

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ, ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ, ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ
ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017.К/В/Т.37.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

ХУШМАТОВ ШУНҚОР САДУЛЛАЕВИЧ

**БИОЛОГИК ФАОЛ МОДДАЛАРНИНГ КАРДИОМИОЦИТЛАРДА
КАЛЬЦИЙ БИЛАН БОҒЛИҚ ЖАРАЁНЛАРГА
ТАЪСИРИНИ ТАВСИФЛАШ**

03.00.02 – Биофизика ва радиобиология

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

Тошкент – 2018

Фан доктори (DSc) диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата диссертации доктора наук (DSc)
Contents of dissertation abstract of doctor of science (DSc)

Хушматов Шунқор Садуллаевич Биологик фаол моддаларнинг кардиомиоцитларда кальций билан боғлиқ жараёнларга таъсирини тавсифлаш.....	3
Хушматов Шунқор Садуллаевич Характеристика действия биологически активных соединений на кальций зависимые процессы в кардиомиоцитах.....	29
Khushmatov Shunkor Sadullaevich The characteristic of action of biologically active substances on calcium–dependent processes in cardiomyocytes.....	56
Эълон қилинган ишлар рўйхати Список опубликованных работ List of published works.....	60

Фан доктори (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида B2017.1.DSc/B7 рақам билан рўйхатга олинган.

Докторлик диссертацияси Биоорганик кимё институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифасида (www.biochem.uz) ва «ZiyoNet» Ахборот-таълим порталида (www.ziynet.uz) жойлаштирилган.

Илмий маслаҳатчи: **Усманов Пулат Бекмуратович**
биология фанлари доктори, профессор

Расмий оппонентлар: **Сабиров Равшан Заирович**
биология фанлари доктори, академик

Мирходжаев Улуғбек Закирович
биология фанлари доктори, профессор

Матчанов Азат Таубалдиевич
биология фанлари доктори, профессор

Етакчи ташкилот: **Тошкент фармацевтика институти**

Диссертация ҳимояси Биоорганик кимё институти, Ўзбекистон Миллий университети, Ўсимлик моддалари кимёси институти ҳузуридаги DSc.27.06.2017.K/B/T.37.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2018 йил «__» _____ соат _____ даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83. Тел.: (99871) 262–35–40; факс: (99871) 262–70–63.

Диссертация билан Биоорганик кимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (____ рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83. Тел.: (99871) 262–35–40; факс: (99871) 262–70–63, e-mail: asrarov54@mail.ru

Диссертация автореферати 2018 йил «__» _____ куни тарқатилди.
(2018 йил «__» _____ даги №____ рақамли реестр баённомаси).

Ш.И.Салихов
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш раиси,
б.ф.д., академик

Б.Н.Бобоев
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш илмий
котиби в. б., к.ф.д.

Ш.У.Турдикулова
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
қошидаги илмий семинар раиси, б.ф.д.

КИРИШ (Фан доктори (DSc) диссертациясининг аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Жаҳонда охириги йилларда юрак–қон томир касалликларининг кенг тарқалиши тенденцияси кузатилмоқда, яъни умумий касалликлар ва оламдан ўтиш структурасида етакчи ўринда сақланиши давом этмоқда^{1,2}. Бу ҳолат кўп жиҳатдан ушбу касалликларни даволашда фойдаланилувчи дори воситаларининг такомиллашишдан узоқлиги ва сезиларли камчиликларга эгаллиги билан белгиланади, бу уларнинг терапевтик самарадорлигини ва улардан кенг кўламда фойдаланиш имкониятларини сезиларли даражада чеклайди. Шунга боғлиқ, ҳозирги кунда замонавий кардиологияда аниқ нишонларга йўналтирилган тавсифда таъсир кўрсатувчи ва ортикча салбий таъсирга эга бўлмаган дори воситаларининг янги авлодини яратиш долзарб муаммолардан бири ҳисобланади.

Бугунги кунда жаҳонда юрак–қон томир касалликларини даволаш учун янги самарали дори воситаларини яратишнинг замонавий стратегияси ушбу касалликлар патогенези асосида ётувчи молекуляр механизмлар ҳақидаги фундаментал билимларга асосланади. Бунда юрак касалликларининг ривожланиши билан бевосита боғлиқ бўлган асосий молекуляр нишонларнинг фармакологик табиати ва хоссалари ҳақидаги маълумотлар муҳим роль ўйнайди. Шунга боғлиқ, миокардда кўпгина патологик жараёнлар ривожланиши билан боғлиқ бўлган, кардиомиоцитларда Ca^{2+} –транспорт тизимларининг функцияси бузилишининг фармакологик регуляция механизмларига ойдинлик киритиш биринчи ўринда туради. Бу вазифаларни ҳал қилиш кардиомиоцитларда Ca^{2+} –транспорт тизимларининг фармакологик регуляциясининг янги ёндашувларини аниқлаш имконини беради ва юрак–қон томир касалликларини даволаш ва олдини олишда тамойил жиҳатидан янги адекват услубларни ишлаб чиқишни таъминлайди.

Республикамизда фармацевтика саноатининг динамик ва барқарор ривожланишини таъминлашга йўналтирилган бир қатор дастурлар қабул қилинган. Бу борада маҳаллий ўсимлик хомашёси асосида ишлаб чиқарилган сифатли ва ҳавфсиз дори воситалари билан таъминлашга алоҳида эътибор қаратилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг 4–йўналишида «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларининг арзон, сифатли дори воситалари билан таъминланишини яхшилаш» юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган³. Бу борада жумладан, юрак–қон томир касалликларини даволаш учун таркиби потенциал фармакологик фаолликка эгаллиги билан тавсифланувчи кенг кўламдаги бирикмалардан ташкил топган маҳаллий

¹ Heart disease and stroke statistics – 2017 update: A report from the American heart association // [Электрон ресурс]. Режим доступа: <http://circ.ahajournals.org/content/135/10/e146> Дата обращения: 15.08.2017 г.

² M.Nichols, N.Townsend, P.Scarborough, M.Rayner. Cardiovascular disease in Europe 2014: Epidemiological update // European Heart Journal. – 2014. – Special article. – P.2–10.

³ Ўзбекистон Республикаси Президентининг Фармони «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида» // [Электрон ресурс]. Режим доступа: http://lex.uz/pages/getpage.aspx?lact_id=3107036 Дата обращения: 15.08.2017 г.

доривор хомашёлар асосида дори воситаларини яратиш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2016 йил 16–сентябрдаги ПҚ–2595 «2016–2020 йилларда фармацевтика саноатини келгусида ривожлантириш бўйича чора–тадбирлар дастури ҳақида» қарори ва 2017 йил 7–февралдаги ПФ–4947–сонли Ўзбекистон Республикаси Президентининг «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармонида белгиланган устувор вазифаларни ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий–ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

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

Диссертациянинг мавзуси бўйича хорижий илмий–тадқиқотлар шарҳи¹. Миокардда Ca^{2+} га боғлиқ жараёнларнинг фармакологик регуляциясини тавсифлашга йўналтирилган илмий тадқиқотлар дунёнинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасаларида, жумладан University of Alberta (Канада), University of Freiburg (Германия), New York University (АҚШ), Shihezi University (Хитой), Aichi Medical University (Япония), French Institute of Health and Medical Research (Франция), Хужайра биофизикаси институти (Россия) ва Биоорганик кимё институтларида (Ўзбекистон) амалга оширилмоқда.

Дунёда юрак–қон томир тизими касалликларини даволашда замонавий ёндашувларни ишлаб чиқиш йўналишида амалга оширилган тадқиқотлар натижасида муҳим илмий натижалар олинган, жумладан: кардиомиоцитларда $[Ca^{2+}]_{in}$ динамикаси регуляциясининг айрим жиҳатлари аниқланган (University of Alberta, Канада; Shihezi University; Китай); L–тип Ca^{2+} –каналлари (Ca^{2+}_L –каналлари) ва Na^+/Ca^{2+} –алмашувчи функцияси модуляциясининг хусусиятлари тавсифланган (University of Freiburg, Германия; French Institute of Health and Medical Research (Франция); хужайра ички сигнал тизимларининг саркоплазматик ретикулум (СР) рианодин рецептори (RyR2) ва Ca^{2+} –АТФазаси функцияси регуляциясидаги роли аниқланган (New York University, АҚШ; Aichi Medical University, Япония); биологик фаол моддаларнинг Ca^{2+} ионлари транспорт тизимларини модуляциялаш механизмлари аниқланган (Хужайра биофизикаси институти, Россия; Биоорганик кимё институти, Ўзбекистон).

Дунёда юрак–қон томир касалликларини даволашнинг замонавий ёндашувларини ишлаб чиқиш учун бир қатор устувор йўналишларда

¹ Диссертация иши мавзуси бўйича хорижий илмий тадқиқотлар шарҳи <http://med-fom-cell-phys.sites...>; <http://thoracickey.com/excitation...>; <https://www.jove.com...>; <https://www.duo.uio.no/bitstream...> ва бошқа манбалар асосида ишлаб чиқилган.

тадқиқотлар олиб борилмоқда, жумладан: кардиомиоцитларда Ca^{2+} –транспорт тизимлари функцияси регуляциясининг молекуляр механизмларини аниқлаш; юрак–қон томир касалликлари патогенези билан боғлиқ бўлган асосий молекуляр нишонларнинг фармакологик хусусиятларини тавсифлаш; юрак касалликларини адекват даволашни таъминлаш мақсадида таргет таъсирга эга бўлган дори воситаларини яратиш учун истиқболли биологик фаол моддаларни қидириш.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Ҳозирги вақтда хорижда юрак–қон томир касалликлари ривожланиши асосида ётувчи механизмларни аниқлаш ва уларни даволашнинг адекват ёндашувларини ишлаб чиқишга кўп сондаги фундаментал тадқиқотлар бағишланган (Hausenloy D.J., Yellon D.M., Avkiran M., Marber M.S., Luo M., Anderson M.E., Kho C., Lee A., Hajjar R.J., Bers D.M., Shintani–Ishida K., Inui M., Kalogeris T., Baines C.P., Wright S.N. ва бошқ.). Кенг доирадаги юрак–қон томир касалликларининг ривожланиши ва уларни коррекциялашдаги фармакологик ёндашувларда Ca^{2+} га боғлиқ жараёнлар бузилишининг муҳим роли аниқланган (Murphy E., Allen D.G., Lee C., Dhalla N.S., Hryshko L.V., Zucchi R., Ronca–Testoni S. ва бошқ.).

Ўзбекистонда янги антиаритмик воситаларни яратишга йўналтирилган тадқиқотларга мамлакатимиз олимлари катта ҳисса қўшишган (Юнусов М.С., Джахангиров Ф.Н., Салимов Б.Т.). Сўнгги йилларда ўсимлик полифеноллари асосида кардиопротекциянинг самарали ёндашувларини ишлаб чиқишга алоҳида эътибор берилмоқда (Williams R.J., Graf B., Noad R.L., Manach C., Stevenson, D.E., Hurst R.D.). Мамлакатимиз олимларининг (Эшбакова К.А., Мавлянов С.М.) илмий ишлари таҳлили кўрсатишича, уларнинг тадқиқотлари асосан фенол бирикмаларининг антиоксидант хоссасини ўрганишга бағишланган, бу ушбу моддаларнинг фармакологик потенциални комплекс таҳлил қилиш учун етарли ҳисобланмайди.

