекциясидан кейинги гиперхолестеринемия ва гиперглицеридемиясидаги ривожланишини тормозлайди [29]. Фитоэксдистероидлар атеросклероз билан ривожланган

куёнлар қон зардобдаги холестерин ва триглицеридларнинг миқдорини камайтиради, аортанинг атеросклеротик ҳолати индексини пасайтиради, жигарда липид алмашинувини яхшилади [28]. Ҳайвонларга фитоэкдистероидларни юборгандан кейин холестерин ва триглицеридлар миқдорининг камайиши омилларидан бири, бу организмда триглицеридлипазларнинг липолитик активлигининг ортиши бўлиши мумкин.

Фитоэкдистероидларнинг таъсири турли органлар ва скелет мушакларида фосфолипидларнинг сифат ва миқдор ўзгаришига олиб келади [29]. Экдистероидларнинг ёш интакт ҳайвонларга берилиши анаболик жараёнларнинг турғун стимуляциясида юрак ва скелет мушакларидаги фосфолипидларнинг актив алмашинуви кучайишига олиб келади [30]. Фосфолипидлар фракцион таркибининг патологик бузилишида, жигар митохондрияси мембраналарида экспериментал инсулин етишмовчилиги пайтида ва фосфотидилхолин, фосфотидилсерин, фосфатилэтаноламин ва сфингомиелинлар миқдорининг камайиши билан якунланувчи лизофосфолипидларнинг ва фосфотид кислоталарнинг ошиш фонида экдистерон ва туркестерон интакт ҳайвонлар учун характерли митохондрия мембраналарнинг фосфолипид спектрининг тикланишини етарлича тез амалга оширди ва аниқ нормаллаштирувчи таъсирга эгаллигини намоён қилди [10].

Яна, баъзи фитоэкдистероидларнинг липидлар перексидли-оксидланиш жараёнларини ингибирлай олиш хусусиятини таъкидлаш лозим [11]. Фитоэкдистероидлар учун, уларни организмга юборилганда калий фиксирловчи хусусияти характерлидир, бу эса сут эмизувчиларда [14], қушларда ҳамда моллюскаларда ўтказилган тажрибалардан маълум бўлган, боғлиқлик эндоген гормонларда ҳам намоён бўлмайди. *Helix pomatia* нейронларидаги ион регуляцияси жараёнлари пайтида экдистерон хужайраи K^+ концентрациясини оширгани тадқиқотларда аниқланди [12]. Бу эса, нерв ганглияларига экдистероннинг юборилиши хужайраи K^+

концентрациясини оширибгина қолмай, Ca^{2+} концентрациясининг оз миқдорда ошишига олиб келди. Na^{+} концентрацияси ўзгармади. Экдистерон H^{+} электрохимёвий градиентларига қарши K^{+} ташилишини тезлаштиради. Каламушларнинг қон зардобига экдистероннинг юборилиши натижасида кальций ва фосфорнинг миқдори камайган [12]. Ҳайвонларнинг метаболитик жарёнларига таъсири билан боғлиқ ҳолда фитоэкдистероидларнинг бошқа биологик эффектларини, уларнинг фибринолитик таъсири [13], жигар, юрак тўқималарида ва қон плазмасида F_2 простагландинининг ошиши [19], *in vitro* тажрибасида талокда аниқланган миокарда цАМФ ҳужайраици миқдорининг ошишини санаб ўтиш лозим [23].

Кўгина тадқиқотчилар экдистероидлар маълум шароитларда мембрана турғунлигини таъминловчи хусусиятга эга эканлигини таъкидлайдилар [19]. Бу ҳақда, Ю.Д. Холодованинг илмий ишларидан қизиқарли маълумотлар олиш мумкин. Бу эса, қуён эритроцитларига экдистерон, витикостерон Е, полиподин В, α -экдизон ва циастеронлар инкубация қилинганда, кислотали эритрограмма ёрдамида аниқланиши натижасида бу бирикмалар эритроцитлар мембранасининг турғунлик индексининг ортишига олиб келган. Экдистероидларнинг мембраналар турғунлигини сақлаш хусусияти асосида, уларнинг экспериментал касалликларнинг бир қатор турларига қарши соғайтирувчи таъсири ётган бўлиши мумкин [19].

