

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIIY VA O'RTA
MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI**

**Berdaq nomidagi
QORAQALPOQ DAVLAT UNIVERSITETI**

Fizikaviy va kolloid kimyo kafedrası

Ametova Shaxnoza Qodirbergenovnaning

5440400 – kimyo ta'lim yo'nalishi bo'yicha bakalavr darajasini olish uchun “Membrana o'tkazuvchanligini o'rganishning zamonaviy usullari” mavzusidagi

BITIRUV MALAKAVIY ISHI

Ilmiy rahbar:

Fizikaviy va kolloid kimyo
kafedrası dotsenti, k.f.n.

Z.K.Djumanova

Fizikaviy va kolloid kimyo
kafedrası mudiri, k.f.n.

A.J.Pirniyazov

NUKUS – 2014

MUNDARIJA

KIRISH.....	3
I BOB. ADABIYOTLAR SHARHI.....	5
I.1. Biomembranalarning tuzilishi haqidagi zamonaviy tasavvurlar.....	5
I.2. Moddalarning biomembranalar orqali tashilishi.....	9
I.3. Bioelektrik potentsiallarning kelib chiqishi va turlari.....	18
II BOB. TADQIQOD NATIJALARI VA ULARNING MUHOKAMASI..	24
II.1. Membrana o'tkazuvchanligini o'rganishning zamonaviy usullari.....	24
II.2. Moddalarning membrana faolligi va ta'sir mexanizmi.....	29
II.3. Membrana o'tkazuvchanligini o'rganishda qo'llaniladigan zamonaviy fizik-kimyoviy, biofizikaviy va biokimyoviy usullarning mantiqiy sxemasi.....	34
III BOB. TAJRIBA QISMI.....	37
III.1. Membranalardagi elektrik potentsiallarni qayd qilish usullari.....	37
III.2. Membrana o'tkazuvchanligini o'rganishda qo'llaniladigan zamonaviy usullar.....	39
III.3. Namunalarning membrana faol xossalarini aniqlash va olingan natijalarni qayta islash usullari.....	40
XULOSA.....	42
FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO'YHATI.....	43

KIRISH

Mavzuning dolzarbligi. Zamonaviy qon to'xtatuvchi dori vositalari unchalik ko'p emas, shuning uchun ham qon ivishiga ěrdam beruvchi preparatlarni izlash amaliět uchun alohida ahamiyatga ega. Keyingi yillarda bizda kabi, chet ellarda ham o'simliklardan olinadigan dori vositalariga qiziqish ortdi, chunki ularning toksikliklari juda kam bo'lib, sintetik analoglariga nisbatan yumshoq tasir qiladi va qo'shimcha (yondosh) zararli tasirga ega emas.

Vatanimiz hududida keng tarqalgan *Lagochilus* turkumi o'simliklarining ayrim turlari xalq va ilmiy tabobatda qon to'xtatuvchi vosita sifatida qo'llanilishi alohida ahamiyatga egadir. Mazkur o'simlikning asosiy tasir etuvchi komponenti – labdan qatori diterpenoidlari: lagoxilin va uning hosilalari bo'lib topiladi.

Hozirgi kunga kelib *Lagochilus* o'simligining ayrim turlari diterpenoidlarining kimyoviy va farmakologik xossalari hamda fiziologik faolligi o'rganilganiga qaramasdan, ularning qon ivitish sistemasiga molekulyar tasir mexanizmining ko'plab bosqichlari nomalumligicha qolmoqda.

Kaltsiyning qon ivitish sistemasining boshqarilishidagi muhim ahamiyatga ega ekanligini ko'rsatuvchi ko'plab dalillar asosida shuni aytish mumkinki, *Lagochilus* turkumi o'simliklari diterpenoidlarining qon ivitish sistemasiga modulirlovchi tasiri hujayralardagi Ca^{2+} ionining transporti va qayta taqsimlanishi bilan bog'liq bo'lishi mumkin. Diterpenoidlarning trombotsitlarga tasir mexanizmining muhim aspektlaridan biri esa, bu hujayra fosfolipid membranalarining Ca^{2+} ionlarini o'tkazuvchanligiga tasir ko'rsata olish qobiliyati bo'lib topilishi mumkin. *Lagochilus* turkumi o'simliklari asosida olingan diterpenoidlarning Ca^{2+} ionlarini o'tkazuvchanligiga tasir qilishini o'rganish va bu birikmalarda Ca^{2+} ionoforlik xossasi bor bo'lishi mumkinligi, bizni membranafaol xususiyat va gemostatik samaradorlik orasida qandayda bir o'zaro bog'liqlik bor bo'lishi mumkin degan fikr yuritishimizga olib keladi.

Lekin shu vaqtgacha bu sinf vakillarining ionoforlik xususiyatga ega ekanligi aniqlanmagan.

Bitiruv ishining maqsadi *Lagochilus* turkumi o'simliklari diterpenoidlari: lagoxilin va uning bazi hosilalarining membranafaol xossalarini tahlil qilishdan iboratdir.

Ishda quyidagi masalalar echiladi:

- lagoxilin va uning hosilalarining qo'sh qatlamli lipid membranaga tasirini o'rganish.

- lagoxilin va uning hosilalarining membranatrop faolligini o'rganish.

- lagoxilin va uning hosilalarining ionofor:kation tipidagi komplekslarni hosil qilishini o'rganish.

- lagoxilin va uning hosilalarining membranatrop xossalari va ularning kimyoviy tuzilishi orasidagi bog'liqlikni o'rganish.

Olib borilgan ishda birinchi bo'lib, *Lagochilus* turkumi o'simliklari asosida olingan labdan qatori diterpenoidlari: lagoxilin va uning hosilalarining membranafaol xossalari tahlil qilinadi.

Mazkur tadqiqotdan olingan natijalar o'rganilgan moddalarning qon ivitish sistemasiga molekulyar tasir mexanizmi haqidagi taasurolarni kengaytiradi.

I BOB. ADABIYOTLAR SHARHI

I.1. Biomembranalarning tuzilishi haqidagi zamonaviy tasavvurlar

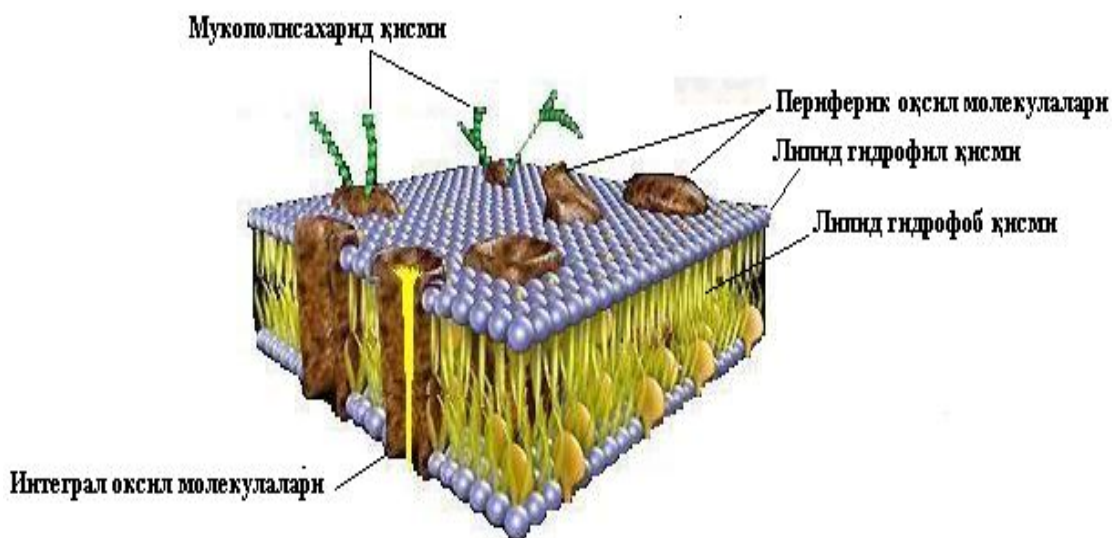
Biologik membranalarining tuzilishi, unda biomolekulalarning joylanishi ko'p yillar davomida o'rganilib, ultrastrukturasi haqida bir qator ilmiy qarashlar vujudga kelgan. Membrana tabiatiga ko'ra juda murakkab tizim bo'lib, uning xususiyatlarini belgilash maqsadida turli xil modellar taklif qilingan. Bunda membrananing asosiy tarkibiy qismi fosfolipid va oqsil moddalardan iborat ekanligi va oqsil molekulalarining gidrofob qismi lipidlar tomonga, gidrofil qismi suv tomonga tortilib turadi. Shuningdek fosfolipidlar membranada bir xil tarqalmagan bo'lib, xolin guruhiga ega bo'lganlari membrana tashqarisida, aminogruppaga ega bo'lganlari membrana ichkarisida joylashgan.

Biomembranada joylashgan oqsil molekulalarining o'rtacha 40%i α -spiral shaklida bo'ladi. Biomembranalarning tuzilishi va faoliyat mexanizmlarini tushintirishda 1925 yilda Gerter va Grendel, 1935 yilda F.Danielli va G.Davson tomonidan dastlabki fikrlar bildirildi. Bu gipotezaga ko'ra biologik membranalar ikki qavat lipid molekulalari qavati va uni ikki tomonidan o'rab turuvchi oqsil molekulalari globulalar yig'indisidan tashkil topganligi takidlanadi. F.Danielli tomonidan olib borilgan ilmiy tekshirishlarda membranada ikki qavatli fosfolipid molekulalari radial holatda joylashgan. Bunda fosfolipid molekulasining qutbli atom guruhlari membrana suv fazasi tomonga va qutbsiz atom guruhlari esa o'zaro taqalib turadi deb ko'rsatilgan. Lipid molekulalari qo'shqavatining ikki tomonida joylashgan oqsil molekulalari globula ko'rinishida bo'lib, ularning qutbli atom guruhlari membrana suv fazasi tomonga va qutbsiz atom guruhlari lipid molekulalari fazasiga qarab joylashgan holatda bo'ladi deb ko'rsatiladi.

1964 yilda yaratilgan J.Robertsonning biomembranalar strukturasi o'ld modelida membrana uch qavatli ekanligi, yani ikkita lipid molekulalari qo'shqavatini ichki tomondan oqsil molekulalari va tashqi tomondan glikoproteid

molekulalari o'rab turishi qayd etiladi va bu tuzilish universal, yani barcha biomembranalar bir xil tuzilishga ega ekanligi ko'rsatib beriladi. Shuningdek J.Robertsonning membrana modelida membrana tashqi tomonida joylashgan oqsil molekulalarining fibrillyar shaklda ekanligi takidlanadi.

1966 yilda J.Lenard va S.Singer tomonidan biomembranalarning tuzilishini tushintirishda membrananing suyuq-mozaika modeli yaratildi. Unga ko'ra membrana suyuq fazadan tashkil topgan lipid molekulalari va unda botib turuvchi yoki suzib yuruvchi oqsil molekulalaridan iboratligi takidlanadi. G.Nikolson tomonidan biomembranalarning suyuq-mozaika modeliga to'g'risidagi fikrlar rivojlantirilib, unga binoan fosfolipid molekulalari membranada ikki qatlam hosil qilib joylashgan va ular doimo har xil harakatda bo'ladi. Bazan lipid molekulalari bir qatlamdan ikkinchisi flip-flop yoki arg'imchoq sakrash orqali o'tishi kuzatiladi. Ikki qatlamdagi lipid molekulalari tarkib jihatidan o'zaro farqlanadi, yani fosfolipidlar ikki qatlamda assimetrik joylashgan.



Rasm 1. Biomembranalarning sxematik tuzilishi.

1970 yilda yaratilgan G. Vanderskiy va D.Gren tomonidan yaratilgan biomembranalarning oqsil-kristall tuzilish modeli esa membranada oqsil

strukturalarining membrana faoliyatiga bog'liq holatdagi konformatsiyalari o'zgarishlarini to'laroq tushintirib berishga harakat qiladi.

Biomembranalarning tuzilishiga oid hozirgi zamon gipotezalarining asosini 1966 yilda J.Lenard va S.Singer tomonidan biomembranalarning tuzilishini tushintirishda yaratilgan suyuq-mozaika modeli qisman tashkil qiladi. Shu bilan birga zamonaviy biofizika fanida biomembranalarning struktura tuzilishida oqsil molekulalarining joylashish konformatsiyalari to'liq tushintirib beriladi. Biomembranada joylashgan oqsil molekulalarining ion kanallari hosil qilish mexanizmlari, retseptor oqsil molekulalari, lipid molekulalarining turlari va vazifasi kabi murakkab holatlar ilmiy jihatdan to'liq asoslab berilgan.

Hujayra membranasining qalinligi J.Robertson tomonidan taxminan $75 \text{ \AA}$ ekanligi qayd etilgan va ko'pgina tajribalar asosida bu ko'rsatkichning o'rtacha qiymati $100 \text{ \AA}$ deb baholangan. Hujayra membranasining kimyoviy tarkibi va tarkibiy qismlarining o'zaro joylashish konformatsiyalari membrana faoliyati xususiyatlariga mos keladi. Elektron mikroskopda kuzatilganda hujayra membranasini ikkita, qalinlik o'lchami o'rtacha $20 \text{ \AA}$ ga teng bo'lgan qavatlar va ularning o'rtasida qalinlik o'lchami o'rtacha $35 \text{ \AA}$ ga teng bo'lgan qavatdan tashkil topganligini ko'rish mumkin. Hujayra membranasining elastiklik, qisqaruvchanlik, mexanik xossalari unda joylashgan oqsil molekulalarining holati bilan tushintiriladi. Biomembranalar tanlab o'tkazuvchanlik, egiluvchanlik, qo'zg'aluvchanlik, fagotsitoz, energiya hosil qilish, retseptorlik kabi xossalarga ega.

Biomembranalar faol tizim bo'lib, u hujayraning tashqi muhit bilan o'zaro munosabatlarini, turli xil moddalarni, jumladan ionlarni tanlab tashqi muhitdan ichkariga kirishi va tashqariga chiqarilishini, gormonlar va boshqa boshqaruvchi molekulalarning bog'lanishini, fermentlar katalizlaydigan turli rekatsiyalarning kechishini, elektr impulslarning hosil bo'lishi va o'tkazilishini taminlaydi. Har bir membrana o'ziga xos bo'lgan funktsiyani bajaradi. Umuman membranalarning strukturasi malum vazifani bajarish uchun moslashgan bo'ladi.

Membranada tizimlar ikkita asosiy faza holatida bo'lishi mumkin:

- 1) qattiq ikki qatlamli kristall holat yoki gel holatida,
- 2) suyuq kristal holatda bo'ladi.