Диссертация тадқиқотининг диссертация бажарилган илмий–тадқиқот муассасасининг илмий–тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Биоорганик кимё институтининг илмий–тадқиқот ишлари режасининг ФА–А11–Т057 «Табиий ва синтетик биологик фаол моддаларни юқори самарали скрининг марказини ташкил этиш» (2014–2017), ФА–Ф–6–004 «Юрак–қон томир касалликларини даволашга адекват ёндашишни ишлаб чиқиш учун юрак ва силлиқ мускул хужайраларининг истиқболли нишонларини модуляциялаш механизмларини комплекс тавсифлаш» (2017–2020) мавзусидаги илмий лойиҳалар доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади биологик фаол моддаларнинг (фенол бирикмалари, ликоктонин типдаги дитерпен алкалоидлар) кардиомиоцитларда Ca^{2+} га боғлиқ жараёнларга таъсир хусусиятларини тавсифлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

фенол бирикмалари (феноллар, флавоноидлар, полифенол) ва ликоктонин типдаги дитерпен алкалоидларнинг инотроп таъсири хусусиятларини тадқиқ қилиш;

фенол бирикмаларининг инотроп таъсир механизмларини аниқлаш, унинг таъминланишида Ca^{2+} –транспорт тизимларининг ролини ва унинг структурага боғлиқлигини тадқиқ қилиш;

фенол бирикмаларининг антиаритмик фаоллигини баҳолаш ва унинг асосида ётувчи механизмларни ҳамда унинг таъминланишида инотроп фаолликнинг ролини аниқлаш;

ликоктонин типигаги дитерпен алкалоидларнинг инотроп таъсир механизмларини аниқлаш, унинг таъминланишида Ca^{2+} –транспорт тизимларининг ролини ва структурага боғлиқлигини тадқиқ қилиш;

ликоктонин типигаги дитерпен алкалоидларнинг антиаритмик таъсирини баҳолаш, унинг асосида ётувчи механизмларни ҳамда унинг таъминланишида инотроп фаолликнинг ролини асослаш;

юрак–қон томир касалликларини даволаш ва олдини олишда янги ёндашувларни ишлаб чиқиш учун асос сифатида нисбатан истиқболли номзодларни аниқлаш мақсадида фенол бирикмалари ва дитерпен алкалоидларнинг инотроп ва антиаритмик фаоллигини солиштирма таҳлил қилиш.

Тадқиқотнинг объекти феноллар – пирогаллол, флороглюцин, гидрохинон, гал кислотаси; флавоноидлар – кверцетин, 3',4'–диметил кверцетин, рутин, (+)–катехин, апигенин, лютеолин, пуликарин, генкванин, куматакенин, пендулетин, ксантомикрол, цирзимаритин; (–)–эпигаллокатехин–3–*O*–галлат (ЭГКГ) полифеноли; дитерпен алкалоидлар – делькорин, делькоринин, делькозин, аяцин ҳисобланади.

Тадқиқотнинг предмети фенол бирикмалари ва ликоктонин типигаги дитерпен алкалоидларнинг каламуш миокардида Ca^{2+} га боғлиқ жараёнларга таъсир хусусиятларини тадқиқ қилиш, уларнинг инотроп ва антиаритмик таъсири механизмларини тавсифлаш, шунингдек уларнинг структурага боғлиқлигини таҳлил қилишдан иборат.

Тадқиқотнинг усуллари. Барча тажрибалар маълумотларни компьютерда йиғиш ва қайта ишлаш тизимларидан фойдаланган ҳолатда, каламуш юраги папилляр мускулнинг қисқариш ва электрик фаоллигини кайд қилиш ва таҳлил қилишнинг замонавий услублари ёрдамида амалга оширилди. Мускулнинг қисқариш фаоллигини изометрик режимда баҳоладик. Мускулнинг кучи (F), қисқариш кучининг ўсиш тезлиги ($+dF/dt_{max}$), бўшашиш тезлиги ($-dF/dt_{max}$), қисқариш–бўшашиш цикли давомийлиги (T) каби параметрларни таҳлил қилиш биз ишлаб чиққан дастур (Мусаев ва бошқ., 2009; №DGU 01873)¹ ёрдамида амалга оширилди. Амплитуда (V_m) ва реполяризация давомийлиги (X_{P50}) каби ҳаракат потенциали параметрлари таҳлили LabPro Logger Lite 1.2 (Vernier Software & Technology; АҚШ) дастури ёрдамида бажарилди. Олинган натижаларни статистик қайта ишлаш OriginLab OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, АҚШ) дастури ёрдамида амалга оширилди.

¹ М.М.Мусаев, П.Б.Усманов, Ф.А.Рахматов, Ш.С.Хушматов. Программа для ЭВМ «Анализ кинетики мышечного сокращения» // Государственное патентное ведомство РУз. Свидетельство №DGU 01873. 18.12.2009 г. // Официальный бюллетень. – №1(9). – С.170–171.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

флавоноидларнинг мусбат инотроп таъсир механизмлари ва унинг таъминланишида β -АР→АЦ→цАМФ→ПКА сигнал каскади ва Na^+/K^+ -АТФазанинг етакчи роли аниқланган;

флавоноидларнинг манфий инотроп таъсир механизми аниқланиб, унинг таъминланишида $e\text{NOS}$ →NO→ГЦ→цГМФ→ПКГ ва Ca^{2+} -каналларининг иштироки исботланган;

флавоноидларнинг инотроп таъсир даражаси ва тавсифининг уларнинг молекуласидаги –ОН ва –ОСН₃ гуруҳлар сони ва жойлашиш ҳолатига боғлиқлиги ҳамда флавоноидларнинг антиаритмик таъсир механизми ва унинг таъминланишида инотроп фаолликнинг эҳтимоллиги мавжуд роли асосланган;

илк бор ликоктонин типидagi алкалоидларнинг инотроп таъсирининг ўзига хос хусусиятлари ҳамда уларнинг мусбат ва манфий инотроп таъсир механизмлари тавсифланган, уларнинг таъминланишида Na^+ -каналлари ва СР да Ca^{2+} ионларининг йиғиб олиниши ва чиқиши жараёнларининг роли аниқланган;

алкалоидларнинг инотроп таъсирининг уларнинг молекуласида С(7) ва С(8) углерод атомларида гидроксил– ва дезокси– гуруҳларнинг мавжудлигига боғлиқлиги аниқланиб, делькозин ва аяциннинг мусбат инотроп таъсирининг уларнинг нисбатан юқори антиаритмик таъсири таъминланишидаги роли исботланган.

Тадқиқотнинг амалий натижаси. Фенол бирикмалари ва ликоктонин типидagi дитерпен алкалоидларнинг инотроп ва антиаритмик таъсир механизмлари, шунингдек уларнинг структурага боғлиқлиги аниқланган, бу маълумотлар назарий асос сифатида юрак–қон томир касалликларини даволаш ва олдини олиш учун янги самарали дори воситаларини яратишда оқилона ёндашувларни илмий асослашни таъминлайди.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги олинган маълумотларнинг ишончлилиги тажрибалар натижаларини қайд қилиш, йиғиш ва қайта ишлаш, таҳлил қилиш имконини берувчи автоматик тизимлар ва замонавий электрофизиологик услублардан фойдаланилганлиги билан тасдиқланади. Ишда хулосалар замонавий математик статистика услубларидан фойдаланиш асосида чиқарилди.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти фенол бирикмалари ва ликоктонин типидagi дитерпен алкалоидларнинг инотроп ва антиаритмик таъсири асосида ётувчи механизмлар, уларнинг таъминланишида Ca^{2+} -транспорт тизимлари ва Ca^{2+} га боғлиқ жараёнларнинг роли, шунингдек уларнинг эҳтимоллиги мавжуд фармакологик регуляциясига оид ёндашувлар ҳақидаги фундаментал тасавурларнинг ривожланишига сезиларли хисса қўшиши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти генкванин флавоноиди ва аяцин ҳамда делькозин алкалоидларининг инотроп ва антиаритмик таъсирини таҳлил қилиш асосида, юрак аритмияларини даволаш ва олдини

олиш учун дори воситаларининг янги авлодини яратишда нисбатан истиқболли номзодлар сифатида тавсия қилинишида ўз ифодасини топади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Фенол бирикмалари ва ликоктонин типигаги дитерпен алкалоидларнинг кардиомиоцитларда Ca^{2+} га боғлиқ жараёнларга таъсир хусусиятларини тавсифлаш жараёнида олинган натижалар асосида:

генкванин флавоноиди Хитой Табиатшунослик фанлари Миллий фонди «The International Cooperation and Exchanges» лойиҳасида флавоноидларнинг инотроп таъсирини тавсифлашда фойдаланилган (Chinese Academy of Sciences, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, 2017 йил 30 ноябрдаги 0991–3835823–сон маълумотномаси). Натижада флавоноидларнинг фармакологик таъсири таъминланишида уларнинг инотроп фаоллигини баҳолаш имконини берган;

флавоноидларнинг аниқланган инотроп ва антиаритмик таъсир хусусиятлари Хитой Фанлар академиясининг «The Central Asian Centre of Drug Discovery & Development» ва CAS TWAS scholarships лойиҳалари доирасида флавоноидларнинг хоссаларини комплекс таҳлил қилиш учун фойдаланилган (Chinese Academy of Sciences, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, 2017 йил 30 ноябрдаги 0991–3835823–сон маълумотномаси). Натижада бир қатор флавоноидларнинг кардиопротектор хусусиятини аниқлаш имконини берган;

флавоноидларнинг биологик таъсири ҳақидаги маълумотлар юқори импакт–факторга эга хорижий илмий журналларда флавоноидларнинг кардиоваскуляр таъсирини аниқлаш учун фойдаланилган (Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine, 2013, V.3, Journal Impact Factor, IF–0,925; Visnyk of Dnipropetrovsk University (Biology, Medicine), 2016, V.7, Global Impact Factor, GIF–0,888; World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2017, V.6, Global Impact Factor, GIF–0,629). Натижада флавоноидларнинг фармакологик таъсир хусусиятлари ва кардиопротектор таъсири ҳақида мавжуд тасавурларни кенгайтириш имконини берган;

айрим флавоноидларнинг (апигенин, лютеолин, кверцетин) Ca^{2+} га боғлиқ жараёнларга таъсир хусусиятлари ФА–Ф5–Т084 рақамли «Митохондриялар ион транспорти ва метаболит жараёнлар биорегуляторларининг меъёр ва патологиядаги таъсирини тавсифлаш» лойиҳасида флавоноидларнинг митохондрияларда ион–транспорт тизимларига таъсирини тавсифлаш учун фойдаланилган (Фан ва технологияларни ривожлантиришни мувофиқлаштириш қўмитасининг 2016 йил 1 декабрдаги ФТК–0313/870–сон маълумотномаси). Натижада флавоноидларнинг кардиопротектор таъсирида митохондрияларнинг ролини аниқлаш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Тадқиқот натижалари 11 та халқаро ва 13 та республика миқёсидаги илмий–амалий анжуманларда муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши. Диссертация мавзуси бўйича жами 41 та илмий иши чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялари

асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 11 та мақола, жумладан 6 таси республика ва 5 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг ҳажми ва тузилиши. Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, хулосалар, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 195 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

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

Диссертациянинг «**Юрак функциясининг меъёрий ва патологик молекуляр механизмлари**» деб номланган биринчи бобида охириги йиллар адабиёт маълумотлари асосида, юракнинг, кардиомиоцитларда асосий ион–транспорт тизимлари (Na^+ –, K^+ –, Cl^- –каналлари, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ –алмашувчи, Na^+/K^+ – ва Ca^{2+} –АТФаза) структура тузилиши ва функцияси тамойиллари ҳақида маълумотлар келтирилган, адренорецепторларнинг (АР) ва ҳужайра ички сигнал каскадларининг қисқариш ва бўшашиш жараёнлари бошқарилишидаги роли ҳақидаги маълумотлар келтирилган, миокард инотропизми хусусиятлари ҳамда юрак ритмининг таъминланиши ва бузилишининг электрофизиологик механизмлари тавсифланган. Фенол бирикмалари ва дитерпен алкалоидларнинг структура тузилиши ва биологик фаоллиги ҳақидаги маълумотлар, шунингдек улардан потенциал фармакологик агентлар сифатида фойдаланиш истиқболлари ҳақидаги маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Кардиомиоцитлар функционал фаоллигида Ca^{2+} транспорт тизимларининг аҳамияти**» деб номланган иккинчи бобида кардиомиоцитларда ҳужайра ичида Ca^{2+} ионлари концентрациясининг ўзгариш динамикаси ҳақидаги маълумотлар келтирилган, Ca^{2+}_L –каналлари, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ –алмашувчи, саркоlemma Ca^{2+} –АТФазаси ва СР Ca^{2+} –транспорт тизимларининг (RyR2 , Ca^{2+} –АТФаза) тузилиши ва функциясининг хусусиятлари тавсифланган.