Фитоэкдистероидлар юрак мушагидаги креатинфосфат ва гликоген миқдорини нормаллаштириши билан экспериментал миокардни даволаш таъсирига эга. Уларнинг таъсирида бундан олдин, назоратга нисбатан олганда, кардиомиоцитларнинг электролитик баланс ива оксидланиш-қайтарилиш потенциали тикланган [14]. Глеотрин ёки тўртхлоруглерод билан чақирилган экспериментал гепатитда фитоэкдистероидлар жигардаги дистрофик-некротик ўзгаришларнинг ривожланишини тўхтатган ҳамда гепатоцитларнинг функцияси ва структураларининг тикланиш жараёнларини активлаштиришга эришган [14,15].

Бундан жигар хужайраси митохондрия мембранасининг полифермент системаси активлигида ижобий ўзгариш юзага келди, митохондрия деградациясини таъминловчи экзоген факторлар таъсирига уларнинг турғунлиги ва чидамлилиги ошган. Бу ўзгаришлар жигар хужайраларининг барча нафас занжири ва электронларнинг ички йўл билан ташилишини нормаллаштиришига олиб келди. Яна ҳам муҳими, фитоэкдистероидлар гепатитда (интакт ҳайвонлар билан солиштирганда) сафро ишлаб чиқариш жараёнини стимуллаш таъсирига эгаллигини кўрсатди. Бундан эса уларнинг билирубин алмашинувига, ўт кислотасининг синтезига, холестериннинг ажралишига ижобий таъсири маълум бўлди. Фитоэкдистероидларнинг турли хил ульцерогенлар билан қақирилган ошқозон деструктив зарарланишлар сонини камайтириш, тўқимадаги пластик жараёнларини нормаллаштириш хусусиятига эгаллиги тажрибаларда исботланди [13]. Аллоксан билан қақирилган диабетли лаборатория ҳайвонлари танасига фитоэкдистероидларнинг юборилиши қонда қанд миқдорининг камайишига, углевод алмашинуви кўрсаткичларининг яхшиланишига, фосфорли-оксидланиш жараёнининг ва жигар митохондриясидаги Ca^{2+} -ташилиш функциясининг нормалашувига олиб келди [16]. Экдистерон тажрибада суяк синишинининг битишини тезлаштирди [22]. Фитоэкдистероидлар юксак ҳайвонларда ҳеч қандай токсик эффектлар намоён қилмади. Турли тажрибаларда ҳайвонлар организмига фитоэкдистероидларнинг кўп мартабали берилиши натижасида токсик ҳолатлар кузатилмаган [27].

Лаборатория шароитида фитоэкдистероидларнинг ҳар тамонлама тадқиқ қилиш тажрибадаги ҳайвонлар организмига нормадагадек ва муҳими патологик ҳолатида ижобий таъсир кўрсатиши, уларнинг клиник амалиётда кенг миқёсда ўрганишга йўл очиб берди. Омадли изланишлардан бири бушунинг ўсимлик стероидлари қаторига кирувчи экдистерон асосида яратилган сафлоровидли левзеидан ажратиб олинган, «ратибол» (экдистен) номи остида чиққан дори препарати ҳисобланади [28]. Препарат организмда оксил биосинтезининг пасайиши билан боғлиқ астеник ҳолатдаги ва умумий

кувватсизланган беморларда ўзининг ижобий таъсирини кўрсатди [25]. Экдистен қўлланиш курсларидан миокарднинг метаболик жараёнлари ҳолатини характерловчи кўрсаткичларини яхшиланганлиги, юракнинг ишемик касали билан оғриган беморларнинг клиник ҳолатида ижобий ўсиш кузатилди, уларнинг марказий ва мия гемодинамикасининг нормаллашганлиги аниқланди [14]. Экдистенга асосий қизиқиш миокард инфаркти бор беморларнинг комплексли реабилитациясида қўллаш мумкинлиги ҳисобланади. Бу ҳолатда препарат қабул қилувчи Ушбу беморларда физик ҳаракатчанликнинг ортиши кузатилди, динамик зўриқиш берилганда уни бажаришда яхши натижа берди [29]. Экдистен ошқозон ва ўн икки бармоқли ичак яраси ҳамда баъзи нефрологик касалликлари бор беморларни даволашда етарлича аҳамият касб этади [20,21]. Қандли диабетни бу препарат орқали даволаш яхши натижа бериши аниқланди [22].