İkkala holatda ham lipid fazasining ikki qatlamli strukturasi saqlanib qoladi. Membrana harorati oshirilganda qattiq fazaning suyuq fazaga nisbati o'zgaradi. Membranani tashkil qilgan fosfolipidlarning yarim miqdori qattiq va ikkinchi yarmi suyuq bo'lgan holatni belgilaydigan harorat fazali o'tish harorati deyiladi. Bu harorat lipidlarning uglevodorod zanjiri uzunligi va uning to'yinish darajasiga bog'liq. Lipidlarning uglevodorod zanjirlarining uzunligi oshishi bilan fazali o'tish harorati ham oshadi va to'yinish darajasi kamayishi bilan bu harorat pasayadi. Fazali o'tishda sodir bo'ladigan o'zgarishlar asosida lipidlarning uglevodorod zanjirlarining fazoviy o'zgarishlari yotadi. Gel - suyuq kristall holatdagi fazalararo o'tishda uglevodorod zanjirlari trans- holatidan tartibsiz holatiga o'tishi sodir bo'ladi. Bunda bir lipid molekulası egallaydigan yuzaning qiymati oshadi va uglevodorod qatlamining qalinligi kamayadi. Bunda tashqi kavatlar oqsil molekulalaridan va o'rtada joylashgan qavat ikki qator holatda joylashgan lipid molekulalaridan tashkil topganligi aniqlangan. Membrana tashqi tomonida joylashgan oqsil molekulalari yaxlit holatda emasliga sababli lipid molekulalari hujayra tashqarisida mavjud bo'lgan gidrofob xususiyatga ega moddalar bilan bevosita tasirlashadi. Buning natijasida esa suvda erimaydigan holatdagi moddalar membranadan bemalol lipid molekulalari qavatida erishi orqali o'ta oladi. Hujayra membranasi tashqi tomonida joylashgan oqsil molekulalarining maxsus konformatsiyasidan hosil bo'ladigan ion kanallari orqali turli xil ionlar qat'iy tartibda, maxsus tanlovchanlik xususiyati asosida hujayra ichki muhitiga o'tkaziladi yoki tashqariga chiqarib yuborilishi amalga oshadi. Shu bilan birga membrana tashqi qismida joylashgan oqsil molekulalari membrananing ichki va tashqi qavatlarida joylashgan ferment tizimlari, ion kanallari, biologik faol moddalar bilan tanlovchanlik asosida tasirlashadigan retseptor deb ataluvchi

maxsus molekula tuzilmalarini tashkil etadi. Bu tuzilmalar faoliyati asosida hujayra tashqi muhit tasirotlarini qabul qiladi

I.2. Moddalarning biomembranalar orqali tashilishi

Diffuziya alohida molekula va ionlarning tartibsiz va spontan harakatiga bog'liq. Masalan, ammiakning suvli eritmasi solingan idish og'zini ochiq qoldirsak, malum vaqtdan keyin butun xonaga uning o'tkir hidi tarqalib ketadi. Bu jarayon ammiak molekulalarini diffuziyalanishi bilan tushuntiriladi. Molekulalar va ionlar yuqori kontsentratsiyali tomondan past kontsentratsiyali tomonga gradienti bo'yicha harakatlansa, diffuziyaning bunday turi oddiy diffuziya deb ataladi. Shu bilan birga ular har xil yo'nalishda Braun harakati ko'rinishida ham harakatlanishi mumkin. Biologik membranalar orqali elektr zaryadiga ega bo'lmagan, neytral moddalarning o'tish jarayoni diffuziya hisoblanadi. Bu jarayon dastlab Fik tomonidan o'rganib chiqilgan va miqdoriy jihatdan quyidagicha ifodalanadi:

$$J = - D\Delta c/\Delta x$$

Bu erda: J - moddaning biomembrana orqali oqimi; D – diffuziya koeffitsientini ifodalaydi.

Yani membrana orqali moddalarning diffuziyalanish oqimi moddaning kontsentratsiya farqi bo'yicha harakatlanuvchi kuchiga to'g'ri proporsional hisoblanadi.

$$\text{Bunda: } D = RTu \text{ ga teng.}$$

Bu erda: R - gaz doimiysi; T – absolyut harorat; u – ion harakatchanligini ifodalaydi.

Diffuziya tezligi Fik qonuniga muvofiq belgilanadi, bu qonunga ko'ra diffuziya tezligi ($\Delta m/\Delta t$) kontsentratsiya gradientiga ($\Delta s/\Delta x$) va modda diffuziyalanuvchi soha yuzasi (S) ga proporsional bo'ladi:

$$\Delta m/\Delta t = - DS(\Delta s/\Delta x)$$

Bu erda D – proportsionallik koeffitsenti deb ataladi. Shuningdek, moddaning hujayraga diffuziyalanib kirish tezligi Kollender va Berland tenglamasiga bo'ysinadi:

$$\Delta m / \Delta t = kS(C - C_0)$$

Bu erda, C , C_0 – hujayra ichki va hujayra tashqarisidagi modda kontsentratsiyasi, k – singdiruvchanlik konstantasi.

Membranalarning ion singdiruvchanligi - P_j va ion o'tkazuvchanligi - G_j kabi xossalarini farqlash zarur. Membrananing bu ikki xossasi o'zaro bog'liq, singdiruvchanlik qiymatining o'zgarishi doimo o'tkazuvchanlik qiymatining o'zgarishiga olib keladi. Singdiruvchanlik xususiyati hujayra atrof muhiti eritmalaridagi ionlar miqdoriga bog'liq emas. Membrananing ion o'tkazuvchanligi esa membrana potentsialining kichik siljishlaridagi ionlar oqimi o'zgarishini xarakterlaydi va tashqi va ichki muhit eritmalaridagi j ionlar miqdoriga bog'liqdir.

$$G_j = z F \Delta J_j / \Delta \phi = \Delta I_j / \Delta \phi$$

Bu erda: G_j - membrananing ion o'tkazuvchanligi, J_j - j ionlari oqimi, z - valentlik, F - Faradey soni, $\Delta \phi$ - elektr potentsiali. $zF \Delta J_j = \Delta I_j$ membranadagi potentsiallar farqi hosil bo'lishiga javoban j ionlarining tashilishi natijasidagi tok o'zgarishlari.

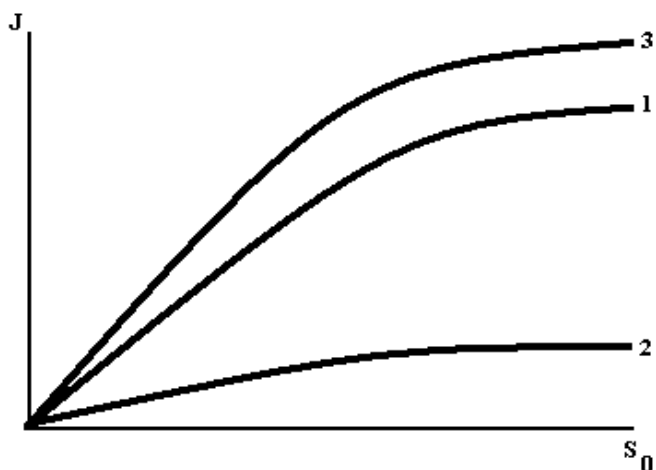
Suvda eruvchan yirik moddalar, masalan, organik kislotalarning anionlari membranadan o'ta olmaydi. Ularning transport mexanizmlari boshqacha, yani osonlashgan diffuziya tarzida kechadi. Molekulalarning membranadan tashilishi, faqat ularni maxsus tashuvchi tizimlar bilan bog'lanishidan keyingina ro'y beradi. Moddalarni maxsus tashuvchi tizimlar yordamida membranadan o'tkazilishida, tashuvchi tizimlar o'tkazilayotgan modda bilan birgalikda diffuziyalanadi. Maxsus tashuvchi tizim bir vaqtning o'zida ikki substratni bog'lashi ham mumkin.

Osonlashgan diffuziyada substratning membrana orqali o'tish oqimi quyidagi tenglama bilan ifodalanadi:

$$J = J_{\max} S_0 / (K_m + S_0)$$

Bu erda: S_0 – membrana qarama qarshi tomonidagi substrat konsentratsiyasi farqiga bog'liq qiymat; K_m – konstanta esa $J = J_{\max}/2$ holatda diffuziya oqimi qiymatini ifodalab, fizik manosiga ko'ra fermentativ kataliz jarayonida qo'llanilgan Mixaelis-Menten konstantasiga o'xshab ketadi va umumiy jarayon tezligini belgilab beradi.

Quyidagi rasmda osonlashgan diffuziya va oddiy diffuziya jarayonlarining umumiy ko'rinishi tasvirlangan:



Rasm 2. Diffuziya jarayonida moddaning membrana orqali boshlang'ich diffuziya oqimi (J) va moddaning membrana tashqi va ichki tomonlaridagi konsentratsiya farqi bo'yicha kirib kelishi (S_0) qiymati o'rtasidagi bog'lanishni ifodalaydigan egri chiziq.

Bu erda: 1 – membrana orqali maxsus o'tkazuvchilar yordamida amalga oshuvchi diffuziya jarayoni; 2 – oddiy diffuziya jarayoni; 3 – diffuziya jarayonining umumiy yig'indi qiymatini ifodalaydi.

Zaryadli zarrachalarni membrana orqali elektrodifuziyalanishi Nernst -Plank tenglamasi orqali ifodalanadi :

$$J = -u RT (\Delta c/\Delta x) - u z F (\Delta \phi/\Delta x)$$

Bu erda: u – ion harakatchanligi, R - gaz doimiysi, T - absolyut temperatura, c - konsentratsiya, z - ion valentligi, F - Faradey soni, $\Delta \phi/\Delta x$ - elektr gradienti, $\Delta c/\Delta x$ – konsentratsiya gradienti.

Hujayrada kechadigan bir qator jarayonlar, qo'zg'alish, ATF sintezi, ionli tarkibni saqlash membranalar orqali modda o'tishi bilan bog'liq holatda amalga oshadi.

Neytral molekulalar va ionlarni membrana orqali tashilishi passiv va aktiv transportga bo'linadi.

Aktiv transport energiya sarflanishi bilan yuz beradi. Bu energiya ATF gidrolizlanishi yoki mitoxondriyada nafas zanjiri orqali elektron o'tkazilishi energiyasi hisobiga hosil bo'ladi. Aktiv transportda moddalar va ionlar membrana orqali kimyoviy yoki elektrokimyoviy potentsial gradientiga qarshi yo'nalishda tashiladi.

Ionlarning membrana orqali aktiv tashilishiga ATF molekulasida makroergik bog'lar sifatida jamg'arilgan energiya hisobiga amalga oshuvchi plazmatik membranalarida joylashgan N^+ ion nasosi faoliyati, hujayra sarkoplazmatik retikulumi membranasida joylashgan Sa^{2+} ion kanallari faoliyati misol bo'ladi. Shuningdek, oksidlanish- qaytarilish reaksiyalari asosida ajralib chiquvchi energiya sarflanishi natijasida amalga oshuvchi mitoxondriya membranasida joylashgan N^+ nasosi, xloroplast va shu kabi energiya bog'lovchi membranalarida joylashgan transport tizimlari xam moddalarning aktiv tashilishiga misol bo'la oladi.

Tirik tizimlarda Sa^{2+} ionni muhim biologik ahamiyatga ega bo'lib, turli xil hujayra darajasidagi jarayonlarda hal qiluvchi o'rin tutadi. Sa^{2+} ionining tashilishi asosan aktiv tashilish orqali hujayra membranasini va sarkoplazmatik retikulum membranalarida joylashgan Sa^{2+} -ATFaza tizimi orqali amalga oshadi. Sarkoplazmatik retikulum membranasida joylashgan Sa^{2+} -ATFaza tizimi molekulyar massasi 100 kD ga teng bo'lgan bitta oqsil polipeptid zanjiridan tashkil topganligi aniqlangan. Sa^{2+} -ATFaza tizimining ishlash mexanizmi quyidagicha tushuntiriladi. Bunda dastlab Sa^{2+} ionni ATF biln bog'lanadi. Bunda bog'lanish energiyasi konstantasi 10^7 M^{-1} ni tashkil etadi. Keyingi bosqichda ATF gidrolizlanadi va ATFaza fermentining fosforlanishi amalga oshadi. Ferment –

fosfat, E–R ko‘rinishdagi konformatsiya holati yuzaga keladi. Bu holat beqaror bo‘lib, uning o‘zgarishi bilan birgalikda Sa^{2+} ionining ferment bilan bog‘lanishi amalga oshadi. Shu holatda E –R konformatsiyaning o‘zgarishi natijasida Sa^{2+} -ATFaza kompleksi hosil bo‘ladi. Sa^{2+} ionining ferment bilan bog‘lanishi natijasida barqaror Sa^{2+} -ATFaza kompleksining vujudga kelishida umumiy bog‘lanish energiya konstantasining qiymati 10^7 M^{-1} dan 10^3 M^{-1} ga o‘zgaradi. Bu jarayonda erkin energiyaning o‘zgarishi quyidagi tenglama bilan hisoblanadi:

$$\Delta G_0 = - RT \ln k$$

Bunda bog‘lanish konstantasi qiymati 10^7 M^{-1} dan 10^3 M^{-1} ga o‘zgarishida erkin energiya o‘zgarishi qiymati 17,8 kJ / mol ni tashkil etadi. Yuqoridagi jarayonda bitta ATF molekulasi gidrolizlanganda ajralib chiquvchi 40 kJ /mol energiya membrana orqali ikkita Sa^{2+} ionining aktiv tashilishini taminlaydi. Passiv transport energiya sarf bo‘lishi bilan bog‘liq emas va elektrokimyoviy potentsial qiymati $\Delta \mu < 0$ bo‘lib, moddalarning elektrokimyoviy potentsiali past bo‘lgan tomonga diffuziyalanishi natijasida sodir bo‘ladi. Passiv transportda molekulalar boshqa molekulalarga nisbatan mustaqil o‘tadi va kontsentratsiya to‘yinishi ro‘y bermaydi.

Biologik membranalar orkali ionlar tashilishi turlari bu jarayonlarning mustaqil yoki bog‘liq holatda bo‘lishi asosida quyidagicha bo‘lib o‘rganiladi: 1) Moddalarning membrana orqali **uniport** tashilishi. Bunda tashiluvchi ion yoki neytral molekula mustaqil holatda membrana qarama- qarshi tomoniga o‘tkaziladi. Bu jarayonga O_2 ning hujayra membranasi orqali ichki qismiga o‘tishini misol qilib ko‘rsatish mumkin. 2) Moddalarning membrana orqali **simport** tashilishida esa ikki turdagi modda bir yo‘nalishda, birgalikda tashiladi va bu jarayonga misol qilib, uglevod, aminokislotalarning Na^+ ion bilan birgalikda hujayra membranasi orqali o‘tishini ko‘rsatish mumkin. 3) Biomembrana orqali tashiluvchi ikki xil ion yoki neytral molekula bog‘langan holatda qarama-qarshi tomoniga o‘tkazilishi, masalan ATF va ADF molekulasi mitoxondriya membranasi orqali tashilish jarayoni **antiport** tashilish deb ataladi.