Диссертациянинг «**Биологик фаол моддаларнинг инотроп, электрофизиологик ва антиаритмик таъсирини баҳолаш услублари**» деб номланган учинчи бобида тадқиқот объектлари, юрак мускулининг қисқариш ва электрик фаоллигини қайд қилиш, шунингдек моддаларнинг антиаритмик таъсирини баҳолаш услублари келтирилган, кардиомиоцитларда Ca^{2+} –транспорт тизимлари функционал фаоллигини ўрганишда экспериментал

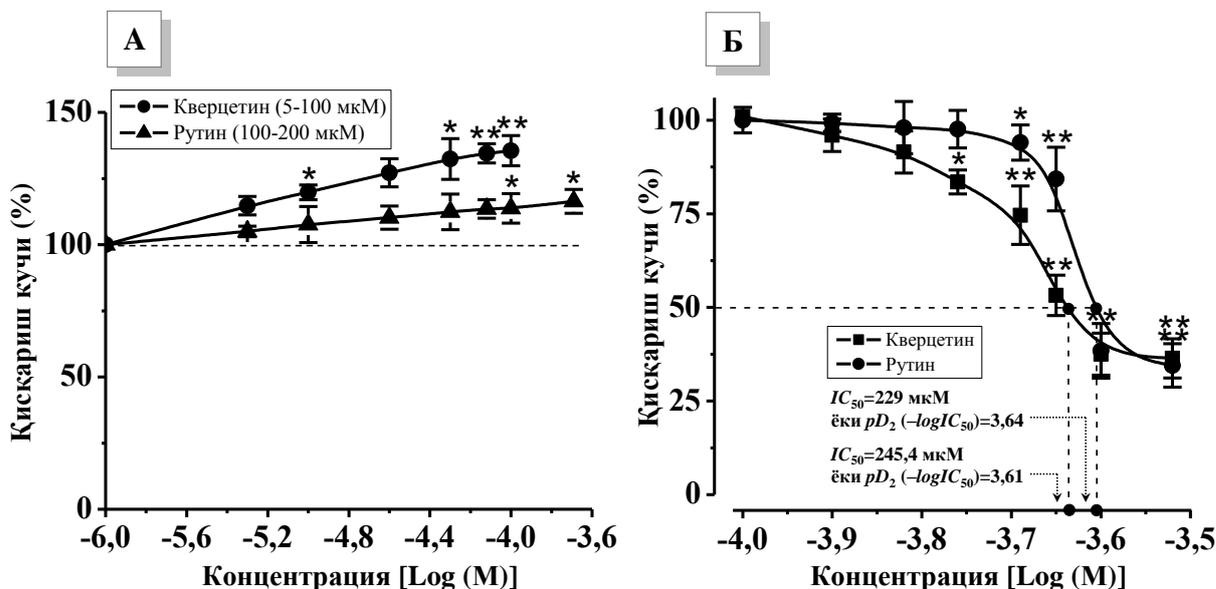
ёндашувлар ва тажриба протоколлари ҳамда натижаларни статистик қайта ишлаш услублари тавсифланган.

Диссертациянинг «**Фенол бирикмалари ва ликоктонин типдаги дитерпен алкалоидларнинг инотроп ва антиаритмик таъсири**» деб номланган тўртинчи бобида фенолларнинг (пирогаллол, флороглюцин, гидрохинон, гал кислотаси) инотроп таъсири, флавоноидлар (кверцетин, 3',4'-диметил кверцетин, рутин, (+)-катехин, апигенин, генкванин, пендулетин, ксантомикрол, лютеолин, пуликарин, куматакенин, цирзимаритин), ЭГКГ полифеноли ва ликоктонин типдаги дитерпен алкалоидларнинг (делькорин, делькоринин, делькозин ва аяцин) инотроп ва антиаритмик таъсирини ўрганиш натижалари келтирилган.

Фенолларнинг инотроп таъсир хусусиятлари. Флавоноидлар ва полифеноллар молекуласида қўшимча структура фрагментлари мавжудлиги орқали уларнинг янги хоссаларга эга бўлиши қайд қилинувчи фенол хосилалари ҳисобланиши билан боғлиқ дастлаб, айрим фенолларнинг инотроп фаоллигини баҳолаш мақсадга мувофиқ деб ҳисобланди. Бунда пирогаллол, флороглюцин, гидрохинон ва гал кислотаси каламуш юраги папилляр мускули қисқаришини сезиларли даражада камайтириши, яъни манфий инотроп таъсир (МанИТ) кўрсатиши аниқланди. Гал кислота ва гидрохинон нисбатан яққол ифодаланган МанИТ кўрсатиб, улар (150 мкМ) мавжудлигида папилляр мускулнинг қисқариш кучи 100% деб қабул қилинган назоратга нисбатан мос равишда – $61,4 \pm 4,8\%$ ва $45,4 \pm 6,8\%$ га камайиши аниқланди. Фенолларнинг бу таъсири $[Ca^{2+}]_{out}$ ионларига боғлиқ бўлиб, нифедипин (0,01 мкМ) мавжуд шароитда сезиларли камайиши аниқланди, бу натижалар уларнинг МанИТи таъминланишида Ca^{2+}_L -каналлари иштирокидан далолат беради.

Флавоноидлар ва ЭГКГ полифенолининг инотроп таъсир хусусиятлари. Навбатдаги тажрибалар сериясида флавоноидлар (кверцетин, 3',4'-диметил кверцетин, рутин, (+)-катехин, апигенин, генкванин, пендулетин, ксантомикрол, лютеолин, пуликарин, куматакенин, цирзимаритин) ва ЭГКГ полифенолининг инотроп таъсири ўрганилди. Бу тадқиқотлар дастлаб, юрак-қон томир касалликларини даволаш ва олдини олишда кенг фойдаланилувчи, фармакологик хоссалари етарлича даражада яхши тавсифланган кверцетин ва рутиннинг (Hirose et al., 1999; Obied et al., 2005) инотроп таъсирини ўрганишдан бошланди. Бунда кверцетин ва рутин икки фазали инотроп таъсир кўрсатиши ва паст концентрацияларда мусбат инотроп таъсир (МусИТ), юқори концентрацияларда эса – МанИТ кўрсатиши аниқланди. Жумладан, кверцетин 5–100 мкМ концентрация диапазонида мускул қисқариш кучини ошириши, бунда максимал 100 мкМ да назорат қийматига нисбатан $33,5 \pm 5,7\%$ га ошириши аниқланди (1,А–расм). Кверцетин юқори концентрацияларда (>100 мкМ) аксинча, мускул қисқариш кучини камайтириши, яъни 300 мкМ концентрацияда максимал $63,6 \pm 5,2\%$ га камайтириши аниқланди (1,Б–расм). Ушбу шароитда унинг ярим максимал таъсирни юзага келтирувчи концентрацияси – IC_{50} қиймати 229 мкМ, ингибитор фаоллигини ифодаловчи $pD_2(-\log IC_{50})$ қиймати – 3,64 га тенглиги

аниқланди. Шунга ўхшаш, рутин икки фазали инотроп таъсир кўрсатиши, 100–200 мкМ концентрацияда папилляр мускул қисқариш кучини ошириши ва 200 мкМ да максимал 16,4±4,5% га ошириши аниқланди, юқори концентрацияларда (>200 мкМ) эса – уни камайтириши, яъни 300 мкМ да максимал 65,5±5,8% га камайтириши аниқланди. Бунда унинг IC_{50} ва $pD_2(-\log IC_{50})$ қиймати мос равишда – 245,4 мкМ ва 3,6 га тенг ҳисобланади (1,Б-расм).



1–расм. Кверцетин ва рутиннинг инотроп таъсирининг концентрацияга боғлиқ тавсифи. А. Кверцетин ва рутиннинг мусбат инотроп таъсири. Б. Кверцетин ва рутиннинг манфий инотроп таъсири. Ордината ўқида – 100% деб қабул қилинган максимал қийматга нисбатан фоизда ифодаланган папилляр мускулнинг қисқариш кучи ифодаланган. Абсцисса ўқида – флавоноидлар концентрацияси ифодаланган. Стимуляция частотаси 0,5 Гц ($t=+36\pm 0,5^\circ\text{C}$); * – назоратга нисбатан $p<0,05$, ** – $p<0,01$ ($n=4-5$)

Генкванин, пендулетин ва апигенинда ҳам икки фазали инотроп таъсир аниқланди. Бунда ушбу флавоноидлар гуруҳида генкванин нисбатан кўпроқ ифодаланган МусИТ кўрсатиши, яъни 10 мкМ да мускул қисқариш кучини назорат қийматига нисбатан 46,2±4,78% га ошириши аниқланди. Генкванин юқори концентрацияларда (>10 мкМ) аксинча, мускул қисқариш кучини камайтириши аниқланди, яъни 100 мкМ концентрацияда қисқариш кучи назоратга нисбатан 56,7±5,4% га камайтириши аниқланди. Ушбу шароитда генкванин учун IC_{50} ва $pD_2(-\log IC_{50})$ қийматлари мос равишда – 38,9 мкМ ва 4,41 га тенг ҳисобланиши аниқланди. Шунингдек, ушбу флавоноидлардан пендулетин нисбатан юқори МанИТ кўрсатиб, 100 мкМ концентрацияда мускул қисқариш кучини назоратга нисбатан 87,5±5,3% га камайтириши аниқланди. Бунда унинг IC_{50} ва $pD_2(-\log IC_{50})$ қиймати мос равишда – 22,3 мкМ ва 4,654 ни ташкил қилади.

3',4'-Диметил кверцетин, пуликарин ва лютеолиннинг инотроп таъсирини ўрганиш жараёнида бу флавоноидлар асосан, фақат МусИТ кўрсатиши аниқланди. Бунда 3',4'-диметил кверцетин (100 мкМ), лютеолин

(50 мкМ) ва пуликарин (25 мкМ) мавжуд шароитда мускулнинг қисқариш кучи мос равишда максимал – 67,31±5,2%, 57,6±5,8% ва 34,3±5,4% га ортиши аниқланди. Шунга ўхшаш, ЭГКГ полифеноли ҳам фақат МусИТ кўрсатиб, 150 мкМ да мускул қисқариш кучини максимал 67,5±6,2% га ошириши аниқланди.