Шундай қилиб, фитоэкдистероидлар биологик фаол табиий бирикмаларнинг янги синфи сифатида узоқ ўтмишли эволюцион алоқадаги тирик организмларнинг моддалар алмашинув жараёнлари регуляциясига тегишли кўпгина саволлар ечими сифатида, фақатгина назарий жиҳатдан эмас, балки дори препарати сифатида инсон организмида кечадиган турли метаболик жараёнларнинг бузилиши коррекциясида ҳар хил касалликларни даволашда муҳим аҳамиятга эга эканлиги билан ўзида етарлича катта қизиқиш уйғотди.

2-БОБ. МАТЕРИАЛ ВА МЕТОДЛАР

2.1. Биоматериал тайёрлаш

Тажрибада 180-250г.ли оқ зотсиз каламушлардан фойдаланилди. Улар оддий лаборатория шароитида стандарт виварий шароитида сақланди. Хар бир тажрибадаги ва назоратдаги гуруҳда 6 нафардан хайвон мавжуд бўлди. Тажриба учун қуйидаги ўсимлик мажмуалари олинди. Унда табиий бирикмадаги турли синфлардан вакиллар олинади. Бу мажмуанинг тахминий таркиби 1 жадвалда кўрсатилган.

Ўсимлик мажмуалари хайвонларга оғиз йўли орқали 50 мг/кг миқдорда сувда яхши аралашмайдиган ўрик мағзили суюқлик шаклида берилди. Тажрибадаги жониворлар бир неча марта ўрик мағзили суюқликни истемол қилдилар. Таққослов припарати сифатида силибордан (50 мг/кг миқдорда) фойдаланилди. Тажрибадаги моддалар 7-10 кун давомида бериб борилди. Тажриба нихоясида хайвонлар диапитирландилар ва улар қони зардобиди умумий оқсилда пировиноград кислотаси (ПВК) ва малон диальдегиди (МДА) мажудлиги аниқланди. Юрак мушакларида умумий оқсилнинг ПВК гликогени ва МДА аниқланди. 3 ой давом этувчи махсус тажрибаларда мажмуа юборилди ва периферик қон таркибига (гемоглобин, гематокрит и СОЭ) таъсири кузатилди.

2.1.1- Зардобни тайёрлаш

1. Ценрафуга пробиркасига қон тўплаш. 30-60 мин.га хона шароитида қолдириш. Кейин эҳтиётлик билан ингичка игна ёрдамида пробирка деворларида ҳосил бўлган қатламни суриб, 30-60 мин.га музлатгичга қўйилади.

2. 15 мин. давомида центрифугада 3000 айл./мин. айлантирилади.

3. Тайёр зардобни эҳтиёткорлик билан бошқа пробиркага ажратиб олинади.

Музлатгичда 7 кундан ортиқ сақламаслик зарур, музлатилган шароитда

14 кун. Умумий оксил миқдорини О.Н Lowry (Protein measurement with the Folin phenol reagent./ Lowry O. H. Rosenbrough N. G., Farr N.J. Randall R.J., // J Biol. Chem- 1951- vol. 193.-№1-Р 265-275) методи орқали аниқлашган.

2.1.2-Юрак ва жигар гомогенатини тайёрлаш.

Юрак тўқима пардасини музда фарфорли идишда қайчи билан майдаланади, яъни аниқ метод бажари учун ва унга СО билан артилиб, шишали кукун қўшилади.

Буфер аралашмаси методига мувофиқ (қуйида кўринг) олинган **гомогенат** центрифуга пробиркасига кўчирилди. Сирка уч кислотаси тўқимани чўкиши учун қўшилади ва шаффоф **супернатант** олиш учун центрифугада айлантирилади.

Жигар тўқима пардасини олиш учун ҳам шундай қилинади, фақат шиша кукун қўшилмайди. Олинган **супернатант** биокимёвий тадқиқотлар учун ишлатилади.

2.2. Биокимёвий тадқиқотлар

2.2.1. Умумий оксилни Лоури методи орқали аниқлаш.

Бу метод ўзига биорет реакцияни (пептид боғланишлари Фолин р-цияси (тирозин ва триптофанда) олади.

Реактивлар.