Membranada ionlarning o'tishi maxsus oqsillar tizimi orqali amalga oshadi. Membranada oqsil molekulalarining malum bir tartib asosida xosil qilgan bu ko'rinishdagi strukturalari **ion kanallari** deyiladi. Ion kanallari darvoza mexanizmi bo'yicha faoliyat ko'rsatib, kanal ochilganda ionlar hujayra ichiga yoki hujayra tashqarisiga tomon harakatlanadi.

Ionofor molekulalari nisbatan kichik molekula bo'lib, ular strukturasiga ko'ra halqa tuzilishga ega, halqa markazida esa ion joylashadi. Ionofor molekulasi membranadan o'tganda, ionni hujayra ichiga olib kiradi yoki tashqi muhitga chiqaradi. Ionoforlar juda xilma xil bo'lib, bazi ionofor molekulasi membranadan faqat bitta ionni olib o'tsa, boshqa tashilish mexanizmida bir necha ionofor molekulasi bitta ionni olib o'tadi.

Membranologiyada K^+ ionlarini ionofori valinomitsin yaxshi o'rganilgan. Bunda tabiiy ionofor tsiklik polipeptid hisoblangan valinomitsin K^+ ionlari bilan kompleks hosil qiladi. Yani K^+ ionlari valinomitsin molekulasi o'rtasida moslik asosida gidrat qobig'i bilan valinomitsin molekulasi alifatik qoldiqlaridan iborat gidrofob qobig'iga almashinadi va shu ko'rinishda membrana orqali o'tishi amalga oshadi.

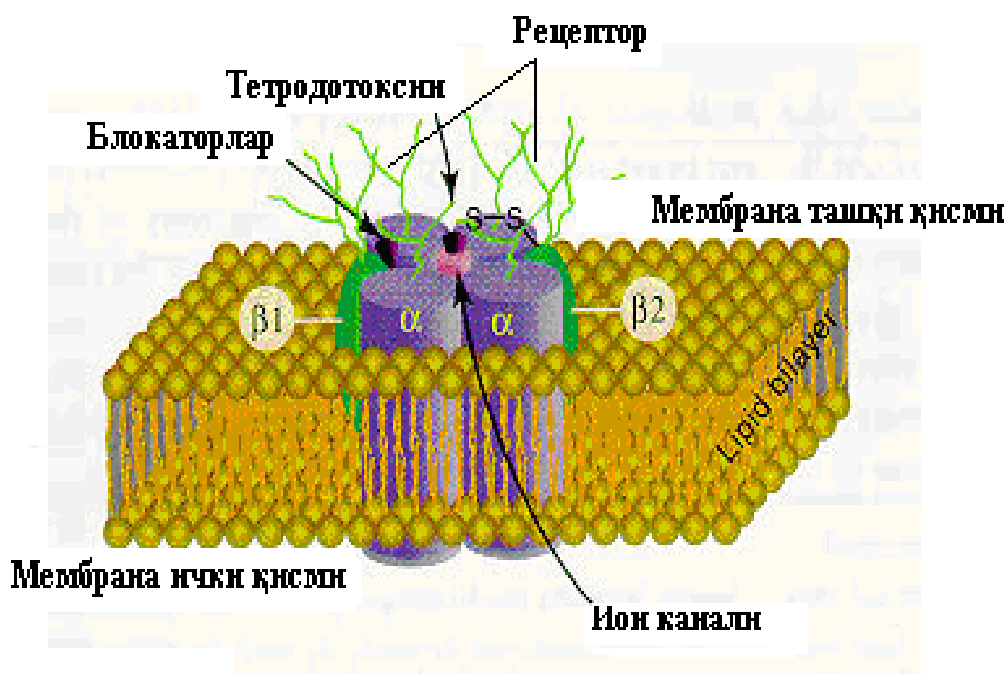
Qo'zg'aluvchan to'qimalar faoliyati uchun ularning membranalarida Na^+ , K^+ , Sl^- , Sa^{2+} ionlarini tashuvchi maxsus kanallar bo'lishi katta ahamiyatga ega. Ular tanlab o'tkazuvchi, o'ziga xos va o'ziga xos bo'lmagan kanallarga bo'linadi. Tanlab o'tkazuvchi kanaldan ionlardan faqat bir xili o'tishi mumkin. Bundan tashqari, hujayralarda tutashgan transport (kotransport) sodir bo'lishi mumkin. Bunda bir ionning elektrokimyoviy potentsialga qarshi o'tkazilishi ikkinchi ionning elektrokimyoviy potentsiali pasaygan tomonga o'tkazilishi hisobiga amalga oshadi. Maxsus tanlovchanlik xususiyatiga ega bo'lmagan ion kanallari doimo ochiq holatda turadi.

Membranologiyada ion kanali deganda membrananing lipid qatlamida joylashgan va elektrokimyoviy gradient buyicha membrananing bir tomonidan

ikkinchi tomoniga malum bir ionlarni o'tkazuvchi murakkab tuzilgan oqsil, glikoproteid makromolekulasidan iboratligi o'rganilgan.

Ion kanali bir qancha domenlardan iborat bo'lib, boshqa membrana oqsil makromolekulalari masalan retseptorlar bilan, hujayra skeleti yoki mukopolisaxaridlar bilan birikkan bo'ladi. Makromolekuladagi gidrofob aminokislotalar membraning lipid qatlami bilan kontakt hosil qilsa, gidrofil aminokislotalar kanalning ichki qismida pora (g'ovak) hosil qiladi. Pora ichida manfiy zaryadga ega 5-6 ta kislorod atomidan tashkil topgan tanlab o'tkazuvchi filtr joylashgan bo'lib, u kanalning faoliyatiga bog'liq xossasini taminlaydi. Kaliy kanallari diametri $7,3 \text{ \AA}$, natriy kanallarini esa $8,1 \text{ \AA}$ o'lchamga ega ekanligi aniqlangan.

Kanal ichki qismi porasi darvoza mexanizmi asosida ochilishi va yopilishi mumkin, bu jarayon makromolekula konformatsiyasini o'zgarishi bilan boradi. Bu jarayon elektr qo'zg'aluvchan membranalarda «darvoza» toklari, sensor kuchlanish va kimyoviy qo'zg'aluvchan membranalarda esa kimyoviy moddalar, yani mediatorlar orqali boshqariladi.



Rasm 3. Biomembranada ion kanalining joylashish sxemasi

Ion kanali orqali bir sekund davomida 10^7 - 10^8 ta ion o'tishi mumkinligi aniqlangan. Ionlarning suvdagi harakatchanlik tezliklari, kanaldan o'tish tezligiga mos keladi, shuning uchun kanalni suv poralari deb xam qaraladi. Blokatorlar moddalar, yani susaytiruvchilar tasirida membranada joylashgan ion kanallarining faoliyatining 0 qiymatga qadar susayishi kuzatiladi. Masalan tetradotoksin, saksitoksin va boshqa blokatorlar ion kanalining faoliyatiga susaytiruvchi tasirga ega. Hujayra membranasida joylashgan Ca^{2+} ion kanallarining blokatorlari xususiyatlari chuqur o'rganilgan. Jumladan verapamil, D-600 kabi moddalar ushbu kaltsiy kanalining darvoza mexanizmi faoliyatini dozaga bog'liq holatda susaytirishi kuzatilgan.

Tirik tizimlarda erkin energiyaning o'zgarishi jarayoni asosida yotuvchi biologik foydali ish hosil bo'lishi qonuniyatlarini bioenergetika o'rganadi. Hujayrada energiya transformatsiyasi biokimyoviy va fizikaviy qonuniyatlar asosida kechadi. Bioenergetikaning o'rganish obekti tirik tizimlarning molekulyar darajadan tortib biosfera darajasigacha bo'lgan majmuasini tashkil etadi. Biofizikada ayniqsa bog'lovchi membranalar to'g'risidagi ilmiy nazariyalar keng o'rganiladi. Bu hususiyatga ega bo'lgan membranalar mitoxondriya ichki membranasi, xloroplast tilakoid membranalar, arg'uvon bakteriyalarning energiyani bog'lovchi plazmatik membranalaridir.

Mitoxondriya membranasida organik substratlar asosida oksidlanish-fosforlanish jarayoni amalga oshadi va bu **oksfos** jarayoni xam deb ataladi. Xloroplast tilakoid membranalarida esa fotofosforlanish amalga oshadi. Bundan tashkari bog'lovchi membranalarda umumiy ferment tizimi - ATF aza va energiya bog'lash jarayonida tashuvchi tizimlar mavjud. Masalan mitoxondriyalarning murakkab tuzilishga ega ichki membrasida elektron tashilishi terminal zanjiri hisoblangan nafas zanjiri mavjud va bu tizimda energiyaga ega elektronlar donordan oxirgi aktseptor – kislorodga tashiladi. Bu jarayonda hosil bo'lgan energiya ATF molekulasining makroergik bog'lari ko'rinishida bog'lanadi. Xloroplast tilakoid membranalarida esa energiya bog'lash jarayoni fototizimlar

majmuasi faoliyati asosida elektron tashish orqali amalga oshadi. Umumiy holatda tirik tizimlarda energiya transformatsiya jarayonida energiya bog'lovchi membranalar faoliyati asosida kimyoviy substrat bog'larida zahiralangan yoki yorug'lik kvanti ko'rinishidagi energiyaning ATF sintezi bilan bog'lanib, makroergik bog' energiyasiga aylanish hodisasi yotadi.

Mitoxondriyalar ikki qavat membranaga ega murakkab strukturali hujayra organoidi hisoblanib, uzunligi o'rtacha 2-7 mk, diametri 0,5 mk ga teng va membranalararo bo'shliqda turli xil kofermentlar joylashgan. Mitoxondriyaning ichki membranasi ionlarga nisbatan tanlab o'tkazuvchanlik xususiyatiga ega. Mitoxondriyaning murakkab fermentativ struktura tizimida aminokislotalar, lipidlar almashinuvi, fosfolipidlar, mochevina biosintezi, ionlarning tashilishi kabi jarayonlar amalga oshadi. Mitoxondriyada energiya bog'lash jarayoni umumiy tarzda 1961 yilda ingliz biokimyogar olimi Piter Mitchell tomonidan xemiosmotik nazariya ko'rinishida tasvirlab berildi. Ushbu nazariyaga ko'ra mitoxondriya ichki membranada elektronlar tashilishi ATF sintezi jarayoni bilan intermediat, yani membranada vujudga keluvchi protonlar gradienti bilan bog'langan. Bunda membranada proton tashuvchi maxsus nasos tizimi mavjud. Bu nasos protonlarni kontsentratsiya gradientiga qarshi tashilishini amalga oshirib, hosil bo'lgan energiya ATF makroergik bog'larida to'planadi. Bu jarayon nafas zanjiri deb atalgan murakkab donor aktseptor uzatuvchilar, tsitoxrom tizimi faoliyati bilan taminlanadi.

Energiyaning transformatsiyalanishi **bog'lovchi membranalar** deb ataladigan - mitoxondriya ichki membranasi, xloroplastlar tilakoid membranasi, mikroorganizmlar hujayra membranalari faoliyati asosida amalga oshadi. Bog'lovchi membranalarda substratlarning oksidlanishi va ADF molekulasining fosforlanishi kabi ikkita jarayon o'zaro bog'lanadi, yani ushbu membranalarda oksidlanishli fosforlanish yuz beradi.

Hujayrada kechadigan barcha jarayonlar energiya talab qiladi va bu talab, asosan, yorug'lik energiyasining kimyoviy bog'larda to'plangan yuqori energiya,

yani ATF molekulasidagi makroergik bog'lar formasiga o'tishi hisobidan taminlanadi. Mitoxondriya, xloroplast va bazi mikroorganizmlar membranalarida ADF molekulasining fosforlanishi orqali ATF ga aylanishi amalga oshadi. Bu jarayon mitoxondriya ichki membranasi va aerob mikroorganizmlarda oksidlanishli fosforlanish tarzida, xloroplastlar tilakoid membranalarida va fotosintez qilish xususiyatiga ega bo'lgan bakteriyalarda fotofosforlanish yo'li bilan boradi.

I.3. Bioelektrik potentsiallarning kelib chiqishi va turlari

Hujayraning qo'zg'alishi, hujayra ichidagi jarayonlarning boshqarilishi, nerv tizimining ishlashi va muskullar qisqarishining boshqarilishi asosida tirik to'qimalar va hujayralarda elektr potentsiallar hosil bo'lishi va ularning tarqalishi yotadi. Hujayrada biopotentsiallar hosil bo'lishining mexanizmlarini mikroelektrodlar yordamida, biopotentsiallarni kuchaytirish va boshqa elektrofiziologik usullar yordamida o'rganiladi. Hujayra ichidagi bir valentli ionlar (Cl^- , K^+ , Na^+) kontsentratsiyasi uning tashqi muhitdagi kontsentratsiyasidan farqlanadi. Bu ionlarning taqsimlanishida quyidagi omillar alohida o'rin egallaydi: 1. Hujayra ichida manfiy zaryadlangan, Na^+ , K^+ va Cl^- ga nisbatan katta organik anionlar mavjudligi. 2. Hujayra membranasidagi Na^+ ionini hujayra tashqarisiga va K^+ ionini hujayra ichiga tashiydigan faol transport tizimi borligi.