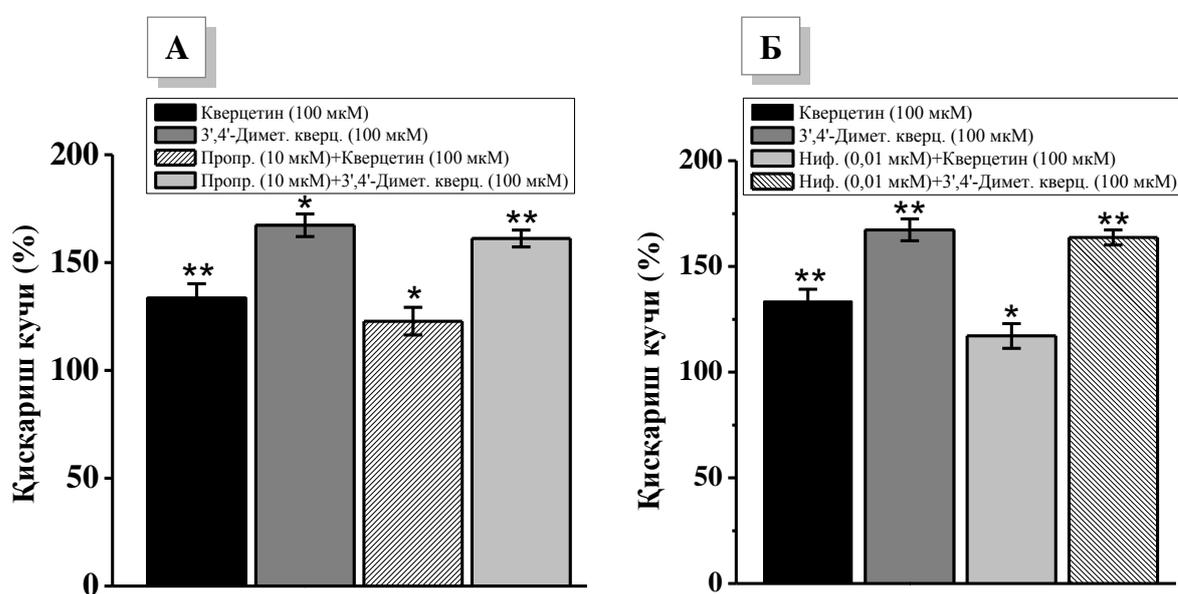
Ксантомикрол, (+)–катехин ва куматакениннинг таъсирини ўрганишда бу флавоноидлар фақат МанИТ кўрсатиши аниқланди, бунда ксантамикрол нисбатан энг кучли таъсирга эга бўлиб, 100 мкМ да мускул қисқариш кучини назорат қийматига нисбатан 84,9±6,6% га камайтириши қайд қилинди.

Олинган маълумотлар таҳлили ўрганилган фенол бирикмалари яққол ифодаланган инотроп таъсирга эга бўлиб, юрак мускулининг қисқариш фаоллигини специфик модуляциялашини кўрсатади. Бунда феноллар асосан фақат МанИТ кўрсатиши орқали юрак мускули қисқариш фаоллигини сусайтириши аниқланди. Феноллардан фарқ қилиб, ўрганилган флавоноидларнинг инотроп таъсири дозага боғлиқ тавсифга эга бўлиб, концентрацияга боғлиқ МусИТ ёки МанИТ кўрсатиши (кверцетин, рутин, апигенин, пендулетин ва генкванин) ёки фақат МусИТ (3',4'–диметил кверцетин, пуликарин ва лютеолин) ёки фақат МанИТ кўрсатиши ((+)–катехин, куматакенин, ксантомикрол ва цирзимаритин) аниқланди. Полифенол модда – ЭГКГ кенг концентрация диапазонида фақат мусбат инотроп таъсир кўрсатиши аниқланди.

Флавоноидларнинг инотроп таъсир механизми. Кўпгина фармакологик агентларнинг инотроп таъсири уларнинг турли Ca^{2+} –транспорт тизимлари фаоллигини модуляциялаши орқали кардиомиоцитларда $[Ca^{2+}]_{in}$ миқдори ўзгариши билан боғлиқ ҳисобланади (Bers, 2000). Бунда мусбат инотропларнинг таъсири кардиомиоцитларда $[Ca^{2+}]_{in}$ миқдори ортиши орқали амалга ошириб, шу билан бир вақтда манфий инотропларнинг таъсири, аксинча унинг камайиши орқали амалга ошириши кўрсатилган.

Флавоноидларнинг мусбат инотроп таъсир механизми. Кўпгина мусбат инотропларнинг таъсири кардиомиоцитларда $[Ca^{2+}]_{in}$ миқдори ортиши асосан, β –АР→АЦ→[цАМФ]_{in}→ПКА сигнал каскади активацияси орқали Ca^{2+} ионларининг мобилизацияси ва юрак мускулининг қисқариш кучи ортиши орқали таъминланиши хос хусусият ҳисобланади (Schwinger et al., 2000; Neubach et al., 2002). Буни ҳисобга олиб, ўрганилган флавоноидларнинг МусИТ асосида ётувчи механизмни аниқлаш учун уларнинг пропранолол билан β –АР блокадаси шароитидаги таъсири ўрганилди. Бунда пропранолол (10 мкМ) мавжуд шароитда кверцетиннинг мускул қисқариш кучига МусИТга 33,5±5,7% ни ташкил қилувчи назорат қийматига нисбатан 22,8±6,4% га камайиши аниқланди (2,А–расм). Пропранолол мавжуд шароитда ўрганилган бошқа флавоноидларнинг МусИТга ҳам шунга ўхшаш, бироқ турли хил даражада камайиши аниқланди. Бунда β –АР блокадаси 3',4'–диметил кверцетиннинг МусИТга нисбатан камроқ даражада таъсир кўрсатиши аниқланди, яъни 67,31±5,2% дан 61,2±3,9% га камайиши қайд қилинди (2,А–расм). Бу натижалар ўрганилган флавоноидларнинг МусИТга амалга оширишида β –АР→АЦ→цАМФ→ПКА сигнал каскади активацияси орқали

кардиомиоцитларда Ca^{2+}_L -каналдан кириши кучайиши ҳисобига $[Ca^{2+}]_{in}$ миқдори ортиши етакчи роль ўйнашини кўрсатади. Бу таҳминни текшириш учун, Ca^{2+}_L -каналларининг нифедипин билан блоккланиши шароитида флавоноидларнинг МусИТи ўрганилди. Бунда Ca^{2+}_L -каналлари блоккланиши флавоноидларнинг МусИТига турли хил даражада таъсир кўрсатиши аниқланди. Жумладан, нифедипин (0,01 мкМ) мавжуд шароитда кверцетиннинг (100 мкМ) мусбат инотроп таъсири $33,5 \pm 5,7\%$ дан $17,1 \pm 4,5\%$ га камаяди (2,Б-расм). Шунга ўхшаш, нифедипин (0,01 мкМ) мавжуд шароитда генкванин ва лютеолиннинг МусИТи мос равишда – $46,2 \pm 4,78\%$ ва $57,6 \pm 5,8\%$ дан $14,7 \pm 4,7\%$ ва $12,6 \pm 3,2\%$ га камайиши аниқланди. Ca^{2+}_L -каналларининг нифедипин билан блоккланиши нисбатан кам даражада 3',4'-диметил кверцетин эффеќтига таъсир кўрсатиши, яъни бу шароитда унинг таъсири $67,3 \pm 5,2\%$ дан $63,7 \pm 3,6\%$ га камайиши қайд қилинди (2,Б-расм).



2-расм. β-Адренорецептор блокатори пропранолол (А) ва Ca^{2+}_L -каналлари блокатори нифедипиннинг (Б) кверцетин ва 3',4'-диметил кверцетиннинг мусбат инотроп эффеќтига таъсири. Ордината ўқида – 100% деб қабул қилинган максимал қийматга нисбатан фоизда ифодаланган папилляр мускулнинг қисқариш кучи ифодаланган. Стимуляция частотаси 0,5 Гц ($t=+36 \pm 0,5^\circ C$). * – назоратга нисбатан $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ ($n=4-5$)

Бу натижаларнинг таҳлили ўрганилган флавоноидларнинг МусИТи асосан, $\beta-AR \rightarrow AC \rightarrow cAMP \rightarrow PKA$ сигнал каскади ва Ca^{2+}_L -каналлари активацияси ҳисобига кардиомиоцитларда $[Ca^{2+}]_{in}$ миқдори ортиши орқали таъминланишини кўрсатади. Бироқ, $\beta-AR$ ёки Ca^{2+}_L -каналлари блоккланиши шароитида айрим флавоноидларнинг МусИТи тўлиқ камаймаслиги бу таъсирнинг таъминланишида кардиомиоцитларда бошқа Ca^{2+} -транспорт тизимлари, жумладан Na^+/Ca^{2+} -алмашувчи иштирок этиши мумкинлигини кўрсатади. Маълумки, Na^+/Ca^{2+} -алмашувчи кардиомиоцитларда $[Ca^{2+}]_{in}$ миқдори регуляциясида муҳим роль ўйнайди ва бевосита, юрак

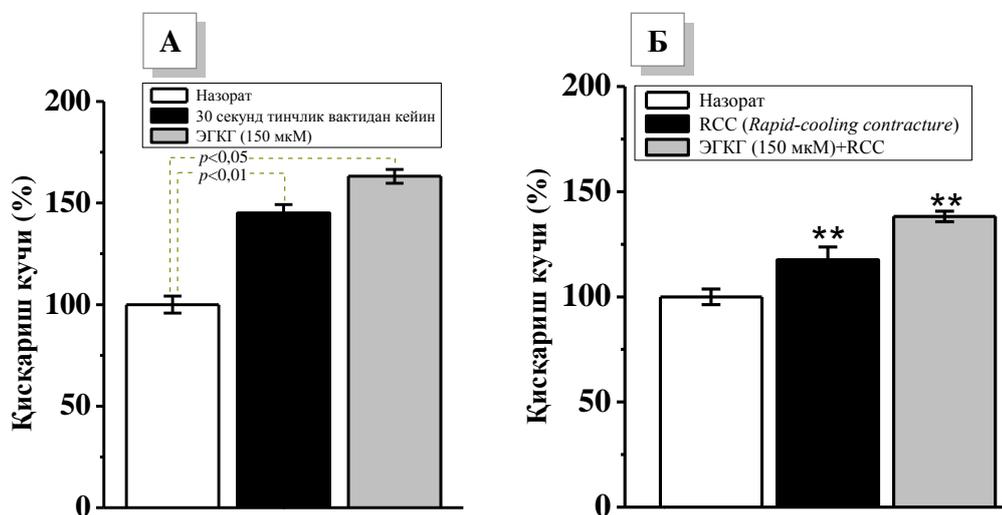
гликозидларининг МусИТи таъминланишида иштирок этади (Hoyer et al., 2011; Wang et al., 2013). Юрак гликозидларининг бу таъсири Na^+/K^+ -АТФаза ингибирланиши орқали $[\text{Na}^+]_{in}$ ионларининг тўпланиши ва $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашувчининг тескари режимда ишлаши натижасида кардиомиоцитларга Ca^{2+} ионларининг кириши орқали таъминланади. Шунингдек, флавоноидларнинг Na^+/K^+ -АТФазани ингибирлаши далилига (Umarova et al., 1998) эътибор қаратган ҳолатда, уларнинг юрак гликозиди – дигоксин билан ўзаро таъсири ўрганилди. Бунда дигоксиннинг максимал эффектив концентрацияси (3 мкМ) фонида мускул қисқариши $187,4 \pm 6,7\%$ га ортиши шароитида генкванин ва лютеолин флавоноидлари уни кўшимча оширмаслиги аниқланди. Бироқ, 1 мкМ дигоксин (унинг EC_{50} қийматига мос келувчи концентрацияси) мавжуд шароитда генкванин ва лютеолин мускул қисқариш кучини оширувчи хусусиятини сақлаши ва уни мос равишда – $25,5 \pm 4,3\%$ ва $43,4 \pm 5,7\%$ га ошириши аниқланди. Бу натижалардан келиб чиқиб, дигоксиннинг тўйинган концентрацияси мавжуд шароитда, яъни Na^+/K^+ -АТФаза фаоллиги тўлиқ сусайишида генкванин ва лютеолин МусИТ кўрсата олмаслиги, бироқ унинг қисман сусайиши шароитида уларнинг ушбу хусусияти сақланиши, лекин кам даражада ифодаланиши кузатилади. Олинган маълумотлар таҳлили генкванин ва лютеолиннинг МусИТи асосан, Na^+/K^+ -АТФаза ингибирланиши ва кардиомиоцитларда $[\text{Na}^+]_{in}$ йиғилиши орқали $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашувчининг тескари режимда ишлаши активацияси ҳисобига кардиомиоцитларга Ca^{2+} ионлари кириши орқали таъминланишидан далолат беради.

Шундай қилиб, ушбу тажрибалар натижалари ўрганилган флавоноидларнинг МусИТ асосан, $\beta\text{-AP} \rightarrow \text{AЦ} \rightarrow [\text{цАМФ}]_{in} \rightarrow \text{ПКА}$, Ca^{2+}_L -каналлари активацияси ва Na^+/K^+ -АТФаза ингибирланиши ва кардиомиоцитларда $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдори ортиши орқали таъминланишидан далолат беради.