1. Na_2CO_3 -2% аралашма. 0,1 NaOH (вариант. 20 г Na_2CO_3 ва 0.5 г виннокислоси Na да тайёрланган ёки К в 1л 0,1М NaOH).
2. CuSO_4 -0.5% 1% ли аралашмада Цитрат Na (1г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 1л H_2O) да тайёрланган.
3. 1мл аралашма (2) 50мл аралашма (1) билан аралаштирилади. Ўша кун ишлатилиши учун тайёрланади. сақлов муддати 1 кун. 45мл аралашма (1)+5мл аралашма (2).
4. Фолин Чокальтеу Реактиви (чайқатиб ишлатилади).

Аниқлаш босқичи.

Ўзида 10-100 мкг оксил бўлган тажрибадаги арлашма 0,4мл сув билан дистил холатига келтирилади. 0,2мл арлашма 13 дан қўшиб аралаштирилади. 0,2мл арлашма(4)ни тез қўшиб 1-2 сония қаттиқ аралаштирилади ва ярим соатга хона хароратида қолдирилади. Кўк ранг фаоллигини светофилътр—4 филътр $L=72$ да ва $L=750$ нм.да (ёки фЭК-м.да қизил светофилътр билан) кўр тажрибага кўра реактивларда аниқланади.

Кимёда калибрли графин тайёрлаш учун пробирка (6шт)га 0,08-0,4 мл альбумин солинади, ўзида 0,25 мг оксил 0,1мл ва сув дистил 0,04мл.гача. кейинги ишлов беришлар хам намунага----- асосан бажарилади. Калибр қуриш учун оксилни аниқ миқдорини аниқлашда соф оксилнинг кристалл препаратидан фойдаланилади.

Зардобдаги оксиллар миқдорини аниқлаш

0,2мл суюлтирилган эритмадан (1:200) тажрибадаги зардобга 5мл арлашма 3 қўшилади, 15 минюдан сўнг, тезда 0,5мл Фолин аралашмаси қўшилади ва қаттиқ аралаштирилади. 30 дақиқадан сўнг $S=72$ в Сф или ФЭК.да фотометрланади.

Хисоб китоб эгри чизик альбумин кристали билан ёки 100-1000 марта суюлтирилган зардоб билан (70-700- 1мл.да) Къельдаль усули ёрдамида аниқланади. Одамда 7,5г% ва каламуш қонида 7,15г% оксил бўлади.

Гликоген миқдорини аниқлаш

Жигардаги гликоген миқдори Lo S. Et all (Lo S. Russell J. C. Taylor A.W. Determination of glycogen in small tissue samples // J. Appl. Physiol - 1970-vol . 28- №2.-Р. 234-236.) методи орқали аниқланади. Жигардаги ПВК миқдорини аниқлаш умумий қоидага асосланган (Тадқиқотнинг биокимёвий

методлари клиникада .// Покровский А.А.- М ; Медицина -1969-652 с. рахбарлиги остида.)

Реактивлар 30% КСІ- 0,5мл.дан, 96% этанол- 0,5мл.дан, 5% фенол- 1мл.дан, H₂SO₄ (конц)- 5 мл.дан.

- 1) 0,5 мл.дан 30% КОНни центрифуга пробиркасига солиш.
- 2) Тўқима пардасини (40-50 мг юрак учун; 18-25 мг жигар учун)шиша таёкча ёрдамида қанчалик тез аралаштирилиши ҳисобланади.
- 3) Пробирка сувли баняга 15 дақиқага солинади. .(1) тўқима аралашмаси).
- 4) Пробирка сувда совутилади, ,+0,5 мл 96% этанолда ва туни билан музлатгичга солиб қўйилади.
- 5) Кейинги куни пробирка центрифугада 3000 айл\мин 30 мин. (жигар) ёки 45 мин (юрак) айлантрилади. Эхтиёткорлик билан центрифугадан олинади ва филтровал қоғоз билан пробирка қурилади.
- 6) Пробиркага 1 мл сув + 1 мл фенол + 5мл H₂SO₄ қўйилади.
- 7) 30 мин.туради ва ФЭК яшил светофилтрда (540нм) ўлчайди.

Ҳисоб китоб (мг%) : Экстинция пробирка х 0,100 00 парда массаси (мг).

2.2.3. Пироузум кислота миқдорини аниқлаш. Калибрлаш эгри чизик қуриш.