Hujayraning ichida va tashqi tomonida ionlar kontsentratsiyasining teng emasligi va membrananing turli ionlarga nisbatan o'tkazuvchanligining har xil bo'lishi hujayra tsitoplazmasi va tashqi muhit orasida elektr potentsial hosil bo'lishiga olib keladi. Hujayraning tinch holatida hosil bo'ladigan elektr potentsial ***tinchlik potentsiali*** deyiladi. Nerv hujayralari va tolalarining ichki elektr potentsiali tinch holatda - 70 mv ga teng. Tinchlik potentsiali asosan K^+ ionlarining asimmetrik taqsimlanishiga bog'liq. K^+ ionining muvozanatli

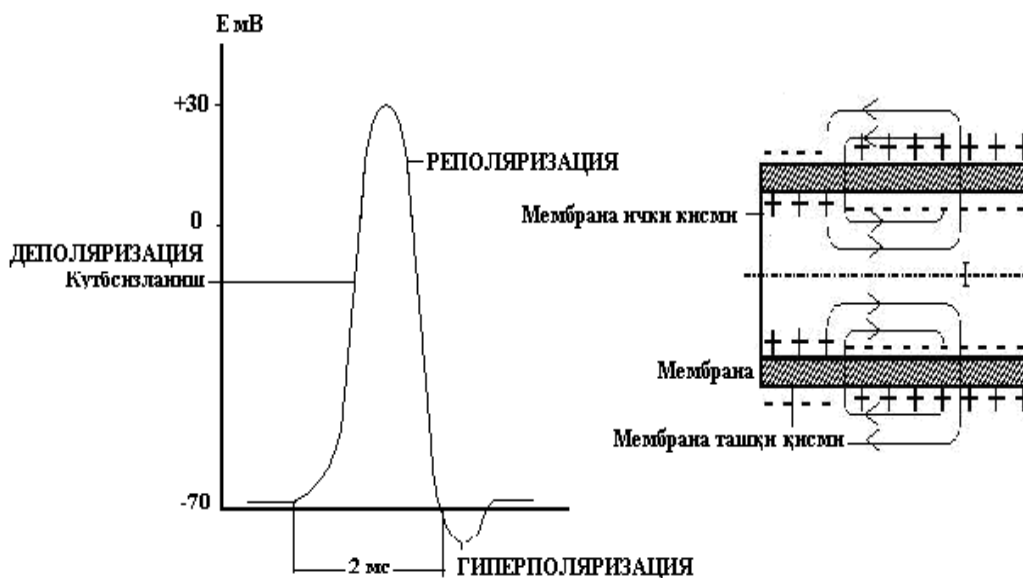
potentsiali uning qarama - qarshi oqimlari tenglashgandan keyin hosil bo'lib, Nernst formulasi bilan ifodalanadi.

$$E_k = RT/F \ln [K^+]^{\text{tashqi}} / [K^+]^{\text{ichki}}$$

Tinchlik potentsiali nafaqat kaliyning muvozanatli potentsiali, balki natriy va xlor ionlarining muvozanatli potentsiallari hisobiga ham hosil bo'ladi. Shuning uchun membrananing umumiy potentsiali shu ionlarning muvozanatli potentsiallari yig'indisiga teng bo'ladi.

$$E = E_K + E_{Na} + E_{Cl}$$

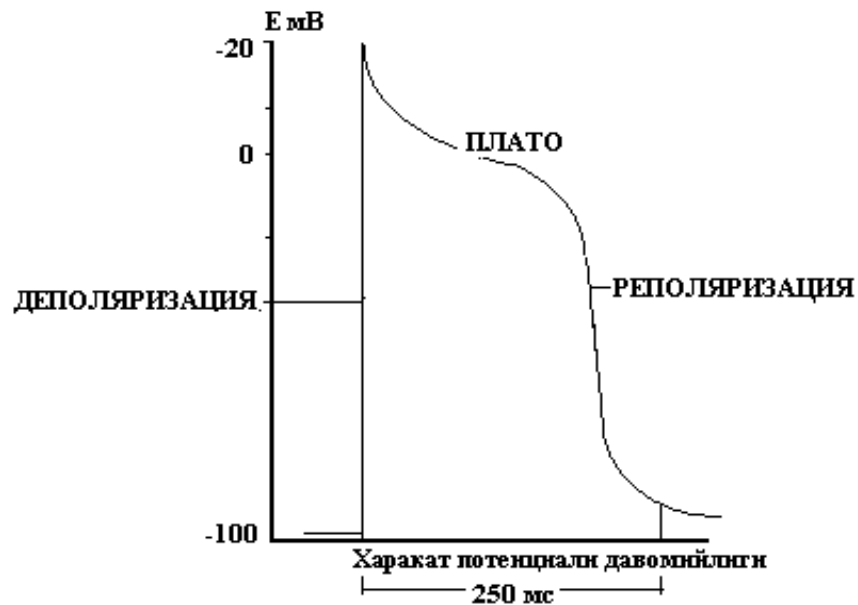
Hujayra ichidagi va tashqarisidagi ionlar miqdori eng ko'p farq bo'lgan kation kaliydir. Tsitoplazma suyuqligida K^+ ion miqdori tashqaridagiga nisbatan 50 marta ko'p. Hujayralararo suyuqlikda Na^+ kationlari konsentratsiyasi hujayra ichidagi miqdoridan 11 marta ko'p ekanligi qayd etilgan. Cl^- anionining hujayra ichidagi miqdori tashqaridagidan 20-100 marta kam hisoblanadi.



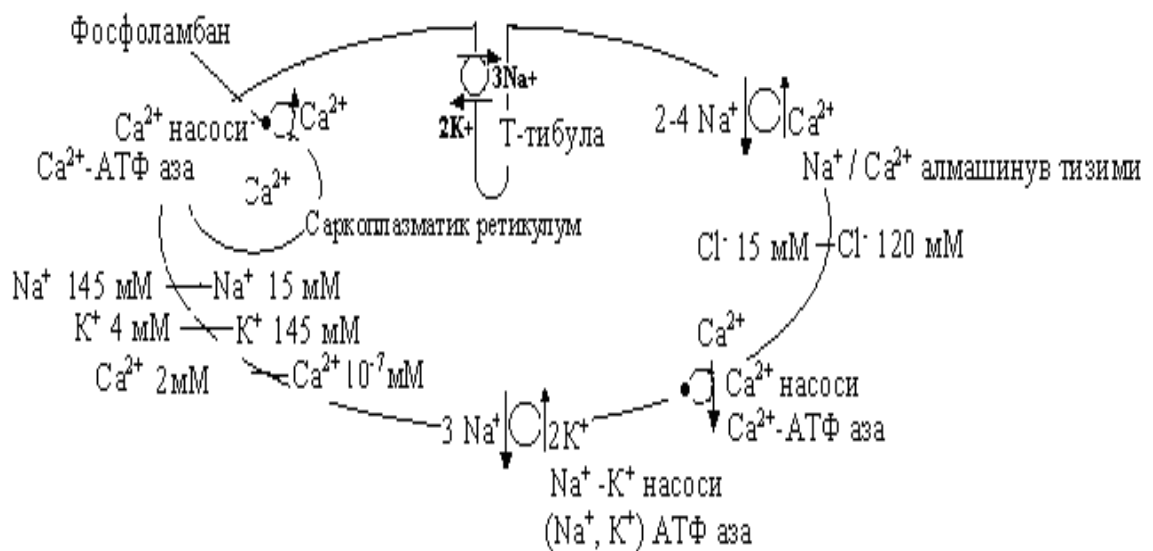
Rasm 4. Membranada harakat potentsialining kelib chiqish sxemasi

Harakat potentsialining vujudga kelishi nerv va muskul tolalari membranasining natriy va kaliy ionlariga nisbatan o'tkazuvchanligining o'zgarishiga bog'liq. Tasirlovchi membranani oz miqdorda depolyarizatsiyaga uchratadi. Bu boshlang'ich depolyarizatsiya natriy kanallarining bir qismini ochib hujayra ichiga

qaratilgan kuchsiz natriy oqimini hosil qiladi. Oqim depolyarizatsiyani kuchaytiradi, ochilgan kanallar soni ko'payib, membrananing natriy kationlari uchun o'tkazuvchanligi 10-20 baravar oshib ketadi.



Rasm 5. Kardiomiotsitlar membranasida harakat potentsialining kelib chiqish sxemasi



Rasm. 6. Kardiomiotsit hujayrasi membranasida ion kanallari va ionlar taqsimoti

Natijada natriy ionlari elektr kimyoviy gradient buyicha hujayra ichiga kira boshlaydi. Membrana ichki yuzasi tashqi tomonga nisbatan musbat zaryadga ega bo'lib qoladi. Bu harakat potentsialining **depolyarizatsiya** bosqichi hisoblanadi. Kanallarning ochilishi hujayra ichiga qaratilgan natriy oqimini hosil qiladi.

Natriy kationlarining hujayraga juda tez kirishi depolyarizatsiyani cho'qqisiga etkazadi. Inaktivatsion darvozalar yopilishi bilan natriy oqimi tuxtaydi. Shu vaqtning o'zida depolyarizatsiya natijasida kaliy kanallari sekin ochiladi va tashqariga qaratilgan kaliy oqimi tezlashadi va membranani repolyarizatsiya holatiga o'tkazadi. Kaliy oqimi davomli bo'lsa, membrana giperpolyarizatsiya holatiga o'tishi mumkin.

Miokard hujayralarida tinchlik potentsiali -90 mV atrofida qiymatga ega bo'lib, deyarli to'liq K^+ ionlari kontsentratsiyasi gradienti bo'yicha ifodalanadi. Miokard hujayralarida tinchlik potentsiali peysmekker tarmoq hujayralarida -60 mV ga teng. Miotsit membranasi ionlar taqsimotida hujayra tashqi muhitida Na^+ ionlari miqdorining yuqoriligi, yani 145 mM ga teng. Cl^- ionlari 120 mM, K^+ ionlari miqdori esa nisbatan past, yani 4 mM qiymatga ega. Erkin Ca^{2+} ionlari $[Ca^{2+}]_o$ miqdori 2 mM atrofida bo'ladi. Sarkoplazmada esa Na^+ ionlari miqdori past 15 mM va Cl^- ionlari 6 mM, K^+ ionlari miqdori esa nisbatan yuqori, yani 150 mM ni tashkil etadi. Hujayra sarkoplazmasida erkin Ca^{2+} ionlari $[Ca^{2+}]_i$ kontsentratsiyasi 10^{-7} M, qisqarish vaqtida 10^{-5} , hatto 10^{-4} M gacha ko'tariladi. Umumiy $[Ca^{2+}]_i$ miqdori 2 mmol / kg ga yaqin va uning anchagina qismi hujayra ichki oqsillari bilan bog'langan yoki mitoxondriya, sarkoplazmatik to'r tsisternalariga yig'ilgan holatda bo'ladi. Miokard hujayrasi tashqi va ichki tomonlarida ionlarning bunday taqsimoti tinchlik va harakat potentsialini asoslab beradi. 8.1.2-rasmda miokard hujayra membranasiidagi ion kanallari va ionlar taqsimoti aks ettirilgan. Miotsit hujayra membranasiida tinchlik paytida K^+ kanallari ochiq holatda, yani membrananing K^+ ioniga nisbatan o'tkazuvchanligi yuqoriligi sababli kontsentratsiya gradienti bo'yicha K^+ ionlari membrana tashqarisiga chiqib turadi va membrana tashqi qismida musbat (+) zaryad ko'payadi, ichki qismida esa anionlar miqdori ortadi va

manfiy (-) zaryadga ega bo'lib qoladi. Bu holat miotsit hujayra membrana tinchlik potentsiali vujudga kelishini asoslaydi. Bu potentsial K^+ ionlarining chiqishiga qarshilik ko'rsatuvchi kuch K^+ ionlari osmotik bosimiga tenglashguncha ortib boradi va E_{K^+} -kaliyli muvozanat potentsiali deb ataladi. Tashqaridan membrana ichki anionlari tasirida va gradient bo'yicha tashqi Na^+ ionlari membrana ichki tamoniga o'ta boshlaydi va ichki Na^+ ionlari ATF sarflanish hisobiga faol tashilishini taminlovchi $Na^+ -K^+$ ion nasosi yordamida tashqariga chiqariladi.

$Na^+ -K^+$ ion nasosi. Miotsit hujayrasi ichki va tashqi muhitidagi ionlar kontsentratsiyasi bir xilligi membrana orqali metabolik energiya sarflanishi bilan ionlarning kontsentratsiya gradientiga qarshi faol tashilish mexanizmlari orqali taminlab turiladi. $Na^+ -K^+$ ion nasosi miotsit hujayra membranasida va T-tibulalar devorida joylashgan bo'lib, $Na^+ -K^+$ ionlarining bog'langan transport tizimi hisoblanadi. Bu tizim ishlashi uchun malum sharoit talab etiladi, masalan hujayra tashqarisida $[K^+]_o = 0$ bo'lsa, bu mexanizm tabiiyki ishlamaydi. Hujayra tashqarisiga chiqarilayotgan Na^+ ionlari va kontsentratsiya gradientiga qarshi kiritilayotgan K^+ ionlari o'rtasidagi nisbat turli adabiyotlarda turlicha 3:2, 3:3, 3:1 kabi ko'rsatilgan. Odatda esa, ushbu nisbat 3:2 holatda ifodalanadi, 3:3 xolat noelektrogen bo'lib, bunday xolatda membranada potentsiallar farqi kuzatilmaydi. $Na^+ -K^+$ ion nasosining harakatlantiruvchi kuchi $(Na^+, K^+) -ATF$ aza fermenti hisoblanib, uning faollashishi uchun Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} ionlari kerak bo'ladi. Miotsit hujayra membranasining ichki tomonida bu tizim ishlashi uchun Na^+ , Mg^{2+} ionlari, ATF, membrana tashqi tomonida esa K^+ ionlari bo'lishi talab etiladi. Dastlab oraliq fosforlanishda Na^+ ionlari va defosforlanishda K^+ ionlari qatnashadi. $Na^+ -K^+$ ion nasosi 3 ta Na^+ ionini hujayradan chiqarib yuborishi uchun bir molekula gidrolizlangan ATF sarflanadi. $(Na^+ -K^+) -ATF$ aza tizimi yurak glikozidlarining membrana tashqi tamoniga tasiri ostida, shuningdek sulfigidril reagentlar, N-etilmaleimid, simob va etakrin kislota asosidagi diuretik moddalar ferment faollashishidagi SH-guruhini bog'lash orqali ingibirlaydi. $Na^+ -K^+$ nasosining bloklanishida dastlab tinchlik potentsiali E_M bir oz qutbsizlanish tasirida

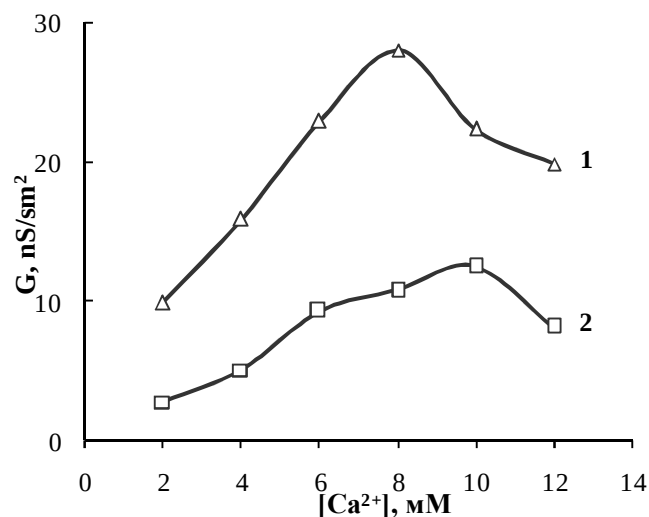
2-6 mV ga o'zgaradi. Qisqa vaqt davomida blokada qo'zg'aluvchanlik va xarakat potentsialiga tasir ko'rsatmasada, bir necha minutdan so'ng E_M tinchlik potentsiali qiymati va hujayra yuzasi kengligiga bog'lik holda ionlar kontsentratsiya gradientining pasayishi kuzatiladi. Natijada qutbsizlanish ortib, xarakat potentsiali o'sishi pasayadi va nihoyat qo'zg'aluvchanlik yuqoladi. Shu holatda membrana tinchlik va harakat potentsiali qiymati bevosita $Na^+ - K^+$ ion nasosining faoliyati bilan bog'liq. $Na^+ - K^+$ ion nasosi tizimining ishlash tezligi miokard hujayralarida yurak ritmi chastotasiga bog'likligi qayd etilgan.