ЭГКГнинг мусбат инотрон таъсири механизми. ЭГКГ нинг МусИТ кўрсатиш хусусиятини ўрганишда полифенолнинг бу таъсири ўрганилган флавоноидларнинг ушбу кўринишдаги таъсиридан фарқ қилиб, $\beta\text{-AP} \rightarrow \text{AЦ} \rightarrow [\text{цАМФ}]_{in} \rightarrow \text{ПКА}$ сигнал каскади ва Ca^{2+}_L -каналлари активацияси билан кам даражада боғлиқлиги аниқланди. Ҳақиқатдан ҳам, пропранолол билан $\beta\text{-AP}$ блоккланиши ва нифедипин билан Ca^{2+}_L -каналлари блоккланиши ушбу полифенолнинг МусИТига сезиларли таъсир кўрсатмайди, бу ушбу таъсирнинг Ca^{2+}_L -каналлари орқали кирувчи Ca^{2+} ионларига боғлиқ эмаслиги, балки бошқа Ca^{2+} манбалари ҳисобига амалга ошишини кўрсатади.

Шунга боғлиқ, ушбу полифенолнинг МусИТи таъминланишида иштирок этувчи Ca^{2+} ионларининг табиатига аниқлик киритиш учун, унинг юрак мускуллари учун хос бўлган, СР га Ca^{2+} ионларининг йиғилиши ва ундан чиқишида иштирок этувчи жараёнларнинг ҳолатини баҳолашда кенг фойдаланилувчи – *пост-рест потенцияция* (ПРП) феноменига (Bers and Christensen, 1990; Bassani et al., 1994; Maier et al., 2000) таъсири ўрганилди. Бунда ПРП таъминланишида асосан, мускулнинг мунтазам кўзғатилиши шароитига нисбатан тинчлик даври вақтида СР га кўшимча йиғилиши

ҳисобига СР да миқдори сезиларли даражада ортувчи Ca^{2+} ионлари иштирок этиши кўрсатилган (Bers et al., 1993). Назорат тажрибаларда 30 секунд тинчлик вақтидан кейин папилляр мускул қисқариш амплитудаси 100% деб қабул қилинган стационар қийматига нисбатан $44,97 \pm 4,3\%$ га ортади (3,А–расм). Бунда ЭГКГ (150 мкМ) мавжуд шароитда ПРП назоратга нисбатан қўшимча $18,2 \pm 3,4\%$ га ортиши аниқланди (3,А–расм). Бу натижалар ЭГКГ мавжуд шароитда СР га Ca^{2+} ионлари қўшимча тўпланиши ва ундан чиқиши орқали мускул қисқариш кучи ортиши таъминланишини кўрсатади. ЭГКГ нинг СР да Ca^{2+} миқдорига таъсирини мускул препаратини $+37^\circ\text{C}$ дан $+4^\circ\text{C}$ гача тезда совутиш шароитида СР дан RyR2 орқали чиқувчи Ca^{2+} ионлари орқали таъминланувчи фазали қисқариш ривожланиши (Hasenfuss et al., 2002; Von Lewinski et al., 2005) шароитида бажарилган тажрибалар натижалари ҳам тасдиқлайди. Бунда ЭГКГ (150 мкМ) мавжуд шароитда муҳитни тезда совутиш таъсирида чақирилган қисқариш амплитудаси қўшимча $20,7 \pm 2,5\%$ га ортади (3,Б–расм).



3–расм. ЭГКГ нинг пост–рест потенциация (А) ва препаратни тезда совутиш ёрдамида юзага келтирилган папилляр мускул қисқаришига таъсири (Б). А. Стимуляция частотаси 0,5 Гц, тинчлик даври 30 сек. Б. Ҳарорат градиенти $+37$ дан $+4^\circ\text{C}$ гача. Ордината ўқида – 100% деб қабул қилинган максимал қийматга нисбатан фоизда ифодаланган папилляр мускулнинг қисқариш кучи ифодаланган ($t=+36 \pm 0,5^\circ\text{C}$). * – назоратга нисбатан $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ ($n=3-4$)

Муҳитни тезда совутиш таъсирида чақирилган қисқариш амплитудасининг ЭГКГ мавжуд шароитда ушбу ортиши бу полифенолнинг СР га Ca^{2+} ионлари тўпланиши кучайишини таъминлашидан далолат беради. Бу стимуляциясиз шароитда СР дан RyR2 орқали Ca^{2+} чиқиши активацияси ҳисобига яқка қисқаришни келтириб чиқарувчи кофеин (Bouchard, 1990; Dibb et al., 2007) билан бажарилган тажрибаларда қўшимча тасдиқланди. Бу тажрибаларда ЭГКГ (150 мкМ) мавжуд шароитда кофеин (20 мМ) юзага келтирган мускулнинг қисқариш кучи қўшимча $23,7 \pm 4,4\%$ га ортиши аниқланди. Бунда тетракаин (50 мкМ) мавжуд шароитда ЭГКГ нинг таъсири сезиларли камайиши аниқланди, бу унинг МусИТи таъминланишида RyR2

иштирокини кўрсатади. Шу билан биргаликда, тетракаин ва Ni^{2+} (10 мМ) биргаликда таъсири шароитида ЭГКГ нинг кофеин чақирган қисқаришга таъсири тўлиқ сусайиши аниқланди. Ni^{2+} ионлари мавжуд шароитда бевосита СР га Ca^{2+} ионлари йиғилишида иштирок этувчи $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашувчи функцияси (Blaustein and Lederer, 1999) сусайишини ҳисобга олиб, бу натижалар полифенолнинг ушбу жараёни фаоллаштиришининг кўшимча тасдиғи сифатида хизмат қилади.

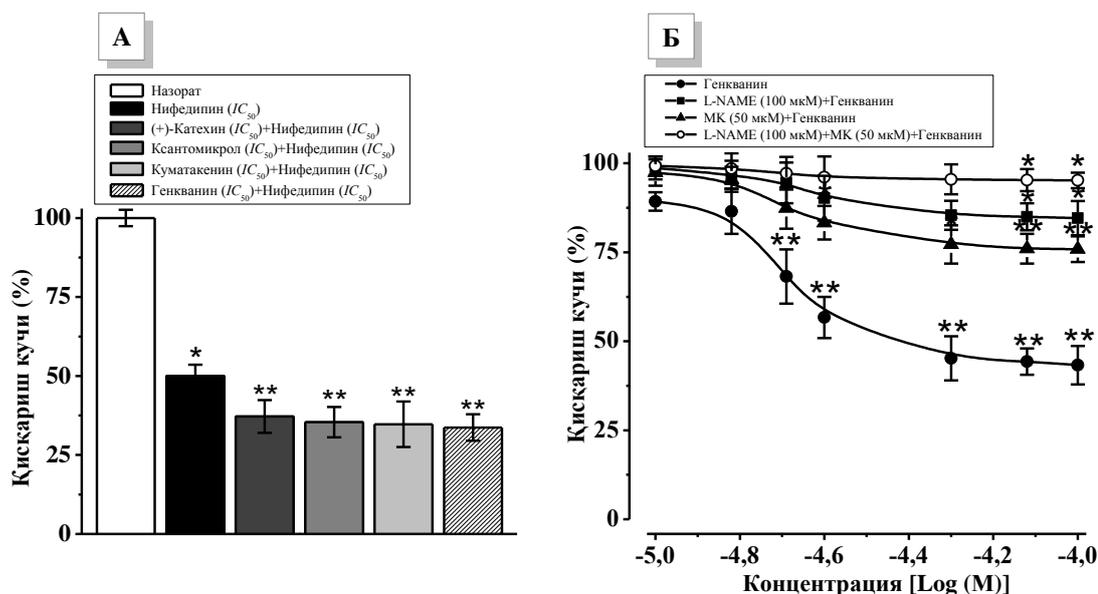
Шундай қилиб, бу тажрибалар натижалари ушбу полифенолнинг МусИТи асосан, СР га Ca^{2+} ионларининг йиғилиши ва ундан чиқиши жараёнлари активацияси орқали кардиомиоцитларда $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдори ортиши ҳисобига таъминланишидан далолат беради. Дигоксин, тетракаин ва Ni^{2+} ионлари мавжуд шароитда бу полифенолнинг МусИТи камайиши бу жараёнда Na^+/K^+ -АТФаза, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашувчи ва Ca^{2+} ионлари иштирок этишини тасдиқлайди.

Умуман, ушбу тажрибалар серияси натижалари ўрганилган флавоноидлар ва ЭГКГ полифенолининг МусИТи асосан, β -АР→АЦ→[цАМФ] $_{in}$ →ПКА, Ca^{2+}_L -каналлари, Na^+/K^+ -АТФаза, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашувчи ва Ca^{2+} ионлари иштирок этувчи жараёнлар орқали кардиомиоцитларда $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдори ортиши таъминланиши билан боғлиқлигидан далолат беради.

Флавоноидларнинг манфий инотрон таъсир механизми. Юрак мускулларининг қисқариш фаоллиги кардиомиоцитларда $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдори билан белгиланади ва унинг қиймати Ca^{2+} -транспорт тизимларининг функцияси бузилиши шароитида сезиларли даражада камайиши қайд қилинган (Bers, 2000). Жумладан, кўпгина манфий инотропларнинг таъсири асосан, кардиомиоцитларда сарколеммада Ca^{2+}_L -каналлари орқали Ca^{2+} ионларининг кириши камайиши орқали таъминланади (Housmans et al., 1995; Kihara et al., 1996). Шунга боғлиқ, флавоноидларнинг МанИТи механизмига ойдинлик киритиш учун ушбу таъсирнинг инкубация муҳитида Ca^{2+} ионлари концентрациясига боғлиқлиги ўрганилди. Бунда инкубация муҳитида Ca^{2+} ионлари концентрацияси камайтирилиши флавоноидларнинг МанИТи камайишига олиб келиши аниқланди. Бу натижалар флавоноидларнинг МанИТи кардиомиоцитларда Ca^{2+}_L -каналларидан Ca^{2+} ионларининг кириши камайиши орқали таъминланиши мумкинлигини кўрсатади. Буни текшириш учун флавоноидларнинг Ca^{2+}_L -каналлари блокатори – нифедипин мавжуд шароитда таъсири ўрганилди. Бунда Ca^{2+}_L -каналларининг нифедипин 0,01 мкМ (унинг IC_{50} қийматига мос келувчи концентрация) билан блокраниши шароитида (+)-катехин, ксантомикрол, куматакенин ва генкванин бир хил концентрацияда (IC_{50}) папилляр мускул қисқариш кучини кўшимча мос равишда – 12,8, 14,6, 15,3 ва 16,3% камайтирилиши аниқланди (4,А-расм). Шунга ўхшаш шароитда рутин, апигенин ва цирзимаритин мавжуд ҳолатда папилляр мускул қисқариш кучи мос равишда – 6,4, 4,6 ва 2,5% га камайиши аниқланди. Бунда нифедипиннинг максимал эффектив концентрацияси (1 мкМ) фониди флавоноидларнинг ушбу таъсири кузатилмайди. Бу натижалар рутин, апигенин ва цирзимаритиннинг МанИТи асосан, Ca^{2+}_L -каналлари блокраниши ва кардиомиоцитларда $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдори камайиши билан

боғлиқлигини кўрсатади. Флавоноидларнинг МанИТ таъминланишида Ca^{2+}_L -каналлари блоканишининг етакчи роли ҳақидаги шунга ўхшаш маълумотлар бир қатор муаллифлар тадқиқотларида олинган (Fusi et al., 2005; Mann et al., 2007; Alvarez-Collazo et al., 2014). Бироқ, 0,01 мкМ нифедипин мавжуд шароитда (+)-катехин, ксантомикрол, куматакенин ва генкваниннинг МанИТ қисман сақланиши унинг таъминланишида Ca^{2+}_L -каналлари билан боғлиқ бўлмаган кўшимча механизмлар мавжудлигидан далолат беради. Бунда сарколеммада Ca^{2+}_L -каналлари ва Na^+/Ca^{2+} -алмашувчи, шунингдек CP RyR2 ва Ca^{2+} -АТФаза фаоллигини модуляцияловчи, кардиомиоцитларда бевосита $[Ca^{2+}]_{in}$ миқдори регуляциясида иштирок этувчи азот оксиди (NO) сигнал тизими (Brady et al., 1993; Barouch et al., 2002; Schulz et al., 2004) маълум даражада роль ўйнаши мумкин. NO сигнал тизимининг бу таъсирлари кардиомиоцитларда Ca^{2+} га боғлиқ жараёнларнинг меъерийлашиши ва юрак мускули қисқариш фаоллигининг оптималлашиши орқали таъминланувчи кўпгина флавоноидларнинг кардиопротектор таъсири асосида ётади (Barouch et al., 2002; Heiss et al., 2010).