Жигардаги ПУК миқдорини аниқлаш умумий қоидага асосланган (Тадқиқотнинг биокимёвий методлари клиникада.//Покровский А.А.- М; Медицина -1969-652с. рахбарлигида). ПУК асосида коллометрик концентрация ўлчови 2,4–динитрофенилгидразон ПУК (хаворанг светофилтрда) ўлчанади.

Реактивлар:

1. ТХУК 20% 1 мл.дан.
2. 2,4 ДНФГ (динитрофенилгидразон) 0,1 % аралашма (50 мг в 10 мл конц. НСІ қиздириб аралаштирилади +сув 50 мл.гача. қайта филтрланади ёки 20 ДНФГ +4мл НСІ +сув 20мл.гача)- 0,4мл.дан.
3. NaOH 12% 1мл.дан.

4. Фасфат буфери. 11,870г (5,935г) NaH_2PO_4 ва 9,078г (4,539г) KH_2PO_4 1л (500мл) сувда, pH7,8.

Аниқлаш йўли:

1. 200 мг жигар ёки юрак пардаси шиша кукун билан артилади +2 мл буфер центрофуга пробиркасига +1мл ТХУК қўшилади.
2. центрофугада 20 мин. 3000 айл\мин айлантиради.
3. 2мл супернатант ва +0,4мл ДНФГ 20 мин.га қоронғу жойга олиб қўйилади.

Назорат супернатант ўрнига сув, кейин +1мл NaOH қўшилади ва тез ФЭКда кузатилади (филтр ранги хаворанг, 405нм).

Калибрлаш эгри чизиғи бўйича ҳисоб китоб.

Калибрлаш эгри чизиқ қуриш.

- 1) 0,025% пируват аралашмаси Na 25мл ёки 5 мг 20мл.да ПВ Na тайёрлаш.
- 2) маточний аралашмадан 10 пробирка миқдорида олиш.

0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, ва 1 мл.

- 3) ПУК зардобы сингари ҳар бир пробиркага керакли реактивлар солинади. Экстинцияси ФЕКда ўлчанади.

Тажриба амалга ошириш босқичлари:

1. 10% гомогенат : 300 г тўқима совуқ идишда майдаланади ва 3 мл буфер қўшилади.
2. 0.5 мл гомогенат оксил миқдорини ўлчаш учун қолдирилади, 2,5 мл МДАни ўлчаш учун ишлатилади: 1мл ТУХК қўшилиб, ЦФланади 10 мин. Давомида 3000 айл\мин.да.
3. 2мл супернатант бўйёқ пайдо бўлгунча қайноқ сув хаммомида қолдирилади.
4. ФЭК, 540 нм.
5. Зардобни аниқлаш босқичи: 0.5 мл зардоб + 1мл трис–HCl-буфер+0,5 мл супернатант +0,7 мл ТБК = 2,3 мл ўлчаш учун.

Липидларнинг перекис оксидланиш тезлигини аниқлаш

Липидларнинг перекис оксидланиш (ЛПО) тезлигини аниқлашда Владимир Ю.А. ва бошқаларнинг модификацияланган усулидан фойдаланилди(4). ЛПО тезлиги ҳақида жигар митохондрияларида ҳосил бўладиган малон диальдегиди (МДА) миқдориغا қараб, унинг тиобарбитурат кислота билан реакциясига кўра баҳоланди.

1мл ҳажмдаги инкубацион муҳит Ммларда қуйидагича таркибда бўлди: митохондрияларнинг 2мг тутган эритмада 50-Трис-НСl. Буфер, рН-2,5; 0,012 FeSO₄ ; (NH₄)₂SO₄ * 6H₂O; 0,2-NaHP₂O₇*10H₂O; Реакцияга 1Мм NaDPH ёки 0,8 Мм аскорбат қўшилиши билан киришилди. Тажриба ва назорат синамалари 20 минут давомида 37⁰С инкубацияланди, реакция 70%ли 1мл ТХУК қўшиб тўхтатилди. Оқсил 30 минут давомида 3500 айл/минда центрифугалаш ёрдамида тиндирилди. 1,5мл центрифугатга 0,3мл 0,6Н НСl ва 1,2 мл 0,12М тиобарбитурат кислота қўшилди. Буялишни ривожлантириш учун синамалар 10 минут давомида 100⁰С сув хаммомида инкубацияланди. Оптик зичлик 535нм тўлқин узунлигида ўлчанди. Малон диальдегидининг моляр экстинция коэффиценти 1,56 10⁵см⁻¹М⁻¹ га тенг бўлди. Липидлар пероксидли оксидланишини аниқлашда барча босқичларда фойдаланилган эритмалар таркибида ЭДТА бўлмади.