II BOB. TADQIQOD NATIJALARI VA ULARNING MUHOKAMASI

II.1. Membrana o'tkazuvchanligini o'rganishning zamonaviy usullari

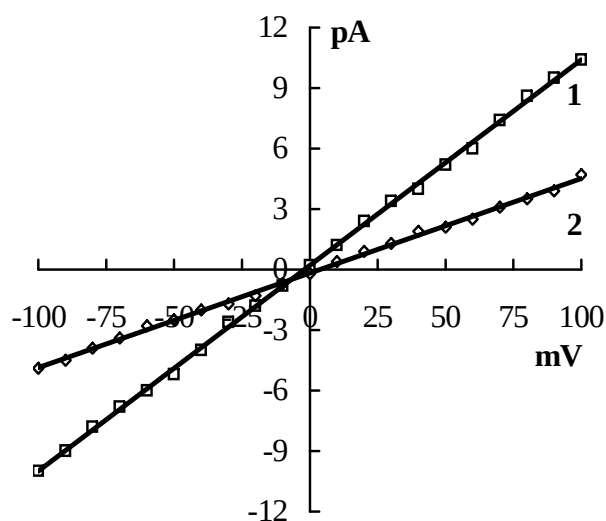
Lagochilus trkumi o'simliklari asosida olinadigan diterpenoidlarning membranafaol xossalarini o'rganish uchun ularning qo'shqatlamli lipid membranalar o'tkazuvchanligiga tasiri o'rganildi. Tajribalarimizda shu narsa aniqlandiki, lipid membranalarining o'tkazuvchanligi membranani yuvib turuvchi eritmasiga solingan aniq bir diterpenoidga bog'liq. Lipid membranani yuvib turuvchi eritmada bir yoki ikki valentli elektrolitlar bo'lishiga qaramasdan, eksperimental yachaykaga lagoixilin va uning lagoden, Lz, dİPL, Lzd va İPLz kabi hosilalarini (200 mkM konsentratsiyagacha) solganimizda qo'shqatlamli lipid membranalarining o'tkazuvchanligi oshmadi. Lekin, İPL va EL diterpenoidlaridan hoxlagan bittasi eritmaga o'tkazilganda qo'shqatlamli lipid membrananing o'tkazuvchanligi, 2-5 mkM boshlab, ularning konsentratsiyasiga bog'liq ravishda ortib bordi. Odatda qo'shqatlam o'tkazuvchanligining ortishi, bu biologik faol moddalarni membranani yuvib turuvchi eritmaga solgan vaqtdan boshlanadi. qo'shqatlam o'tkazuvchanligining yakuniy miqdori otseklarning bittasiga yoki ikkalasiga ham diterpenoid solinganiga bog'liq bo'ldi. İkkala tomonga ham solinganda o'tkazuvchanlik ancha katta bo'ldi. Qo'shqatlamli lipid membrananing maksimal o'tkazuvchanligi İPL uchun 55 mkM va EL uchun 60 mkM konsentratsiyalarida kuzatildi (7-rasm). Bu, diterpenoidlar bilan indutsirlangan lipid qo'shqatlamning o'tkazuvchanligidan dalolat beradi.

Shuning bilan birga qo'shqatlamli lipid membrananing o'tkazuvchanligi modifikatsiyalangan membrana faol diterpenoidlarning Sa^{2+} ionlarini tutishi bilan bog'liqligi aniqlandi. Bu ionlarning maksimal konsentratsiyasi İPL ishtirokida 8 mM va EL ishtirokida 10 mMni tashkil qildi.



7-Rasm. IPL (1) i EL (2) ishtirokida qo'shqatlamli lipid membranalar o'tkazuvchanligining Ca^{2+} ionlari konsentratsiyasiga bog'liqligi

Bu maksimumlar Ca^{2+} ionlarining yuqori konsentratsiyasida BLM Wtkazuvchanligining to'yinishi va blokada qilinishini ko'rsatadi. IPL va EL bilan Ca^{2+} ishtirokida modifikatsiya qilingan qo'shqatlamli lipid membrananing volt-amper xarakteristikasi -100 dan $+100$ mV potentsialda chiziqli, nolga nisbatan simmetrik bo'ldi (8-rasm).



8-Rasm. Ca^{2+} ionlari ishtirokida IPL (1) va EL (2) lar bilan modifitsirlangan BLMning volt-amper xarakteristikalari

Bir tomondan bu shuni ko'rsatadiki, diterpenoid-indutsirlangan transport elektrogen hisoblanadi, yani o'tuvchi ionlar birikmalarining membrana orqali olib o'tilishi membranaga beriladigan kuchlanishga bog'liq. Kuchlanishning past qiymatlarida yuqori qiymatlariga qaraganda diterpenoid-ion kompleksiga qo'shqatlamda reorganizatsiyasi uchun ko'p vaqt kerak. Boshqa tarafdin esa bu moddalarning ionlarni transport qilish jarayonida chegaralovchi faktor membrana orqali diffuziya protsessi hisoblanadi. Membrana faol diterpenoidlar bilan modifikatsiya qilingan qo'shqatlamlarning kation-anion selektivligini o'rganish shuni ko'rsatadiki, bu o'tkazuvchanlik ikki valentli kationlar uchun bo'lib, ularning bir valentlilari uchun ahamiyatli emas, bunday natija bir va ikki valentli elektrolitlarni eritma sifatida qo'llanilganda olindi. Demak, NaCl va KCl (50mM/150mM; *tsis/trans*) kontsentratsiyalaridagi uch barobar gradientda IPL va EL modifikatsiya qilingan biologik lipid membranada o'tkazuvchanlik kuzatilmadi. Diterpenoidlar modifikatsiya qilingan qo'shqatlamli lipid membranada elektrolitlarning 1:1 nisbatda bo'lishi, uning bir valentli kationlar uchun o'tkazuvchanligini yo'qotadi. Modifikatsiyalangan lipid qo'shqatlamlarning kation-anion selektivligi, qo'shqatlam eritmasi elektrolitlarini 2:1 nisbatga ajratganda kuzatiladi. Nolinchi tok potentsialining musbat qiymati shuni ko'rsatadiki, unga ko'ra terpenoidlar modifikatsiyalangan membrana orqali anionlarga qaraganda kationlar yaxshi o'tar ekan. *Tsis*-5mM/*trans*-15mM CaSO_4 sistemadagi nolinchi tok potentsiali (V^*) agar qo'shqatlamli lipid membranaga IPL modifikatsiya qilingan bo'lsa $9,6 \pm 0,5$ mVga teng. Membranani analogik sharoitda EL modifikatsiya qilinganda V^* ning qiymati yuqoridagiga qaraganda kattaroq bo'ladi va $12,0 \pm 0,5$ mV ni tashkil qildi. CaSO_4 ning hozirgi gradienti uchun hisoblab topilgan nazariy potentsiali 12,5 mV ga teng. U IPL da modifikatsiyalangan membranalar Ca^{2+} ioni uchun yuqori tanlab o'tkazuvchanlikka ega, u holda EL modifikatsiya qilganda – ideal hisoblanadi. Bu esa yana bir bor diterpenoidlar modifikatsiya qilgan lipid qo'shqatlam ikki valentli kationlar uchun katta o'tkazuvchanlikka ega ekanligini ko'rsatadi. Wtkazuvchanlikka bog'liq

bo'lgan har xil ikki valentli kationlarning baholanishi elektrolitlar 2:1 nisbatda olingan 10 mM eritmani 2 ga bo'ladigan diterpenoidlar bilan modifikatsiya qilingan qo'shqatlamli lipid membranada o'tkazildi. Bu yacheykalarning birida hamma vaqt CaCl_2 eritmasi bo'lgan. Tajribalarda shu narsa aniqlanganki, membrana faol diterpenoidlar bilan modifikatsiya qilingan qo'shqavat membrana orqali Zn^{2+} boshqalariga qaraganda osonroq o'tarkan. Fiksatsiya qilinganda yacheykadagi nolinchi tok musbat potentsial qiymatga erishadi. Boshqa hamma kationlar bilan, CaCl_2 yachaykasidagi nolinchi tok manfiy potentsial qiymatiga erishgan. Nolinchi tok potentsialining olingan qiymatlari 1-jadvalda keltirilgan. Agar Zn^{2+} ioni o'tkazuvchanlikning maksimal qiymatiga ega bo'lgan bo'lsa, Sr^{2+} ioni esa – minimal o'tkazuvchanlikni hosil qildi (qolgan ikki valentli kationlar oraliq holatda).

1-jadval

Diterpenoidlar bilan modifikatsirlangan qo'shqatlamli lipid membrananing 10mM Ca^{2+} /10mM Me^{2+} juftligi uchun nolinchi tok potentsiallari (mV)

Modifikatsirlovchi diterpenoid	Me^{2+}			
	Zn^{2+}	Mg^{2+}	Ba^{2+}	Sr^{2+}
IPL	+5,3±0,1	-4,77±0,5	-5,6±0,5	-11,0±0,7
EL	+8,77±0,1	-7,4±0,1	-8,6±0,3	-14,3±0,7

U holda ikkita membrana faol diterpenoidlarning hoqlagan bittasi bilan modifikatsiya qilingan qo'shqatlamli lipid membrana uchun, tekshirilayotgan kationlar qo'shqavat membrana orqali o'ta olish qobiliyatiga qarab quyidagicha qatorda joylashtirish mumkin: $\text{Zn}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Ba}^{2+} > \text{Sr}^{2+}$.

Olingan natijalardan shunday xulosa qilish mumkinki, diterpenoidlar bilan modifikatsiya qilingan membranalar ikki valentli ionlarni yaxshi o'tkazadi.

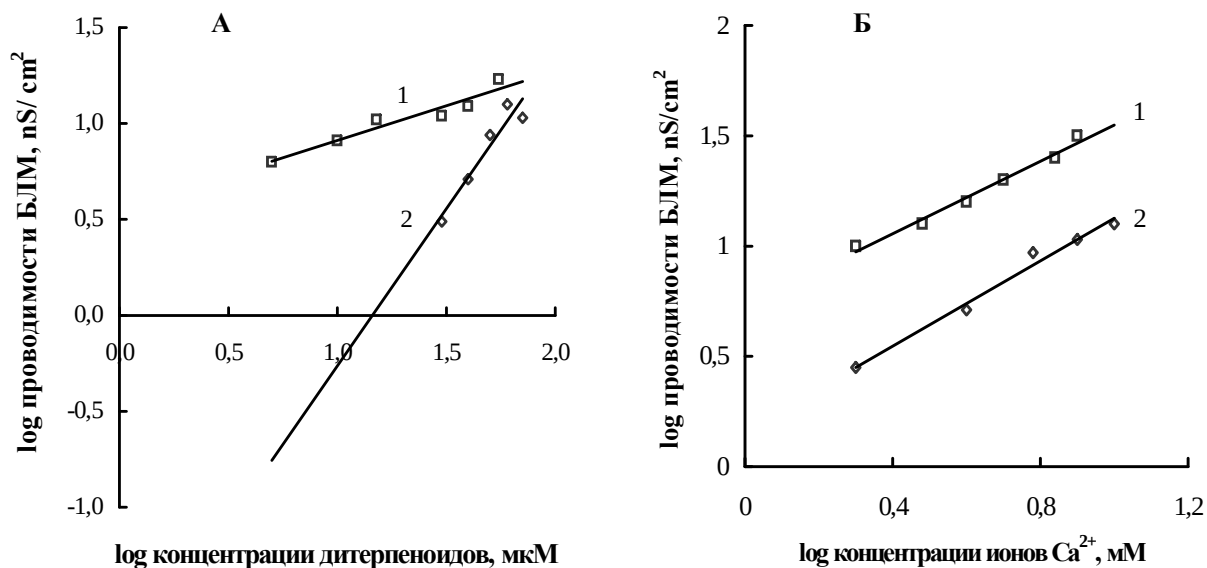
Shunisi qiziqki, membrana faol diterpenoidlar bo'lgan bu kichik molekulalar harakatlanuvchi tashuvchilar sifatida tashiluvchi kationlar bilan kompleks hosil qilib membrana o'tkazuvchanligini oshiradi.

Tok tashuvchi strukturalarning mumkin bo'lgan stexiometriyasini o'rnatish, shuning bilan birga «ionofor:kation» kompleksini hosil qiladigan diterpenoid molekulalari va Ca^{2+} ionlarining minimal miqdorini baholash uchun, qo'shqatlamli lipid membrana statsionar o'tkazuvchanligining IPL, EL va Ca^{2+} ionlari kontsentratsiyasiga bog'liqligi o'rganildi. Diterpenoidlar eksperimental yachaykaning har ikkala tarafiga ham solingan sharoitda shu narsa kuzatildiki, qo'shqatlamli lipid membrana statsionar o'tkazuvchanligining bu ikkala membranaaktiv diterpenoid kontsentratsiyalariga bog'liqligi ikkilik logarifmik koordinatada chiziqli bo'ldi. Qiyalik burchagining tangensi quyidagicha qiymatlarga ega bo'ldi: bunda IPL uchun $1,1 \pm 0,2$ va EL uchun $2,03 \pm 0,4$. Olingan natijalar shuni ko'rsatadiki, diterpenoidlarning 1 yoki 2 molekulasini tok tashuvchi strukturani hosil qiladi.

Qo'shqatlamli lipid membrana statsionar o'tkazuvchanligining Ca^{2+} ionlariga bog'liqligi grafigi ham ikkilik logarifmik koordinatada (8-10 mkMgacha) chiziqli bo'ldi va qiyalik burchagi tangensi IPLda $1,2 \pm 0,3$ va ELda $1,3 \pm 0,2$ qiymatlariga ega bo'ldi. Olingan malumotlar shuni ko'rsatadiki, ion-tashuvchi kompleksning hosil bo'lishida, IPLda bitta va ELda ikkita molekula diterpenoid va bitta Ca^{2+} ioni qatnashadi, va bu komplekslar A23187 va X537A kabi mashhur Ca^{2+} ionoforlar uchun analogik bo'lgan «sendvich» kompleksini hosil qilishi mumkin. Ammo $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^+$ almashinuvini taminlovchi karboksilat ionoforlardan farq qilgan holda, membranaaktiv diterpenoidlar elektrogen rejimda ishlaydi va transmembrana potentsialini hosil qiladi.

Demak, gidrofob qismning salgina ortishi natijasida (qo'shimcha metil guruhlarining qatnashishi hisobiga) IPL dan EL ga o'tgan vaqtda modifikatsiyalangan membrananing Zn^{2+} ioniga bo'lgan o'tkazuvchanligi kamayadi, lekin Sr^{2+} ionlariga bo'lgan o'tkazuvchanlikning ortishiga olib keldi. Bunday ajralish lagoxilinning boshqa hosilalarining Ca^{2+} ionlari bilan komplekslarining stexiometriyasida ham kuzatiladi. Bunday ajralish IPL uchun 1:1 (ionofor:kation), EL uchun esa bu ko'rsatkich 2:1 ga yaqin (9-rasm). U holda

yuqoridagilardan quyidagicha xulosa chiqarish mumkin: diterpenoidlarning membranaaktivligi ularning kimyoviy strukturasi bog'liq.