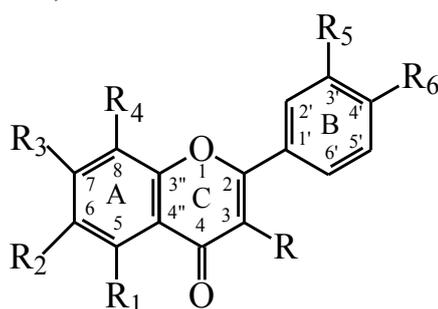
Шунга боғлиқ, ўрганилган флавоноидларнинг МанИТ таъминланишида NO тизимнинг ролини баҳолаш учун, азот оксид синтаза (eNOS) ва гуанилатциклаза (ГЦ) функциясини специфик блокаторлари – L-NAME ва метилен кўки (МК) билан сусайтирилиши шароитида уларнинг таъсири ўрганилди. Бунда L-NAME (100 мкМ) ёки МК (50 мкМ) мавжуд шароитда генкваниннинг (100 мкМ) мускул қисқариш кучига таъсири мос равишда – $56,7 \pm 5,4\%$ дан $15,4 \pm 4,8\%$ ва $24,1 \pm 3,6\%$ гача камайиши, биргаликда фойдаланилганда эса – $4,8 \pm 3,6\%$ гача камайиши аниқланди (4,Б–расм).



4–расм. Ca^{2+}_L -каналлари блокатори – нифедипин (А) ва азот оксид синтаза блокатори – L-NAME ва гуанилатциклаза блокатори – МК нинг флавоноидларнинг манфий инотроп эффектига таъсири. Ордината ўқида – 100% деб қабул қилинган максимал қийматга нисбатан фоизда ифодаланган папилляр мускулнинг қисқариш кучи ифодаланган. Б. Абсцисса ўқида – генкванин концентрацияси ифодаланган. Стимуляция частотаси 0,5 Гц ($t=+36 \pm 0,5^\circ C$). * – назоратга нисбатан $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ ($n=3-4$)

Бу натижалар ўрганилган флавоноидларнинг МанИТ амалга ошишида бевосита Ca^{2+} -каналлари блокраниши билан бир қаторда, шунингдек NO тизимининг активацияси орқали кардиомиоцитларда $[Ca^{2+}]_{in}$ микдорининг камайиши ва юрак мускули қисқариш фаоллигининг сусайишини муҳим роль ўйнашидан далолат беради.

Флавоноидларнинг инотроп таъсирининг уларнинг структурасига боғлиқлиги. Ўрганилган флавоноидларнинг инотроп таъсирининг уларнинг структурасига боғлиқлигини таҳлил қилишда унинг таъминланишида –ОН гуруҳларнинг сони ва жойлашиши, С–ҳалқадаги α– ва β–кетогуруҳлар билан биргаликда С(2) ва С(3) атомлар ўртасидаги кўшбоғ, шунингдек метоксил (–OCH₃) ёки гликозид гуруҳлар мавжудлиги муҳим роль ўйнашини кўрсатади (5–расм).



- Кверцетин: R=OH; R₁=OH; R₃=OH; R₅=OH; R₆=OH
 3',4'-Диметил кверцетин: R=OH; R₁=OH; R₃=OH; R₅=OCH₃; R₆=OCH₃
 Пуликарин: R=OCH₃; R₁=OCH₃; R₂=OH; R₃=OCH₃; R₅=OH; R₆=OCH₃
 Генкванин: R₁=OH; R₃=OCH₃; R₆=OH
 Куматакенин: R=OCH₃; R₁=OH; R₃=OCH₃; R₆=OH
 Пендулетин: R=OCH₃; R₁=OH; R₂=OCH₃; R₃=OCH₃; R₆=OH
 Ксантомикрол: R₁=OH; R₂=OCH₃; R₃=OCH₃; R₄=OCH₃; R₆=OH
 Цирзимаритин: R₁=OH; R₂=OCH₃; R₃=OCH₃; R₆=OH
 Апигенин: R₁=OH; R₃=OH; R₆=OH
 Лютеолин: R₁=OH; R₃=OH; R₅=OH; R₆=OH
 Рутин: R=O-Glu; R₁=OH; R₃=OH; R₄=OH; R₅=OH; R₆=OH

5–расм. Флавоноидларнинг кимёвий структураси.

Бунда ўрганилган флавоноидларнинг МусИТи лютеолин>генкванин>пуликарин>кверцетин>апигенин>пендулетин > рутин қаторида камайиб бориши уларнинг молекуласида –ОН гуруҳлар сони камайишига мос келади. Жумладан, нисбатан яққол ифодаланган МусИТ кўрсатувчи лютеолинда С(5), С(7), С(3') ва С(4') ҳолатларда тўртта –ОН гуруҳи мавжуд бўлиб, шу билан бир вақтда қаторнинг ўрта қисмида жойлашган апигенинда С(5), С(7) ва С(4') ҳолатларда жойлашган учта –ОН гуруҳи мавжуд. Рутинда МусИТ камроқ ифодаланиши эхтимол, С(3) ҳолатда –ОН гуруҳи ўрнида гликозид гуруҳи жойлашиши билан боғлиқ бўлиши мумкин. Ушбу таҳлил натижалари адабиёт маълумотлари билан яхши мос келиб, жумладан айрим флавоноидларнинг МусИТи таъминланишида С–ҳалқада α– ва β–кетогуруҳлар билан биргаликда С(4') ҳолатдаги –ОН гуруҳи муҳим роль ўйнаши кўрсатилган (Itoigawa et al., 1999). Шунга ўхшаш, ўрганилган флавоноидларнинг МанИТи уларнинг структурасига боғлиқлигини таҳлил қилиш натижалари кўрсатишича, унинг таъминланишида уларнинг молекуласидаги –OCH₃ гуруҳи муҳим роль ўйнаши аниқланди, унинг сони камайиши пендулетин>ксантомикрол>куматакенин>апигенин>рутин қаторида бу таъсирнинг камайишига мос келади. Шундай қилиб, нисбатан кўпроқ МанИТ кўрсатувчи пендулетинда С(3), С(6), С(7) ҳолатларда жойлашган учта –OCH₃ гуруҳи мавжуд бўлиб, камроқ МусИТ кўрсатувчи апигенин ва рутинда эса, бу гуруҳлар умуман мавжуд эмас. Шу билан биргаликда, флавоноидлар

структурасига гликозид гуруҳи киритилиши ҳам уларнинг МанИТи кучайишига олиб келади.

Шундай қилиб, амалга оширилган таҳлиллардан келиб чиқиб, флавоноидларнинг МанИТи таъминланишида В–ҳалқада С(3') ва С(4') атомларида –ОН гуруҳи мавжудлиги, С(2) ва С(3) атомлар ўртасида қўшбоғ ҳамда С–ҳалқада α - ва β -кетогуруҳлар мавжудлиги муҳим роль ўйнайди. Шу билан биргаликда МанИТ кўрсатувчи флавоноидлар учун А– ва В–ҳалқаларда –ОСН₃ гуруҳининг мавжудлиги хос бўлиб, уларнинг сони таъсир даражасини аниқлаб беради.

Флавоноидларнинг антиаритмик фаоллиги. Флавоноидлар самарали кардиопротектор таъсирга эга ва юракнинг турли хил касалликларини даволаш ва олдини олишда кенг фойдаланилади (Testai et al., 2015). Флавоноидларнинг бу таъсири асосан, уларнинг антиоксидант фаоллиги билан боғлиқ бўлиб, кислороднинг фаол шаклларини нейтраллаши ва эркин радикалли жараёнларни сусайтириши, оксидланишли стресс ривожланишини тормозлаши билан таъминланади (Ruijters et al., 2013). Шу билан биргаликда, флавоноидларнинг протектор таъсири таъминланишида кардиомиоцитларда $[Ca^{2+}]_{in}$ миқдорининг камайиши ва юрак мускули қисқариш фаоллиги оптималлашишини таъминловчи NO сигнал тизими муҳим роль ўйнаши аниқланган (Rubbo et al., 1994; Hare and Comford, 1995). Бунда NO тизими айниқса, ишемия/гипоксия шароитида флавоноидларнинг антиаритмик таъсири таъминланишида муҳим роль ўйнаши кўрсатилган (Antzelevitch et al., 2004).

Шунга боғлиқ, ўрганилган флавоноидларнинг антиаритмик фаоллигини баҳолаш учун, яққол ифодаланган аритмоген таъсирга эга бўлган аконитин ёрдамида чақирилган юрак аритмияси моделига (Catterall, 2000; Wright, 2002; Kneller et al., 2005) уларнинг таъсири ўрганилди. Аконитиннинг бу таъсирининг асосида Na⁺-каналлари инактивацияси механизмининг бузилиши орқали $[Na^+]_{in}$ миқдорининг ортиши ва Na⁺/Ca²⁺-алмашувчи активацияси ҳисобига кардиомиоцитларда Ca²⁺ тўпланиши таъминланиши ва СР дан Ca²⁺ нинг спонтан чиқиши ҳамда юрак ритмининг бузилиши ётади (Watano et al., 1999; Roden et al., 2002).

Флавоноидларнинг аконитинли аритмия моделига таъсирини ўрганишда улардан айримлари етарли даражада ифодаланувчи антиаритмик таъсир кўрсатиши аниқланди ва аконитин таъсирида юзага келтирилган папилляр мускулнинг спонтан қисқариш частотасини сезиларли камайтириши қайд қилинди. Бунда (+)-катехин, рутин, 3',4'-диметил кверцетин, генкванин ва кверцетин мавжуд шароитда аконитин (1 мкМ) ёрдамида чақирилган мускулнинг спонтан қисқариш частотаси мос равишда минутига 264±14 дан 87±32, 84±18, 73±16, 43±12 ва 32±14 гача камайиши аниқланди. Бу натижалардан кўриш мумкинки, бошқа флавоноидларга нисбатан солиштирилганда кверцетин ва генкванин кўпроқ ифодаланган антиаритмик таъсирга эга бўлиб, аконитин таъсирида чақирилган мускулнинг спонтан қисқариши ривожланишини нисбатан самарали камайтириши аниқланди. Кверцетиннинг антиаритмик таъсири таъминланишида унинг антиоксидант