$$МДА = \frac{Д}{Е * 0,03}$$

Бу ерда Д – оптик зичлик, нм

Е - 1,56 х 10⁻⁵,

0,03 – 2 мл чўкма усти суюқлиги + 1 мл ТБК

Олинган натижаларнинг статистик ишлов бериш усули

Олинган натижалардаги хатоликларнинг ишлови m - ўртача квадратик чекланишни аниқлаш билан қуйидаги формула бўйича амалга оширилган(17):

$$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{\sum |\varepsilon|^2}{n(n-1)}}$$

Бу ерда σ - ўртача квадратик хатолик;

n – ўлчашлар сони;

$\sum |\varepsilon|^2$ - ўртачан чекланиши.

Охирги натижани $M \pm m$ шаклида кўрсатилган, бу ерда M – ўртача кўрсаткич.

III БОБ. Натижалар ва уларнинг тахлили

Самарали фитомажмуаларни аниқлаш

Фитомажмуаларни соғлом каламушларининг биокимёвий кўрсаткичларига таъсири

Биз бир канча маҳаллий флорадан таққосий равишда ўрганиб, уларни шартли равида ФМ-1, ФМ-2, ФМ-3 деб номладик. Хайвон организмларида моддалар алмашинуви жараёнида янада фаолроқ намоён қилиш мақсадида соғлом каламушлардаги моддалар алмашувидаги мажмуанинг тахминий таркибини аниқлаш мақсад белгиланди.

Тадқиқотлар шуни кўрсатдики, ҳамма фитомажмуалар организмдаги биокимёвий жараёнларга у ёки бу маънода яхши таъсир кўрсатади.

Фитомажмуаларни углевод алмашинуви кўрсаткичларига таъсири

10 кун давомида ФМ-1 ва ФМ-3 юборилган каламушлар қони зардобид ва юрагида ПУК миқдорини ошганлиги кузатилган ва назорат гуруҳга таққослаганда 9.4% (юрак), ФМ-3 юборилганда 17.1% да (зардоб) ва 11.0% (юрак). ФМ-2 юборилганда бу кўрсаткичга энг кам таъсир этди (фарқ 4% ва 6%ни ташкил эди ва бу ишончсиз деб топилди.). Энг кўп юрак мушакларидаги гликоген фитомажмуа таъсирида ортди (38.5%га; 26.0% ва 45,0 %га ФМ-1, ФМ-2 ва ФМ-3да ўзига мос равишда).

Бу билан шундай хулоса қилиш мумкин, 1 ва 3 фитомажмуалар юборилганда, у ПУК миқдори ва кардиомиоцитлардаги гликогенга таъсир кўрсатган, бу эса организм хужайраларида аэроб оксидланишни фаоллашганидан далолат беради.

Умумий оксил таркибига фитомажмуаларни таъсири.

Жигар оксил алмашинуви жараёнида аминокислоталарни дез- ва трансминирлашни амалга ошириб, сийдик, плазмалар ва плазма оксилларини синтезлашда муҳим аҳамиятга эга. Шунинг учун биз бу мажмуаларни биокимёвий кўрстакларга таъсирини аниқладик.

Биз олган маълумотлар шуни кўрсатдики, бу мажмуага кирувчи ўсимликлар зардобдаги оксилларни ҳам, юрак тўқимасидаги хужайраларда ҳам оксиллар сони ошишига олиб келади. ФМ-1 ва ФМ-3 хужайраларнинг оксил синтезлаш вазифасига ижобий таъсир этди. 2 мажмуа эса ё таъсир этмади (юрак мушаги мисолида) ёки (зардобни) охириги ҳолатда 15%гача тушириб юборди.

Шундай қилиб, 3та мажмуадан 2 таси(ФМ-1 ва ФМ-3) 10 кун давомида қўлланилганда, организмда оксил миқдори таъсир кўрсатди.