9-Rasm. İkkilik logarifmik koordinatalarda BLM o'tkazuvchanligining İPL (1) va EL (2) (A) va Ca²⁺ iolari (B) kontsentratsiyalaridan bog'liqligi

Shunday qilib, labdan qatoridagi faqat ikkitata diterpenoidlarga (İPL va EL) kationlar uchun lipid qo'shqavatning Wtkazuvchanligini ularning dozasi bog'liq ravishda oshirib boradi. Bu qatorning qolgan diterpenoidlari ionofor xususiyatni hosil qilmaydi.

Wrganilgan lagoxilin hosilalarining membranotrop faolligidagi bu ajralishi, hammasidan ko'ra, lipidli matriksga joylashish qobiliyati va har xil darajadagi lipidlarga yaqinligi bilan bog'liq.

II.2. Moddalarning membrana faolligi va ta'sir mexanizmi

Differentsial skanirlovchi kalorimetriya (DSK) usuli bilan membranafaol diterpenoidlarning dimiristoilfosfatidilxolin (DMFX)dan tashkil topgan multilamellar qo'shqatlamlar bilan tasirini o'rganish yordamida İPL va EL

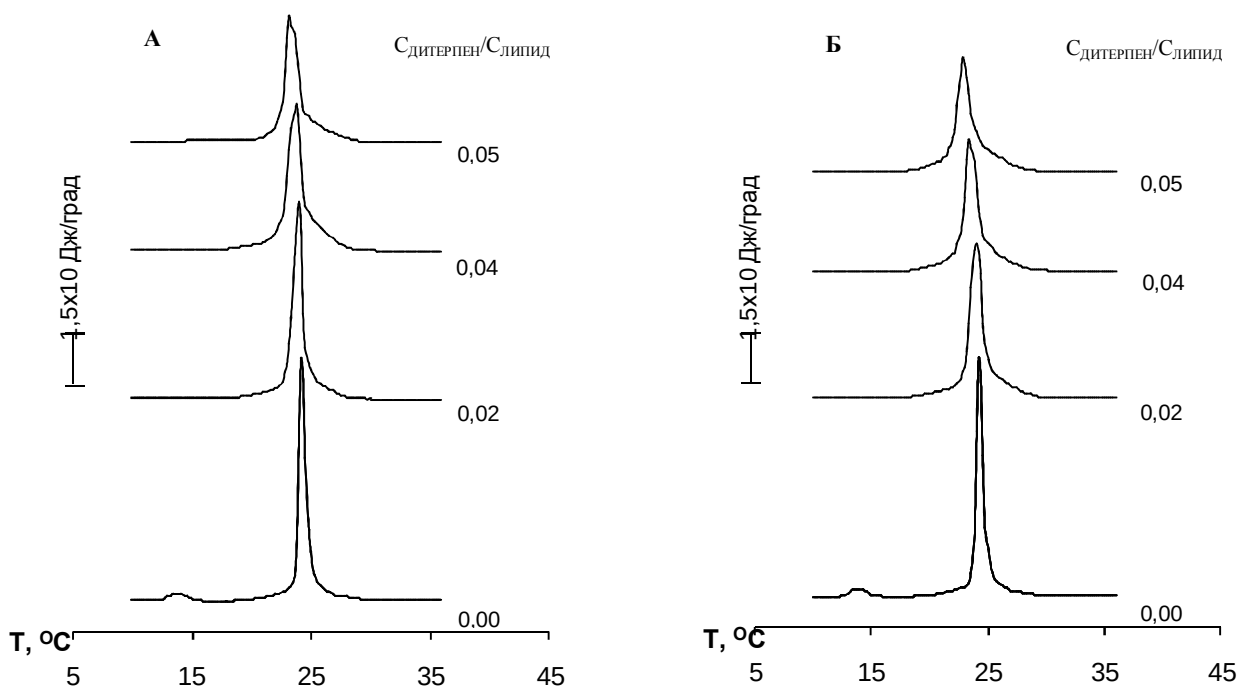
molekulalarining lipid qo'shqatlamlariga o'rinalashishining to'g'ridan-to'g'ri isboti olindi. Lipid qo'shqatlamlarining erish jarayonini ifodalovchi asosiy termodinamik parametrlar 2-jadvalda ko'rsatilgan bo'lib, ular: 1) lipidning asosiy gel-suyuq kristall fazaviy o'tish temperaturasi (T_w) – bu erish jarayonining energetik bahosi, 2) erish pikining yarmiga teng keladigan eni (ΔT) – bu erish jarayonining kooperativligini belgilaydi, 3) umumiy entalpiya qiymati ($\Delta H/\Delta H_0$) – bu erish jarayonining issiqlik effekti bilan bog'liqdir.

2-jadval

IPL, EL va ularning Ca^{2+} ionlari bilan kompleklari (IPL: Ca^{2+} -1:1, EL: Ca^{2+} -2:1) tasirida DMFX qo'shqatlami erish jarayonining termodinamik parametrlarining qiymatlari

Tajriba sharoiti	$S_{diterpenoid} \cdot C_{lipid}$	DMFX erishi parametrlari		
		$T_w, ^\circ C$	$1/2\Delta T$	$\Delta H/\Delta H_0$
Kontrol	-	24,3	0,6	1,00
IPL	1:50	23,9	1,4	0,97
IPL	1:25	23,4	1,6	0,88
IPL	1:20	22,6	1,8	0,41
IPL: Ca^{2+} -1:1	1:50	23,8	1,4	0,96
IPL: Ca^{2+} -1:1	1:25	23,1	1,6	0,85
IPL: Ca^{2+} -1:1	1:20	22,7	1,8	0,84
EL	1:50	23,9	0,8	0,99
EL	1:25	23,7	1,4	0,95
EL	1:20	23,3	1,4	0,87
EL: Ca^{2+} -2:1	1:50	24,0	1,0	0,89
EL: Ca^{2+} -2:1	1:25	23,5	1,2	0,76
EL: Ca^{2+} -2:1	1:20	22,9	1,4	0,75

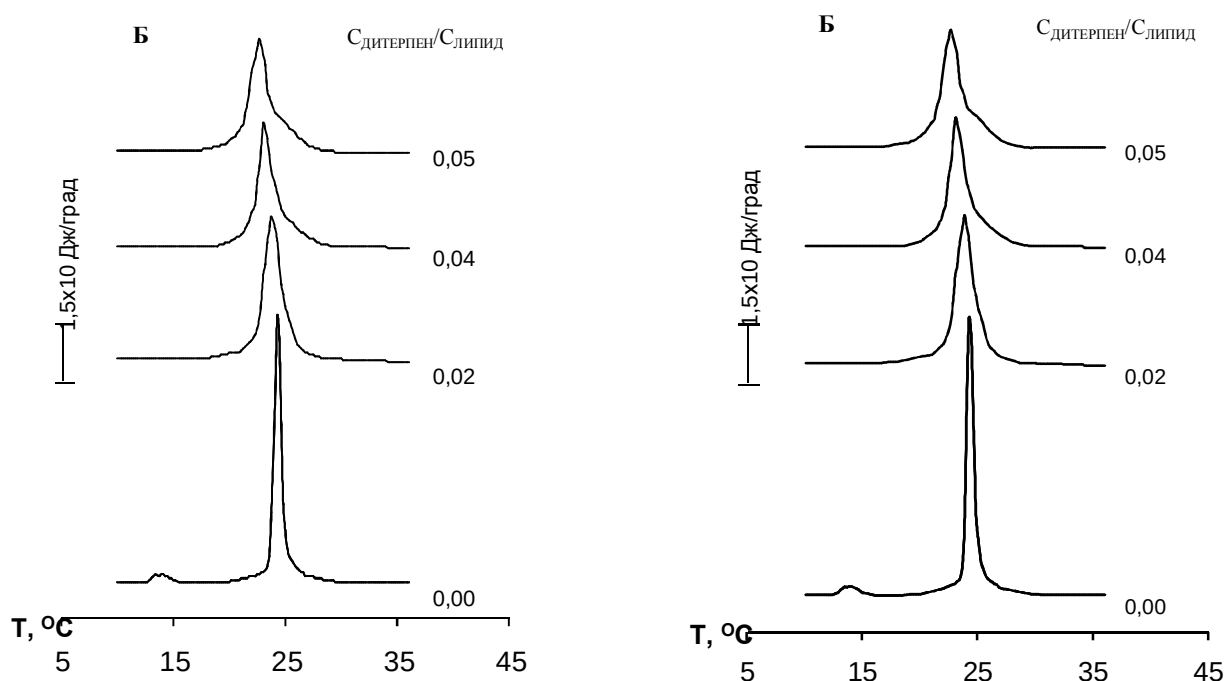
Odatda lipid sistemalarning fazaviy o'tish jarayonida membranafaol molekularlar qo'shqatlam bilan tasirlashishi natijasida erish jarayonining umumiy entalpiya qiymati kamayishi kuzatilsa – bu, o'tish jarayonidan lipidning ayrim qismining chetlatilishi va mehmon molekularining lipid matriksiga kirishi sababli qo'shqatlamning dastlabki tuzilishining buzilishi bilan tushuntiriladi. Wrganilgan diterpenoidlar molekularining butunlay yoki qisman fosfolipidning uglevodorodli zanjiriga kirishi qo'shqatlamning dastlabki tuzilishining buzulishiga sabab bo'lib, lipid sistemasining asosiy fazaviy o'tish kooperativligining kamayishiga olib keladi. Bu o'z navbatida lipidning gel-suyuq kristall asosiy fazaviy o'tish temperaturasi (T_w)ning kamayishi, erish jarayonining kooperativligini (ΔT)ning ortishi, shuningdek umumiy entalpiya qiymati ($\Delta N/\Delta N_0$)ning kamayishiga sabab bo'ladi. Molekulasida gidrofob qismga ega bo'lmagan diterpenoidlar (L_x va L_d) lipid matriksining asosiy termodinamik parametrlariga hech qanaqa o'zgartirishlar kiritmadi va bu ularning membranatroplikga ega emasligidan darak beradi.



10-Rasm. EL (A) va uning Ca^{2+} ionlari bilan kompleksi ($\text{EL}:\text{Ca}^{2+}-2:1$) (B) tasirida DMFX qo'shqatlami erish jarayonining termogrammalari

Molekulasida gidrofob qism yoki qismlar mavjud bo'lgan diterpenoidlar lipid sistemalarning dastlabki tuzilishini (kontrol) tubdan o'zgartirib, ularning fazaviy o'tish jarayonining termodinamik xarakteristikasi qiymatlaridan katta farq qiluvchi natijalarni yuzaga keltiradi. Darhaqiqat, molekula gidrofobligi ortgan sari diterpenoidlarning lipid matriksiga o'rnalashishi nisbatan (termodinamik jihatdan) osonroq amalga oshadi. Buning dalili sifatida shuni aytish mumkinki, EL (10-rasm) molekulasida gidrofoblik faqat bir metil struktura hisobiga yuzaga kelib, uning qo'shqatlamga joylashishi boshqa membranatrop diterpenoidlarga nisbatan biroz passiv ko'rinishga ega bo'ldi.

İPL (11-rasm) molekulasida ikkita metil guruhlar hisobiga paydo bo'lgan gidrofoblik uning EL molekulasiga nisbatan faolroq ravshda lipidga o'rnalashishiga sabab bo'ldi. Va nihoyat, o'z molekulasida to'rt metil strukturaga ega bo'lishi natijasida gidrofob hisoblangan dİPL qo'shqatlamga hammasidan ko'ra juda oson kirib borishiga guvoh bo'ldik.



11-Rasm. İPL (A) va uning Ca^{2+} ionlari bilan kompleksi (İPL: Ca^{2+} -1:1) (B) tasirida DMFX qo'shqatlami erish jarayonining termogrammalari

Umuman, DSK usuli yordamida olingan malumotlar shuni ko'rsatadiki, o'rganilgan diterpenoidlarning multilamellyar qo'shqatlamga joylashishi ularning kimyoviy tuzilishiga bog'liq.

Shunday qilib, DSK usuli yordamida olingan natijalar tadqiqot uchun olingan diterpenoidlarning lipid qo'shqatlami bilan tasirlashuvi ularni molekulasidagi gidrofob qism yoki qismlar evaziga amalga oshishi va gidrofoblik ortgan sari mazkur birikmalarning lipid matriksiga kirib borishi nisbatan osonroq kechishi aniq ko'rsatib berildi.

Umumiylashtirib aytganda, fiziologik faol moddalarning qo'shqatlamli lipid membranalariga nisbatan ionoforlik va membranatroplik xossalarini namoyon etishini o'rganish maqsadida olingan diterpenoidlar misolida membranafaollik moddalarning kimyoviy tuzulish xususiyatlariga to'g'ridan-to'g'ri bog'liq ekanligi ko'rsatildi.

Shunday qilib, DSK usuli yordamida olingan natijalar tadqiqot uchun olingan diterpenoidlarning lipid qo'shqatlami bilan tasirlashuvi ularni molekulasidagi gidrofob qism yoki qismlar evaziga amalga oshishi va gidrofoblik ortgan sari mazkur birikmalarning lipid matriksiga kirib borishi nisbatan osonroq kechishi aniq ko'rsatib berildi. Umumiylashtirib aytganda, fiziologik faol moddalarning qo'shqatlamli lipid membranalariga nisbatan ionoforlik va membranatroplik xossalarini namoyon etishini o'rganish maqsadida olingan diterpenoidlar misolida membranafaollik moddalarning kimyoviy tuzulish xususiyatlariga to'g'ridan-to'g'ri bog'liq ekanligi ko'rsatildi. Tadqiqot uchun olingan diterpenoidlar tuzilishidagi asosiy farq ularning molekulasidagi S_3 va S_{18} , S_{15} va S_{16} holatlardagi funktsional guruhlar hamda o'rinbosarlar tabiatidan iboratdir va shunga qarab o'rganilgan moddalarni shartli turda to'rt guruhga ajratish mumkin: 1) molekulasida C_3 va C_{18} , C_{15} va C_{16} holatlarda erkin funktsional guruhlariga ega bo'lgan birikmalar (L_x va L_d); 2) molekulasida faqat C_3 va C_{18} holatlardagi gidroksil guruhlarini blokirlangan moddalar (IPL va EL); 3) molekulasida faqat C_{15} va C_{16} holatlardagi gidroksil guruhlarini yopilgan birikmalar (L_z); 4) molekulasida

C_3 va C_{18} , C_{15} va C_{16} holatlardagi hamma gidroksil guruhlari blokirlangan moddalar (dİPL, Lzd va İPLz). Bizning tajribalarimizda 2-guruhga tegishli bo'lgan yoki molekulasida faqat C_3 va C_{18} holatlardagi gidroksil guruhlari blokirlangan, lekin C_{15} va S_{16} holatlarda –ON guruhlari erkin bo'lgan diterpenoidlar (İPL va EL) ionofor va membranotrop xususiyatlarni namoyon etdi. Qolgan guruhlarga tegishli bo'lgan diterpenoidlar ionofor xossalarni ko'rsatmadi. Barcha usullar yordamida olingan natijalar yig'indisidan o'rganilgan diterpenoilarning ionofor va membranotrop xossalarni namoyon etishi bevosita ularning kimyoviy tuzilishiga bog'liq degan xulosaga kelish mumkin. Sababi, İPL va EL molekulasidagi etarli darajadagi (C_3 va C_{18} holatlardagi gidroksil guruhlari blokirlangan) metil strukturalarning mavjudligi bu diterpenoidlarning qo'shqatlamli membranalar lipid matriksiga joylashishi uchun kerak bo'lgan lipofillikni yuzaga keltirsa, molekulasidagi gidroksil guruhlarning aynan S_{15} va S_{16} holatlarda bo'lishi mazkur moddalarning qyashqatlam orqali olib yatiladigan kationlar bilan *ionofor:kation* kompleksini hosil qilish jarayonini optimallashtiradi.