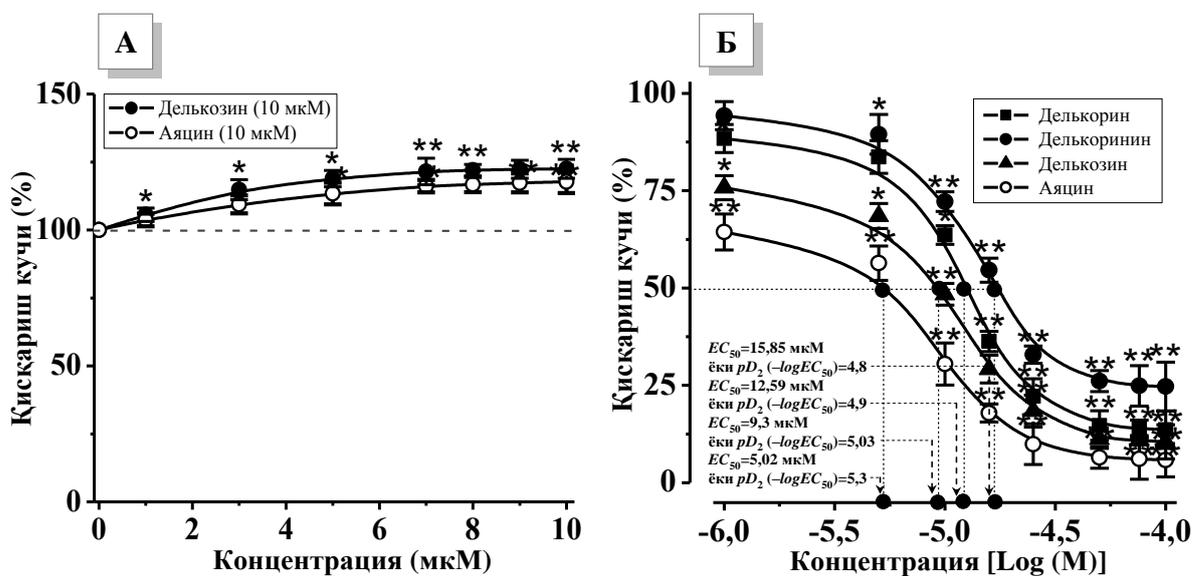
таъсири орқали оксидланишли стресс ривожланиши чекланиши ва Ca^{2+} миқдорининг ҳаддан ташқари ортиб кетиши сусайиши, кардиомиоцитларда $[Ca^{2+}]_{in}$ миқдорининг оптималлашиши ва юрак мускули қисқариш фаоллигининг меъёрийлашиши етакчи роль ўйнайди (Miller, 1996; Tsutsui et al., 2011). Бироқ, олинган натижаларнинг таҳлили кўрсатишича, флавоноидларнинг инотроп фаоллиги ҳам уларнинг антиаритмик таъсири таъминланишида маълум даражада ҳисса қўшиши мумкин. Жумладан, бошқа флавоноидларга нисбатан кверцетин ва генкваниннинг юқори антиаритмик таъсири уларнинг яққол ифодаланган МусИТи орқали таъминланиши мумкин. Бироқ, МанИТга эга бўлмаган, нисбатан юқори МусИТ кўрсатувчи 3',4'-диметил кверцетиннинг антиаритмик фаоллиги кверцетин ва генкванинга солиштирилганда сезиларли даражада паст ҳисобланади. Шу билан биргаликда, нисбатан яққол ифодаланувчи МанИТ кўрсатувчи, бироқ МусИТга эга бўлмаган (+)-катехиннинг антиаритмик фаоллиги ҳам кверцетин ва генкванинга нисбатан анча паст ҳисобланади. Бу маълумотлар флавоноидларнинг антиаритмик таъсири таъминланишида уларнинг антиоксидант фаоллиги билан биргаликда, инотроп таъсири маълум даражада ҳисса қўшиши мумкинлигини кўрсатади. Жумладан, кверцетин ва генкванинда манфий ва мусбат инотроп таъсир мавжудлиги уларнинг нисбатан яққол ифодаланувчи антиаритмик таъсирида муҳим роль ўйнаши мумкинлигидан далолат беради.

Ликоктонин типигаги дитерпен алкалоидларнинг инотроп таъсири. Ўсимлик моддалари кимёси институтида (Ўзбекистан) кўп йиллар давомида *Aconitum* L. ва *Delphinium* L. (*Ranunculaceae* оиласи) авлоди ўсимликларидан ажратиб олинган дитерпен алкалоидлар асосида антиаритмик воситаларни яратишга йўналтирилган кенг кўламдаги тадқиқотлар олиб борилмоқда. Жумладан, *Aconitum* L. ўсимликларидан аконитин типигаги алкалоидлар асосида такрорланмас антиаритмик таъсир кўрсатувчи бир қатор моддалар (аллапинин, дезацетиллапаконитин, бензоилгетератизин ва азопелин) ажратиб олинган (Джахангиров ва бошқ., 2001; Салимов, 2007; Юнусов, 2014). Бу алкалоидларнинг антиаритмик таъсири кардиомиоцитларда Na^{+} -каналларининг блокланиши орқали ҳаракат потенциали (ХП) ривожланиши сусайиши, унинг тарқалиши секинлашиши ва юракнинг ўтказувчи тизими кўзгалувчанлиги камайиши орқали таъминланади. Бироқ, бу алкалоидлар таъсирида Na^{+} -каналларининг блокланиши миокарднинг қисқариш фаоллиги сусайишига ҳам олиб келади, бу айрим аритмия типларини даволашда улардан кенг миқёсда фойдаланишни чекловчи қўшимча салбий таъсир ҳисобланади (Gutser and Gleitz, 1998; Hao et al., 2013; Borcsa et al., 2014).

Шунингдек, *Delphinium* L. авлоди ўсимликларидан ликоктонин типигаги кўп сондаги дитерпен алкалоидлар ажратиб олинган бўлиб, улар ҳам янги антиаритмик воситаларни яратиш учун катта қизиқиш ўйғотади. Бироқ, бу алкалоидларнинг антиаритмик таъсири асосида ётувчи механизмлар ва айниқса, уларнинг инотроп фаоллиги хусусиятларидаги муҳим жиҳатлар ўрганилмаган, бу ҳолат юрак аритмияларини даволаш ва олдини олиш учун

улардан янги самарали антиаритмик воситалар яратиш учун фойдаланиш истиқболларини олдиндан баҳолаш имконини бермайди.

Шунга боғлиқ, ушбу диссертациянинг вазифаларидан бири – ликоктонин типигади алкалоидларнинг (делькорин, делькоринин, делькозин ва аяцин) инотроп таъсир хусусиятлари ва унинг таъминланишида Ca^{2+} га боғлиқ жараёнларнинг ролини ўрганишдан иборат. Бу алкалоидларнинг таъсирини ўрганиш жараёнида улар етарлича яққол ифодаланган инотроп фаолликка эгаллиги аниқланди. Бунда делькозин ва аяцин алкалоидлари икки фазага таъсир кўрсатиши ва паст концентрацияларда (1–10 мкМ) мускул қисқариш кучини мос равишда – $22,5 \pm 3,5\%$ ва $17,7 \pm 4,1\%$ га ошириши, юқори концентрацияларда (>10 мкМ) уни мос равишда – $42,4 \pm 4,7\%$ ва $34,9 \pm 4,3\%$ камайтириши аниқланди (6,А,Б–расм). Бу алкалоидлардан фарқ қилиб, делькорин ва делькоринин алкалоидлари кенг концентрация диапазолида (1–100 мкМ) фақат манфий инотроп таъсир кўрсатиб, мускул қисқариш кучини назоратга нисбатан мос равишда максимал – $82,2 \pm 4,2\%$ ва $74,8 \pm 6,3\%$ га камайтириши аниқланди (6,Б–расм).



6–расм. Дитерпен алкалоидларнинг концентрацияга боғлиқ инотроп таъсири.

А. Делькозин ва аяциннинг мусбат инотроп таъсири. Стимуляция частотаси 0,5 Гц. Б. Дитерпен алкалоидларнинг манфий инотроп таъсири. Ордината ўқида – 100% деб қабул қилинган максимал қийматга нисбатан фоизда ифодаланган папилляр мускулнинг қисқариш кучи ифодаланган. Б. Абсцисса ўқида – алкалоидлар концентрацияси ифодаланган. Стимуляция частотаси 4 Гц ($t=+36 \pm 0,5^\circ\text{C}$). * – назоратга нисбатан $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ ($n=3-5$)

Бу натижалар ушбу алкалоидларнинг инотроп таъсири дозага боғлиқ таъсирга эгаллиги ва улар концентрацияга боғлиқ МусИТ ва МанИТ (делькозин, аяцин), ёки фақат МанИТ (делькорин, делькоринин) кўрсатиши мумкинлигидан далолат беради. Шу билан биргаликда, делькозин ва аяциннинг таъсири стимуляция частотасига ҳам боғлиқ бўлиб, >1 Гц стимуляция частоталарида улар фақат МанИТ кўрсатиши, 4 Гц да мускул қисқариш кучини максимал, мос равишда – $89,5 \pm 4,4\%$ ва $94,2 \pm 4,3\%$

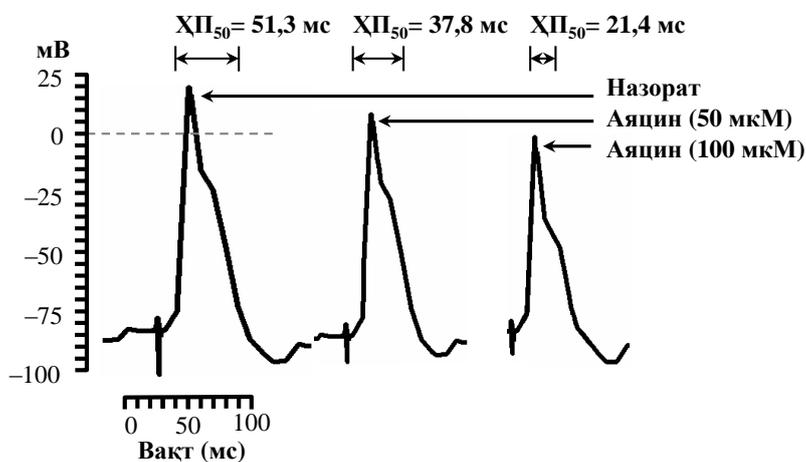
камайтириши аниқланди. Шунга ўхшаш, делькорин ва делькоринин билан бажарилган тажрибаларда уларнинг МанИТига стимуляция частотаси сезиларли таъсир кўрсатмаслиги аниқланди.

Делькозин ва аяциннинг инотроп таъсирининг стимуляция частотасига боғлиқлиги бу таъсирнинг кардиомиоцитларда Ca^{2+} ионларининг сарколеммада Ca^{2+}_L -каналлари орқали транспорти ёки СР дан чиқиши орқали таъминланиши мумкинлигидан далолат беради. Бу таъмин юрак мускулининг паст частоталарда (1 Гц гача) қисқариши асосан, СР дан чиқувчи, юқори частоталарда эса – сарколемма Ca^{2+}_L -каналлари орқали кирувчи Ca^{2+} ионлари орқали таъминланишига асосланади (Tang et al., 1996; Layland and Kenitsh, 1999; Bers, 2001).

Ликоктонин типдаги дитерпен алкалоидларнинг манфий инотроп таъсир механизми. Юқорида таъкидланганидек, манфий инотропларнинг таъсири асосан, сарколемма Ca^{2+}_L -каналлари орқали кардиомиоцитларга Ca^{2+} ионларининг кириши камайиши орқали таъминланади (Kihara et al., 1996; Bers, 2000). Шунга боғлиқ, ўрганилган алкалоидларнинг МанИТи механизмига аниқлик киритишда уларнинг Ca^{2+}_L -каналлари нифедипин билан блокраниши шароитидаги таъсири ўрганилди. Бу тажрибаларда нифедипин (0,01 мкМ) мавжуд шароитда алкалоидларнинг МанИТи сезиларли даражада камайиши ва унинг максимал эффектив концентрацияси (1 мкМ) мавжуд шароитда кузатилмаслиги аниқланди. Бунда унинг IC_{50} қийматига мос келувчи 0,01 мкМ нифедипин мавжуд шароитда делькорин, делькоринин, аяцин ва делькозин (IC_{50}) папилляр мускул қисқариш кучини бор-йўғи мос равишда – $5,8 \pm 3,4\%$, $9,3 \pm 3,8\%$, $14,2 \pm 4,2\%$ ва $8,4 \pm 5,1\%$ га камайтириши аниқланди. Бу натижалар Ca^{2+}_L -каналлари нифедипин билан қисман блокланган шароитда ўрганилган алкалоидларнинг МанИТи сақланиши, бироқ тўлиқ амалга ошмаслигини кўрсатади. Шу билан биргаликда, ушбу алкалоидларнинг МанИТи инкубация муҳитида $[\text{Ca}^{2+}]_{out}$ ионлари концентрациясига боғлиқлиги ва унинг камайтирилишида сезиларли сусайиши аниқланди. Ушбу натижалар умумий ҳолатда, ўрганилган алкалоидларнинг МанИТ асосан, сарколемма Ca^{2+}_L -каналлари орқали Ca^{2+} ионларининг кириши камайиши орқали кардиомиоцитларда $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдори камайиши таъминланиши билан боғлиқлигидан далолат беради.