Фитомажмуаларни зардобдаги малон диальдегиди миқдори таъсири

Маълумки, одам ва ҳайвон хужайралари мембранаси липидларида доимо перекисли оксидланиш жараёни боради, турли патологик ҳолатлар юзага келганда кучайиб боради (Владимиров Ю.А., Арчаков А. И. Биологик мембраналар липидларида перекисли оксидланиш.- М. Наука. 1972.- 258с.). бу билан бирга биз фитомажмуаларнинг антиоксидант фаоллигини баҳоладик. Бунинг учун биз қон зардобини ва жигар тўқимасидан малон диальдегиди (МДА) миқдорини фосфолипидларнинг перекисли оксидланишнинг сўнгги маҳсулотини аниқладик. Тажрибада 10 кун давомида мажмуани қўллиниши зардобда (МДА) миқдорини 11,2% (ФМ-1), 11,2% (ФМ-2), 18%(ФМ-3) тушишига олиб келди. Мос равида каламушларнинг юрагида ҳам (МДА) миқдори ФМ-1 таъсирида 8,5%га, ФМ-2 22,1%га ва ФМ-3 8,5% га тушишига олиб келди. Тажриба натижалари шуни кўрсатдики, ўрганилаётган мажмуалар, хусусан, ФМ-3 липидларни пероксидли оксидланиш жараёнини коррекциялади ва қон зардобини ва жигар тўқимасидаги МДА миқдорини тушишига олиб келди.

ХУЛОСАЛАР:

1. Ўрганилган ФМ-1, ФМ-2 ва ФМ-3лар юборилган каламушлар қони зардобиди ва юраги тўқимасида ПУК миқдори назорат гуруҳга нисбатан 9.4%га, 4-6%га, ҳамда 17.1% га намоён бўлди.
2. Ўрганилган моддалар юрак мушакларидаги гликоген миқдорини 45,0 %га ортганини намоён қилди.
3. Умумий оқсил таркибига фитомажмуаларни таъсирини ўрганиш қон зардобидидаги оқсилларни ҳам, юрак тўқимасидаги оқсиллар сонини 15%гача тушириб юборади.
4. Қон зардобиди малон диальдегиди (МДА) миқдорини аниқлаш 11,2% (ФК-1), 11,2% (ФК-2), 18,1% (ФК-3) тушишига олиб келди. Мос равишда юрак тўқимасида ҳам (МДА) миқдори ФК-1да 8,5%га, ФК-2 22,1%га ва ФК-3да 18% га тушишига олиб келди.

Фойдаланган адабиётлар рўйхати

1. Архем А.А., Ковганко Н.В. Экдистероды: Химия и биологическая активность – Минск : Наука и техника. 1989-327 с.
2. Балтаев У.А., Шангараева Г.С. Зооэкдистероиды распространение и роль в жизнедеятельности членистоногих // Химия природ. соедин.- 2000. № 6- 433-446 с.
- 3.Бурлакова Е.В., Архипова Г.В., Голоцанов А.Н. Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. - Москва: Наука - 1982.- С.74-82.
4. Владимиров Ю.А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.- М. Наука. 1972.- 258с.
5. Влияние витамина Д₃ и экдистерона на свободнорадикальное окисление липидов. Кузьменко И.А. и др. // Биохимия – 1997 – Т.62, вып. 6 – 712-715 с.
6. Влияние экдистерона на биосинтез белков и нуклеиновых кислот в органах мышц /Тодоров И.Н., Митрохин Ю.И., Ефремова О.И. и др. //Хим. – фарм. журн. -2000-Т. 34-35 с .
7. Володин В.В. Экдистероиды в интактных растениях и клеточных культурах // Дисс... докт. биол. наук. СПб- 1999- 207 с.
8. Гизатулина З.З., Гагельганс А.И., Сыров В.Н. Влияние экдистерона, туркистерона и неробола на энергетический метаболизм тимоцитов //Докл. АНРУз -1994 № 10 -49-52 с.
9. Гогвадзе В.Г., Брустовский Н.Н., Жукова А.А. Участие фосфолипазы А в индуцированном продуктами перекисного окисления липидов разобщении митохондрий печени крыс // Биохимия - Москва, 1990.- т.55.вып.12-С.2195-2199.
10. Залесский В.Н., Фильченков А.А. Перспективы патогенетически обоснованного применения модуляторов апоптоза в качестве нейрокардио-, гепато- и нефропротекторов // Вестник Российской АН.- 2002.-т.72-№1.С 37-41.