Shunday qilib, o'tkazgan tajribalarimizdan to'plangan malumotlarni muhokama qilish orqali o'rganilgan birikmalar uchun «tuzilish-xossa» tipidagi qonuniyat yuzaga keldi.

II.3. Membrana o'tkazuvchanligini o'rganishda qo'llaniladigan zamonaviy fizik-kimyoviy, biofizikaviy va biokimyoviy usullarning mantiqiy sxemasi

Membranalar biofizikasi biomembranalarning tuzilishi va fizikaviy xususiyatlarini, suniy membranalar tuzilishi va xossalari, membrana potentsiallarining hosil bo'lish qonuniyatlarini o'rganadi. Membranalardan moddalarni passiv va aktiv transporti, diffuziya va o'tkazuvchanlik, ion kanallarining tuzilishi va xususiyatlarini ham membranalar biofizikasi bo'limida o'rganiladi. Hujayraviy jarayonlar biofizikasi hujayrada kechadigan fizikaviy va fizik-kimyoviy jarayonlarni o'rganadi. Bu bo'limning ahamiyati shundaki, har bir

to'qima hujayralardan tuzilgan va ular faoliyatida kechadigan jarayonlar mohiyati va mexanizmini biofizika fanisiz o'rganish va tushunish mumkin emas. Masalan, hujayra membranasi o'tkazuvchanligi, muskullar qisqarishi, nerv impulsi hosil bo'lishi va tarqalishi, retseptsiya, fotosintez, energiya almashinuvi va hokazo. Hujayra biofizikasi membranalar biofizikasi va molekulyar biofizika bilan uzviy aloqada bo'ladi. Tinchlik va harakat potentsiallarining hosil bo'lishi va tarqalishi, sinapslarning tuzilishi va potentsiallarining ular orqali o'tishini o'rganish elektrofiziologiya va neyrofiziologiyada, umuman biologiyada katta ahamiyatga ega. Bioenergetika tirik tizimlarda energiya hosil bo'lishi, transformatsiyasi, yani bir turdan ikkinchi turga o'tish va sarflanish qonuniyatlarini o'rganuvchi bo'limdir. Hujayrada ATF sintezini bog'lovchi membranalar – mitoxondriya, xloroplastlarning tilakoid membranalar va bazi mikroorganizmlar membranalarida elektrokimyoviy potentsiali hisobiga hosil bo'lishining kashf qilinishi XX asr biofizikasining erishgan yutuqlaridan biridir.

Albatta har bir fanning rivojlanishi u foydalanadigan usullarga va yondashuvlarga bevosita bog'liqdir. Biofizika boshqa fanlarning aniqlash usullaridan foydalanish bilan birgalikda hozirgi kunda turli xil optik usullar, γ -rezonans spektroskopiya, mikroelektrod texnika yordamida membrana potentsialini qayd etish, xemilyuminestsentsiya, lazer spektroskopiyasi, nishonlangan atomlar yordamida biologik jarayonlarni o'rganish kabi zamonaviy biofizika usullaridan xam keng foydalaniladi. Quyida zamonaviy biofizikaning ayrim tadqiqot usullari haqida malumot berilgan.

Elektron mikroskopiya usuli bilan makromolekulalar, membranalar, hujayra organoidlarining holati, shakl va o'lchamlari o'rganiladi.

Spektrofotometriya usuli eritmalardan o'tgan nurning bir qismi yutilishini o'lchashga asoslangan. Ushbu usul bilan eritmalarda modda kontsentratsiyasi o'lchanadi, makromolekulalarning ikkilamchi strukturasi, molekula ayrim guruhlarining ionlashuvi o'rganiladi.

Rentgen nurlari difraktsiyasi usuli bilan biomolekulalarning fazoviy strukturasi, ularning shakli va o'lchamlari, ikkilamchi struktura elementlarining fazoviy joylashish holatlari aniqlanadi.

Fluorestsent zondlar usuli. Ushbu usulda maxsus kimyoviy organik moddalar - zondlardan foydalaniladi. Zond "tikilgan" biomolekulaga malum bir to'lqin uzunligidagi nur bilan tasir etganimizda, ushbu molekula qo'zg'algan holatga o'tadi va o'zidan boshqa to'lqin uzunligidagi nurni chiqaradi hamda ushbu nur spektri fluorimetr asbobi bilan o'lchanadi. Fluorestsentsiya usuli bilan makromolekulalarning konformatsiya holati, xromofor guruhlarining harakatchanligi, bazi ionlarning membranalar orqali transporti o'rganiladi.

Doiraviy dixroizm usuli asosida qutblangan nurning optik faol molekulaga tasiri yotadi. Makromolekulalarning turli qismlari anizotrop bo'lganligi sababli nurni turlicha yutadi, hamda ushbu spektrlarni yozib olish mumkin.

IK-spektroskopiya usullari bilan infraqizil nur yordamida makromolekulalarning ikkilamchi strukturasi va to'lqinsimon dinamikasi o'rganiladi.

Differentsial spektrofotometriya usuli makromolekulalarning konformatsion holati, xromofor guruhlarining erituvchi molekulalari bilan o'zaro tasirini o'rganadi.

Elektron paramagnit rezonans (EPR) usuli bilan makromolekulalar konformatsiyasi, strukturalar va gidrat qavatlarini lokal harakatchanligini aniqlanadi.

Yadro magnit rezonans usuli makromolekulalar va ayrim guruhlarining konformatsiyasini, dinamik xossalari, ligandlarning bog'lanish darajasini aniqlashda qo'llaniladi.

Yuqorida ko'rib chiqilgan usullardan tashqari **potentsiometriya, rN-metriya, fotometriya va polyarografiya** usullardan biofizikada keng foydalaniladi.

III BOB. TAJRIBA QISMI

III.1. Membranalardagi elektrik potentsiallarni qayd qilish usullari

Qo'shqatlamli lipid membranalar Montal va Myuller metodiga asosan xona temperaturasida (25°C) hosil qilindi. Fosfolipidning xloroformdagi (40 mg/ml) eritmasi vakuum ostida quritiladi va n-oktanda ($20\text{ mkl lipid } 40\text{ mkl oktanda}$) eritiladi. Bu eritma hajmi 4 ml bo'lgan eksperimental yachaykadagi bufer eritmani ikkiga bo'ladigan, eni 25 mkm bo'lgan teflon to'siqda joylashgan teshikchada ($d=1\text{mm}$) pufakcha metodi orqali membrana hosil qilish uchun ishlatiladi. Yacheykadagi eritmani magnit meshalkasi yordamida aralashtiriladi. Eksperimental yachaykaning *tsis*-tomonoga tok beriladi. Berilgan potentsialning qiymati raqamli voltmetrda nazorat qilib turiladi. Eksperimental yachaykaning *trans*-tomoni virtual er qismi hisoblanadi. Tajribada EVL 1MZ standart AgCl elektrodlardan foydalanilgan bo'lib, u o'lchanayotgan yachayka bilan agarli ko'priklar orqali bog'langan. Hamma tajrabalar $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ da o'tkazildi. Membrananing elektr sig'imi qo'shqatlamli lipid membranalar sifatini va hosil bo'lishini nazorat qilib turish uchun o'lchanadi. Membrananing o'tkazuvchanligi $G+I/V$ orqali aniqlanadi. I – membrana orqali o'tuvchi tok; V – *tsis* tomomnidagi potentsial. Modifikatsiyalangan membrananing kation-anion selektivligi nolinch tok potentsialining qiymati bilan baholanadi. Bu potentsial membrana orqali Wtadigan tokni nolda ushlab turish uchun 1:1 va 1:2 elektrolitlar (*tsis/trans* 50/150 m/M; va *tsis/trans* 5/15;) aktivligining uch barobar gradeinti ishtirokida qo'shqatlamga berilishi kerak bo'lgan potentsialdir. Biologik lipid membrananing kation-anion selektivligi, 20 mM/10mM sistemasida 1 va 2 valentli metallarni taqqoslanganda va 10mM/10mM sistemasida ikki valentli metallarni taqqoslanganda biion potentsiallar kattaligi bo'yicha baholanadi. Bir xil valentlikdagi kationlar uchun Wtkazuvchanlik koeffitsentining bog'liqligi, ideal selektiv membrana uchun Goldman tenglamasi orqali hisoblanadi:

$$\frac{P_{K1}}{P_{K2}} = \exp \left[\frac{V^*}{\left(\frac{RT}{F_z} \right)} \right]$$

bu erda: R_{K1} va R_{K2} – solishtirilayotgan kationlarning mos ravishdagi o'tkazuvchanlik koeffitsienti; V^* – ion potentsiali; R – universal gaz doimiysi; T – absolyut temperatura; F – Faradey doimiysi; z - valentlik.

Bir (R_1) va ikki (R_2) valentli kationlar uchun o'tkazuvchanlik koeffitsientining bog'liqligi A. Shamu tomonidan taklif etilgan formula orqali hisoblaniladi:

$$\frac{P_1}{P_2} = 4 \frac{a_{Ca}}{a_{Me}} \left(\frac{\exp\left(\frac{FV^*}{RT}\right)}{1 + \exp\left(-\frac{FV^*}{RT}\right)} \right)$$

bu erda: a_{Sa} va a_{Me} - Sa^{2+} ionning va solishtirilayotgan bir valentli kationning aktivligi.

Selektivlik, bir vaqtning o'zida qo'shqatlamning ikki tarafida 1:1 va 2:1 elektrolitlar qatnashganda quyidagi formula orqali topiladi:

$$V^* = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{a_{Me_o} + 4 \left(\frac{P_2'}{P_1} \right) a_{Ca_o}}{a_{Me_i} + 4 \left(\frac{P_2'}{P_1} \right) a_{Ca_i} \times \exp\left(\frac{FV^*}{RT}\right)} \right)$$

bu erda: $P_2' = \frac{P_2}{1 + \exp\left(\frac{FV^*}{RT}\right)}$ a_{Ca_o} va a_{Me_o} , a_{Ca_i} va a_{Me_i} mos ravishda

qo'shqatlamning tsis va trans tarafidagi Sa^{2+} ioni va solishtirilayotgan elektrolitning aktivligi.

Statsionar volt-amper xarakteristikasi navbatdagi shaklda topiladi. Wtkazuvchanligi o'rganilayotgan diterpenoid tasirida statsionar darajadagi membranaga kuchlanishning to'g'ri burchakli manfiy va musbat impulsi berildi. Uning davomiyligi yangi statsionar ahamiyatdagi tarnsmembrana tokini o'rnatish uchun etarli bo'ladi (1 min.).

Qo'shqatlamli lipid membranalar uchun yacheykadagi eritmalarini tayyorlash uchun bidistirlangan suv va pH 7,4 bo'lgan 1 mM tris HCl buferidan foydalanildi. Diterpenoidlar 10^{-3} M konsentratsiyada DMSO da eritildi.

III.2. Membrana o'tkazuvchanligini o'rganishda qo'llaniladigan zamonaviy fizik-kimyoviy, biofizikaviy va biokimyoviy usullar

Mitsella hosil bo'lish jarayoni quyldagicha amalga oshadi. Eritma konsentratsiyasi malum bir darajaga erishgandan so'ng, eritmada sirt aktiv modda molekulalari o'z-o'zligidan agregatlana boshlaydi. Molekulalarning uglevodorodli dumlari, van-dervaals kuchlari tasiridan bir-birlariga yopiishib, mitsella yadrosini shakllantiradi, molekulalarning qutbli dumlari esa suv fazaga yo'nalib gidratlanadi. Demak, har bir mitsella uglevodorod yadro va unga kimyoviy bog'langan qutbli guruhlardan tashkil topib, gidrat qobiq bilan o'ralgan uglevodorod tomchisidan iborat. Mitsella xosil bo'lish jarayoni adsorbtsiya singari mustaqil va o'z-o'zligicha amalga oshadigan jarayon bo'lib, sistemaning erkin energiyasini kamaytaradi. Haqiqatdan ham, suv molekulalari bilan qutbli molekulalararo mavjud kogeziya kuchlari suv molekulalari bilan uglevodorod zanjirlariaro yuzaga keladigan tasirlanish kuchlariga qaraganda anchagina kuchlidir. Shuning uchun ham sirt aktiv modda molekulasining ularga qutubliligi jihatdan yaqin fazaga o'tish bilan bog'liq bo'lgan har qanday jarayon energiya nuqtai nazaridan foydalidir. Wta suyultirilgan mitsella hosil bo'lgan intilishi, erigan modda ortiqcha qismining sirt bo'limida to'planishi va uglevodorod zanjirlarining suv fazadan qutbsiz fazaga siqib chiqarilishi orqali qanoatlantirilib turiladi. Sirt bo'limida to'yingan adsorbtsiya qatlamining paydo bo'lishi bilan bu xildagi imkoniyatga o'rin qolmaydi. Sirt aktiv modda konsentratsiyasi yana ham oshganda minimal erkin energiyaga erishish, eritmada mitsella hosil qilish yo'li bilan boradigan srukturaviy o'zgarishlar hisobiga amalga oshadi. Bunda suv adsorbtsiya katlami shakllanayotganda mazkur qatlamdan qanday siqib chiqarilsa,

gidrofofob zanjirlar ham mitsellaning uglevodorod yadrosi tomon shu tarzda siqib chiqariladi. Mitsella yuzasi qutbli guruhlardan tashkil topganligi uchun gidrofil xususiyatga ega bo'lib, fazalararo erkin energiyaning minimal miqdoriga ega bo'ladi. Bu hol, o'z navbatida, mitsellaning dispersiya muhitiga nisbatan moyilligini shartlab, sistemani liofil kolloid xossaga ega qiladi.

Multilamellyar dispersiyalarning fazoviy o'zgarishlarining termodinamik parametrlarini aniqlash DASM-4 differentsial skanirlovchi mikrokalorimetrida olib borildi. Uning tezligi $1^{\circ}\text{C}/\text{min.}$ ga teng deb qayd qilindi. Kalorimetrik o'lchashlar uchun multilamellyar qo'shqatlamli lipidlarning spirtidagi eritmasini vakuum ostida quritish orqali tayyorlanadi. Keyin qurigan lipid qoldig'iga tris-HCl buferi (10mM, pH 7,4) va o'rganilayotgan moddadan kerakli miqdorda solinadi. Namuna asosiy fazoviy o'tishdan yuqoriroq temperaturadagi termostatga 5 minut qo'yiladi, 2 minut aralashtiriladi, 10 minut yana shu temperaturada ushlab turiladi, 4 minut aralashtiriladi va nihoyat 30 minut inkubirlanadi. Bu yo'l bilan lipid strukturasida kamchiliklarni yo'qotish uchun yumshatish o'tkaziladi. Lipidlar erish pikining entalpiya qiymatlari priborning issiqlik standartlariga mos keladigan qog'oz qirqim og'irligi bilan pik ostidagi maydonga to'g'ri keladigan qog'oz qirqim og'irligini solishtirish orqali topildi.

III.3. Namunalarning membrana faol xossalarini aniqlash va olingan natijalarni qayta islash usullari

Mitsellalar termodinamik jihatdan barqaror va shu bilan birga aksiga qaytar qurilma bo'lib, malum bir kontsentratsiya sharoitida paydo bo'ladi va eritma suyultirilganda esa tarqalib ketadi. Mana shu hol sirt aktiv moddalar eritmalarini haqiqiy kolloid sistemalardan farqlantiradi va ularning yarim kolloidlar deb atalishiga asos bo'lgan.

Mitsellalar yuza qatlamidagi qutbli guruhlarining elektrostatik itarishuvlari, erkin molekulalarning mitsellar agregatlarga birikishi, demak, tartiblanganlik

darachsasining oshishi va sistema intropiyasining kamayishi-mitsellalar kattaligini cheklaydi. Mitsella hosil qiluvchi ionlar (molekulalar) itarishuvlari bilan bog'liq entropiya omilining o'sishi, agregatsiyalanish evaziga sodir bo'ladigan energiyaning kamayishi bilan kompensatsiyalanadi. Natijada muvozanatlangan kattalikka ega mitsellalar qaror topadi. Sirt aktiv. moddalarning mitsella hosil qila olish qobiliyatli qutbli guruhlar soni va tabiati bilan shartlanadigan, molekulalarning gidrofilligi va shuningdek, uglevodorod radikallarining mavjudligi bilan belgilanadigan, gidrofillik, xususiyatlarining malum bir nisbatidagina namoyon bo'ladi. Mazkur xossalarning optimal balansi molekulalari oshkora gidrrfila guruhlar va avj olgan uglevodorod radikallaridan tashkil topgan sirt aktiv moddalarga xosdir. Balansning u yoki bu tomonga siljishi mitsella hosil bo'lishini cheklaydi. Mitsella paydo bo'lishida uglevodorod zanjirlarining uzunligi ham muhim bo'lib, mitsella faqat molekula gidrofillikni etarli darajada namoyon eta oladigan uzunlikka ega bo'lgan taqdirdagina (C-8 dan yuqori bo'lgandagina) yuzaga keladi. Sirt aktiv moddalarning yuqori kontsentratsiyalar sharoitida, eritmada tekis, ko'p qavatli mitsellalar qaror topadi. Tekis mitsellalar-molekulalarning biomolekulyar qatlamlaridan iborat bo'lib, ularda uglevodorod zanjirlari qatlam ichidan, qutbli guruhlar esa katamlar, tashqarisidan joy oladi.

Mitsella paydo bo'lishining kritik kontsentratsiyasini aniqlashda ishlatiladigan usullar-sirt aktiv moddalar eritmalari kontsentratsiyasi o'zgargan sharoitda, ular hajmni yoki sirt xususiyatlarining o'zgarishini qayd etishga asoslangan usullardir.

Kolloid zarrachalar (mitsellalar) sirt aktiv moddalarining erkin molekulalaridan adsorbtsiya, elektr o'tkazuvchanlik, yorug'lik nurini sochish kabi bir qator xususiyatlari bilan farqlanadi. Sirt aktiv modda molekulalari kontsentratsiyasining oshishi bilan molekulalarning agregat holatiga o'tishi, yuqorida sanab o'tilgan xossalarning kontsentratsiyaga bog'liq ravishda, o'zgarishini aks ettiruvchi egri chiziqda hosil bo'ladigan sinish, mitsella paydo bo'lishining kritik kontsentratsiyasiga mos qoladi.

XULOSA

1. Qo'shqatlamli lipid membranalar o'tkazuvchanligini o'rganish usuli yordamida tadqiqot uchun olingan diterpenoidlarning ichidan ikkitasi: 3,18-O-izopropilidenlagoxilin va 3,18-O-etilidenlagoxilinlar $Zn^{2+} > Ca^{2+} > Mg^{2+} > Ba^{2+} > Sr^{2+}$ qatoriga mos ravshda ikki valentli kationlar bo'yicha ionofor faollik ko'rsatishi aniqlandi.
2. Qo'shqatlamli lipid membranalar o'tkazuvchanligi o'rganilgan membranafaol diterpenoidlar va Ca^{2+} ionlari kontsentratsiyalariga bog'liqligi ko'rsatib berildi.
3. Differentsial skanirlovchi kalorimetriya usuli bilan diterpenoidlarning lipid qo'shqatlamiga o'rnalashishi tadqiqot uchun olingan moddalarning kimyoviy tuzilishiga va kontsentratsiyasiga bog'liq ekanligi aniqlandi.
4. O'rganilgan diterpenoidlarning ionofor va membranatrop xossalarni namoyish etishi to'g'ridan-to'g'ri ularning tuzilish xususiyatlariga bog'liq ekanligi ko'rsatib berildi. Diterpenoidlarning qo'shqatlam lipid matriksiga joylashishi moddalar molekulasidagi gidrofob qism yoki qismlar hisobiga amalga oshirilishi, membrana orqali olib yatiladigan kationlar esa gidroksil guruhlar yordamida fiksatsiya qilinishi ko'rsatib berildi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO'YHATI

1. Андреева О В , Гарифуллин Б Ф, Губайдуллин А Т, Альфонсов В А, Катаев В Е, Рыжиков Д В Кристаллические комплексы включения дитерпеноида изостевиола с ароматическими соединениями // Ж. структур химии -2007 -Т 48 -№ 3 -С 581-587
2. Андреева, О.В. Конюгаты дитерпеноида изостевиола и его производных с гидразидами пиридинкарбоновых кислот / Всероссийская научная конференция «Химия растительных веществ и органический синтез»: Тез. докл. - Сыктывкар. - 2009 - С. 3-4.
3. Ацтфосфонаты изостевиола / Мамедова В.Л', Никитина К.А.. Альфонсов В.А. // Изв. АН. Сер.хим.- 2009.- № 1.. с. 241-244.
4. Взаимодействие изостевиола с PCl_3 и его хлорангидрида с триалкилфосфитами / Никитина К.А., Мамедова В.Л., Альфонсов В.А. // V Всероссийская школа-конференция "Химия и технология растительных веществ": Тез. докл.- Уфа,- 2008,- С. 220.
5. Гарифуллин БФ, Стробыкина ИЮ, Ковыляева Г И, Катаев ВЕ Макроциклические соединения на основе дитерпеноида изостевиола // Тезисы докладов Всероссийской научной конференции "Природные макроциклические соединения и их синтетические аналоги" Сыктывкар 2-5 апреля 2007 года С 42-43
6. Дитерпеноид изостевиол в синтезе фосфорорганических соединений / Никитина К.А., Мамедова В.Л., Альфонсов В.А. // I' Региональная научно-практическая конференция "Синтез и перспективы использования новых биологически активных соединений", посвященная 80-летию кафедры общей и органической химии КГМУ: Тез. докл.- Казань.- 26-27 мая 2009. -С. 63-69.

7. Зайнудинов У.Н Исламов.А.Х., Далимов Д.Н., Матчанов А.Д. Сравнительное изучение дикорастущей и культурной форм *Lagochilus inebrians*. Химия растительного сырья.2011. №2.189-190.
8. Исламов.А.Х., Далимов Д.Н., Матчанов А.Д., Зайнутдинов У.Н. К окультуриванию эндемичного растения *Lagochilus inebrians*. Материалы I' Республиканской научно-практической конференции. 26-28 марта 2012г. с. 62-63.
9. Казакова О.Б., Третьякова Е.В., Смирнова И.Е., Спирихин Л.В., Толстиков Г.А., Чудов Е.В., Базекин Г.В., Исмагилова А.Ф. Синтез и противовоспалительная активность производных хинопимаровой кислоты. // Биоорганическая химия. 2010, Т.36(2). С. 277-282.
10. Клатраты изостевиола с ароматическими альдегидами в стереоселективном синтезе производных аминифосфоновых кислот I' Никитина К.А.. Мамедова В.Л., Катаева О.Н., Альфонсов В.А. // Международная научно-практическая конференция "Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения": Тез. докл.,- Новый Свет, АР Крым, Украина.- 25-30 мая 2009. -С. 135-136.
11. Ковыляева, Г.И. Взаимодействие дитерпеноида изостевиола с диоксидом селена / Г.И.Ковыляева, Р.Р.Шарипова, И.Ю.Стробыкина, О.И.Милицина, Р.З.Мусин, Д.В.Бескровный, А.Т.Губайдуллин, В.А.Альфонсов, В.Е.Катаев // Журн. общей химии. -2009. -Т. 79. -Вып. 12. -С. 2037-2040.
12. Корочкина, М.Г. Синтез и биологическая активность производных дитерпеноида изостевиола и гликозида стевиолбиозида, содержащих кватернизованный атом азота / М.Г .Корочкина, Р.Р.Шарипова, И.Ю.Стробыкина, А.Д.Волошина, Н.В.Кулик, В.Е.Катаев // Всероссийская научная конференция «Химия растительных веществ и органический синтез»: Тез. докл. - Сыктывкар. - 2009 - С. 54-55.

13. Л.Ю. Изотова, С.А. Талипов, Б.Т. Ибрагимов, Б. Бекбулатова, Р. Исламов, У.Н. Зайнутдинов. Рентгеноструктурное исследование тетраформиата лагохилина / Химия природ.соедин. 2000. №2. -С. 142-144.
14. С.А. Талипов, Л.Ю. Изотова, Б. Бекбулатова, Б.Т. Ибрагимов, Р. Исламов, У.Н. Зайнутдинов. Рентгеноструктурное исследование лагохирзидина и ди-о-циклогексиденлагохилина // Химия природ.соедин. 2010 №4. -С. 275-277
15. Стробыкина И Ю, Гарифуллин Б Ф , Ковыляева Г И , Катаев В Е, Мусин Р 3 Производные дитерпеноида изостевиола с азинным и гидразидным фрагментами // Ж. общ химии -2007 -Т 77 -Вып 8 -С 1277-1279
16. Стробыкина И Ю, Гарифуллин Б Ф, Ковыляева Г И , Мусин Р 3 , Губайдуллин А Т, Катаев В Е Первые синтетические макроциклы в ряду энт-бейерановых дитерпеноидов//Ж общ химии -2007 -Т 77 -Вып 6 -С 978-980
17. Gonzalez M.A., Correa-Royero J., Agudelo L., Mesa A., Betancur-Galvis L. Synthesis and biological evaluation of abietic acid derivatives. //European Journal of Medicinal Chemistry. 2009, № 44. p. 2468–2472.
18. Kunnumakkara AB, Ichikawa H, Anand P, Mohankumar CJ, Hema PS, Nair MS, Aggarwal BB. Coronarin D, a labdane diterpene, inhibic both constitutive and inducible nuclear factor-kappa B pathway activation, leading to potentiation of apoptosis, inhibitionwof invasion, and suppression of osteoclastogenesis. Mol Cancer Ther. 2008 Oct;7(10):3306-17.
19. L. Betancur-Galvis, C. Zuluaga, M. Arno, Miguel A. Gonzalez, R.J. Zaragoza "Cytotoxicyeffect (on tumor cells) and in vitro antiviral activity against herpes simplex virus of synthetic spongiane diterpenes" Journal of Natural Producc, 65, 189-192, 2002
20. L. Betancur-Galvis, C. Zuluaga, M. Arno, Miguel A. Gonzalez, R.J. Zaragoza "Structure-activity relationship of in vitro antiviral and cytotoxic activity of

- semisynthetic analogues of scopadulane diterpenes" *Journal of Natural Products*, 64, 1318-1321, 2001
21. Las Heras B., Rodriguez B., Bosca L., Villar A.M. Terpenoids: Sources, Structure elucidation and Therapeutic Potential in Inflammation // *Current Topics Med. Chem.* 2003. V.3. N.2. P.171-185.
 22. Lin C.-H., Chuang S.-H. Use of abietic acid and derivatives thereof for inhibiting cancer US patent 7,015,248 B2, 2006.
 23. M. Abe, Y. Wozawa, Y. Uda, Y. Morimicu, Y. Nakamura, T. Wozawa, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70 (2006)
 24. M. Arno M, L. Betancur-Galvis, Miguel A. Gonzalez, J. Sierra, R.J. Zaragoza "Synthesis and cytotoxic activity of novel C7-functionalized spongiane diterpenes" *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11 (14), 3171-3177, 2003
 25. M. Arno, Miguel A. Gonzalez, R.J. Zaragoza "Synthesis of C-17-functionalized spongiane diterpenes: Diastereoselective synthesis of (-)-spongian-16-oxo-17-al, (-)-acetyldendrillol-1, and (-)-aplyroseol-14" *Journal of Organic Chemistry*, 68, 1242-1251, 2003
 26. Mendoza L., Tapia L., Wilkens M., Urzua A. Antibacterial activity of 13-*epi*-sclareol, a labdane type diterpene, isolated from the resinous exudate of *Pseudognaphalium heterotrichium* and *P. cheiranthifolium* (*Asteraceae*) // *Bol. Soc. Chil. Quim.* 2002. V.47. N.2(47). P.091-098.
 27. Miguel A. Gonzalez "Scalarane Sesterterpenoids" *Current Bioactive Compounds*, 6, 178-206, 2010
 28. Miguel A. Gonzalez "Total Syntheses and Synthetic Studies of Spongiane Diterpenes" *Tetrahedron*, 64, 445-467, 2008
 29. Miguel A. Gonzalez, Juan Mancebo-Aracil, Veronica Tangarife-Castano, Lee Agudelo-Gomez, Bibiana Zapata, Ana Mesa-Arango, Liliana Betancur-Galvis "Synthesis and Biological evaluation of (+)-Labdadienedial, Derivatives and Precursors from (+)-Sclareolide" *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 4403-4408, 2010

30. Miguel A. Gonzalez, Lee Agudelo, Liliana Betancur-Galvis "Synthesis and Antiviral activity of Scopadulane-rearranged Diterpenes" *Antiviral Research*, 85, 562-565, 2010
31. Miguel A. Gonzalez."Spongiane diterpenoids" *Current Bioactive Compounds*, 3, 1-36, 2007