11. Ковганго Н.В., Кашкан Ж.Н., Чернов Ю.Г., Синтез экистероидов и родственных им соединений // Химия природ. соедин.- 2003 - № 5 - 335-360 с.
12. Козлов Ю.П. Свободнорадикальное окисление липидов в биомембранах в норме и патологии. Биоантиокислители. М.: Наука, 1985.- 45с.
13. Кугач В.В., Никулышина Н.И., Ищенко В.И. Лекарственные формы флавоноидов // Фармокология.-1988.-№2.-С.1018-1025.
14. Кулинский В.И. Активные формы кислорода и оксидактивная модификация макромолекул: польза, вред и защита. // Соровс. образ. ж-л- 1999.-с.2-5.
15. Лакин Г.Ф. Биометрия. Учеб. Пособие для биол. спец. Вузов- 4-е изд., перераб. и доп.- М.: Высшая школа, 1990.-352 с.
16. Моругава Т.В., Лазарева Д.Н. Влияние лекарственных средств на свободно-радикальное окисление // Ж-л Экспер. и клинич. фармакология.- 2000.- т 63 №1, С.71-75.
17. Никитина В.С. Поиск новых подходов в физиолого-биохимическом исследовании лекарственных растений // Вопросы мед.химии - 2001.-№3.- с.35-40.
18. Очковитый СВ., Смирнов А.В. Антигипоксантаы // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2001.-т64.-№3.- С.76-80.
19. Плотников М.Б., Зибеева Л.Н., Колтунов А.А. Гемореологические свойства экстрактов из некоторых растений, содержащих экистероиды // Раст. Ресурсы -1998 –Т.34. Вып.1 – 91-97 с.
20. Салахутдинова Ю.Т. Механизмы взаимосвязи ПОЛ и активности мембранных фосфолипаз: Дисс.канд.биол.наук.-Ташкент: 2001.
21. Самигулина Л.И., Лазерева Д.Н. Новые перспективы применения препаратов роторопши пятнистой // Ж-л Экспериментальной и клинич. фармакологии.-2004. - 67 /4/.-С.77-80.

22. Сыров В.Н. Фитоэкдистероиды: биологические эффекты в организме высших животных и перспективы сиспользавания в медицине // Эксперим. и клин. фармакол. 1994 - № 1 – 61-64 с.
23. Сыров В.Н., Насырова С.С., Хушбакова З.А. Результаты экспериментального изучения фитоэкдистероидов в качестве стимуляторов эритропоэза у лабораторных животных // Эксперим. и клин. фармакол. – 1997 - № 3 – 41-44 с.
24. Тадқиқотнинг биокимёвий методлари клиникада .// Покровский А.А.- М ; Медицина -1969-652 с. рахбарлиги остида.
25. Фитоэкдистероиды *Silene viridiflora* / Мамадалиева Н.З., Зибарева Л.Н., Саатов З., Лафонт Р. // Химия природ. соедин. – 2003- № 2 – 150-153 с.
26. Яковлева Л.В., Герасимова О.А., Карбушева И.В. Сопоставление антиоксидантных свойств новых препаратов, производных биофлавоноидов и дубильных веществ // Ж-л exper. и клинич. фармакол. - 2001.- №64 121. - С.55-59.
27. Gao Z., Wang D., Li F. Determination of ecdysterone in *Achyranthes bidentata* B. L. and its activity promoting proliferation of osteoblastlike cells. // Acta pharm. Sinica. – 2000- vol. 35 –P 868-870.
28. Dinan L. // Phytoecdysteroides : biological aspects. // Phytochemistry. – 2001. – V.57. – P. 325-339.
29. Dinan L., Savchenko T., Whiting P. // On the distribution of phytoecdysteroids in plants. // Cellular and Molecul. Life Sciences. – 2001. V.58. – P. 1121-1132.
30. Lo S. Russell J. C. Taylor A.W. Determination of glycogen in small tissue samples // J. Appl. Physiol -1970-vol . 28- №2.-P. 234-236.
31. Protein measurement with the Folin phenol reagent./ Lowry O. H. Rosenbrough N. G., Farr N.J. Randall R.J., // J Biol. Chem- 1951- vol. 193.- №1-P 265-275

32. Screening plants of European North – East Russia for ecdysteroids. // Volodin V., Chadin I., Whiting P., Dinan L. // Biochemical Systematics and Ecology. – 2002. –V.30. – P. 525-578.