Ca^{2+}_L -каналларининг функционал ҳолати мембрана потенциали (МП) орқали назорат қилинади ва ҳаракат потенциали (ХП) ривожланиши жараёнида кирувчи Na^+ оқими таъсирида МП -90 мВ дан $+20$ мВ гача силжишида активацияси кузатилади ва кардиомиоцитларга Ca^{2+} ионларининг киришини таъминлайди (Bers, 2000). Ca^{2+}_L -каналларининг бу кўринишда мембрана потенциали орқали модуляцияси Na^+ -каналлари блокадаси орқали таъсир кўрсатувчи 1А синфга кирувчи антиаритмик моддаларнинг МанИТ асосида ётади (Nawada et al., 1994; Heubach and Schule, 1998). Бунда ушбу агентлар Na^+ -каналларини блоклаши орқали ХП юқорига кўтарилиш фазаси ривожланиш тезлигини (V_{max}), унинг амплитудаси ва давомийлигини камайтиради. ХП ушбу параметрларининг камайиши, ўз навбатида деполяризация даражасининг пасайиши ва Ca^{2+}_L -каналларининг фаоллиги

ривожланиши чекланишига, кардиомиоцитларга Ca^{2+} ионларининг кириши камайиши ва юрак мускулининг қисқариш фаоллиги сусайишига олиб келади. Шунинг учун олиб, ўрганилаётган алкалоидларнинг МанИТи таъминланишида Na^{+} -каналларининг ролини аниқлаш учун, уларнинг каламуш юраги папилляр мускули ХП параметрларига таъсири ўрганилди. Бу тажрибаларда инкубация муҳитига делькорин, делькоринин, делькозин ва аяцин кўшилганда ХП амплитудаси $103,17 \pm 4,5$ мВ ни ташкил қилувчи назорат қийматидан мос равишда $-85,85 \pm 6,6$ мВ, $84,6 \pm 4,2$ мВ, $87,02 \pm 5,1$ мВ ва $72,5 \pm 4,7$ мВ гача камайиши аниқланди. Бунда алкалоидларнинг бу таъсири ХП давомийлиги камайиши билан амалга ошиши аниқланди, яъни реполяризациянинг 50% қиймати (ХП_{50}) делькорин, делькоринин, делькозин ва аяцин мавжуд шароитда $51,3 \pm 1,6$ мс ни ташкил қилувчи назорат қийматидан мос равишда $-38,9 \pm 4,2$ мс, $22,3 \pm 5,1$ мс, $30,3 \pm 3,8$ мс ва $21,4 \pm 2,5$ мс га камайиши аниқланди. Алкалоидларнинг бу таъсири аяцин мисолида куйидаги расмда кўрсатилган (7-расм).



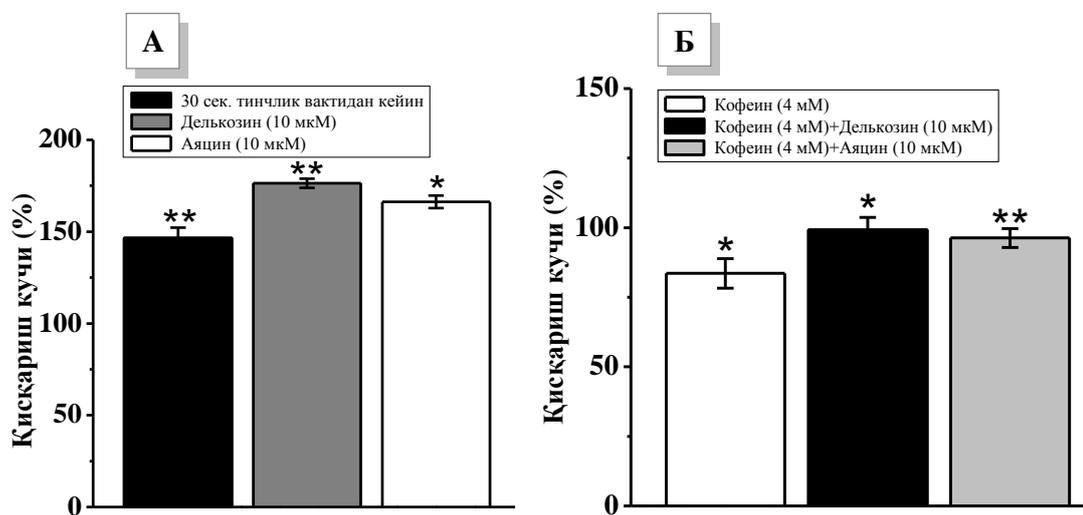
7-расм. Аяцин дитерпеноид алкалоидининг каламуш юраги папилляр мускули ҳаракат потенциали параметрларига таъсири. 50 ва 100 мкМ аяцин мавжуд шароитда ҳаракат потенциалининг оригинал кўриниши. Стимуляция частотаси 1 Гц ($t = +36 \pm 0,5^\circ\text{C}$)

Бу тажрибаларнинг натижалари ўрганилаётган алкалоидлар таъсирида папилляр мускул ХП амплитудасининг пасайиши асосан, кардиомиоцитларда ХП юқорига кўтарилувчи фазаси ривожланиши, унинг амплитудаси ва давомийлигини белгилаб берувчи кирувчи оқим (I_{Na}), яъни Na^{+} -каналларининг (Bers, 2000) блоккланиши билан боғлиқлигидан далолат беради.

Бундан келиб чиқадики, бу алкалоидлар Na^{+} -каналларини блокклаши ва деполяризация ривожланишини чеклаши орқали, $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналлари инактивацияси ва кардиомиоцитларда Ca^{2+} ионлари транспортини белгилаб берувчи «кальцийли дарча» давомийлиги (January et al., 1991) қисқаришига олиб келади. Бу маълумотлар асосида хулоса қилиш мумкинки, ўрганилаётган алкалоидларнинг МанИТи таъминланишида Na^{+} -каналларининг блоккланиши орқали деполяризация даражасининг камайиши ва $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналларининг инактивацияси, кардиомиоцитларда $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$

миқдорининг камайиши ва қисқариш фаоллигининг сусайиши асосий роль ўйнайди.

Делькозин ва аяцин алкалоидларининг мусбат инотрон таъсир механизми. Делькозин ва аяциннинг МуСИТи фақат юрак мускулининг қисқариши асосан СР дан чиқувчи Ca^{2+} ионлари орқали таъминланувчи паст частоталарда (0,1–1 Гц) кузатилиши билан боғлиқ ҳолатда, уларнинг папилляр мускулда ПРП га таъсирини ўргандик. Бунда делькозин ва аяцин (10 мкМ) мавжуд шароитда ПРП қиймати назорат қийматига нисбатан мос равишда – қўшимча 29,9±5,7% ва 19,8±3,4% га ортиши аниқланди (8,А–расм). ПРП шаклланишида тинчлик вақтида СР га Ca^{2+} ионларининг тўпланиши иштирок этишини ҳисобга олиб, алкалоидларнинг бу таъсирида СР га Ca^{2+} ионлари қўшимча йиғилишидан далолат беради, ушбу таъсир таъминланишида Na^+/Ca^{2+} –алмашувчи орқали кирувчи Ca^{2+} ионлари (Bers and Christensen, 1990; Maier et al., 2000) муҳим роль ўйнаши мумкин. Алкалоидларнинг ушбу таъсири таъминланишида Na^+/Ca^{2+} –алмашувчининг иштироки Ni^{2+} ионлари мавжуд шароитда таъсирнинг сезиларли камайиши билан тасдиқланди. Шу билан биргаликда, алкалоидларнинг ушбу таъсири ПРП таъминланишида иштирок этувчи механизмларнинг ҳолатига боғлиқлиги аниқланди. Бунда кофеиннинг максимал самарали концентрацияси (20 мкМ) мавжуд ҳолатда СР да Ca^{2+} захирасининг тўлиқ тугаши натижасида унинг функция бажармаслиги шароитида делькозин ва аяциннинг ушбу таъсири кузатилмайди. Бирок, 4 мМ кофеин мавжуд шароитда ПРП қиймати назоратга нисбатан 83,6±5,3% га камаяди, делькозин ва аяцин уни мос равишда – 15,6±4,5% и 12,7±2,4% га оширади (8,Б–расм).



8–расм. Делькозин ва аяцин дитерпеноид алкалоидларининг каламуш юраги папилляр мускулида пост–рест потенцияция (А) ва кофеин билан чақирилган қисқаришга таъсири (Б). А. Ордината ўқида – 100% деб қабул қилинган максимал қийматга нисбатан фоизда ифодаланган мускулнинг қисқариш кучи ифодаланган. Стимуляция частотаси 0,5 Гц, тинчлик даври 30 сек. Б. Ордината ўқида – кофеин (20 мМ) мавжуд шароитда 100% деб қабул қилинган назоратга нисбатан фоизда ифодаланган мускулнинг қисқариш кучи ифодаланган ($t=+36\pm 0,5^{\circ}C$). * – назоратга нисбатан $p<0,05$, ** – $p<0,01$ ($n=4-5$)

Бу натижалар ПРП таъминишидаги механизмларнинг қисман функция бажариши шароитида алкалоидлар СР га Ca^{2+} ионларининг йиғилишини стимуллаш хусусиятини сақлаб қолишдан далолат беради. Шундай қилиб, ушбу тажрибалар натижалари делькозин ва аяциннинг МусИТи кардиомиоцитларда асосан СР дан чиқувчи Ca^{2+} ионлари иштирок этувчи $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдори ортиши билан боғлиқлигидан далолат беради.

Олинган маълумотларнинг таҳлили ўрганилган алкалоидлар яққол ифодаланган инотроп фаолликка эга бўлиб, бу таъсир таъминланишида кардиомиоцитларда Na^{+} -, Ca^{2+} -каналлари ва $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ -алмашувчи, шунингдек СР RyR2 орқали турли хил механизмлар иштирок этишини кўрсатади. Бунда ушбу алкалоидларнинг инотроп таъсири уларнинг структураси хусусиятларига боғлиқ бўлиб, асосан аяцин ва делькозинда гидроксил гуруҳи, делькорин ва делькорининда – дезокси гуруҳи жойлашган, скелетида С(7) ва С(8) углерод атомларидаги ўрин алмашувчилар билан фарқланади.

Ликоктонин типидagi алкалоидларнинг антиаритмик фаоллиги. Ўрганилган алкалоидларнинг аконитинли аритмия моделига таъсирини ўрганиш жараёнида уларнинг папилляр мускулнинг аконитин билан чақирилган спонтан қисқариши частотасини турли хил даражада камайтириши аниқланди. Бунда делькорин, делькоринин, делькозин ва аяцин (100 мкМ) мавжуд шароитда аконитин (1 мкМ) билан чақирилган спонтан қисқариш частотаси 266 ± 5 дан мос равишда – 23 ± 4 , 36 ± 7 , 18 ± 6 ва 9 ± 2 уриш/минутгача камайиши аниқланди. Бу натижалар ўрганилган алкалоидлар мускулнинг аконитин билан чақирилган спонтан қисқариши ривожланишини сезиларли сусайтириши, яъни уларнинг антиаритмик фаолликка эгалигидан далолат беради. Адабиёт маълумотлари ва ушбу тадқиқотни амалга ошириш жараёнида олинган натижалар таҳлили ўрганилган алкалоидларнинг антиаритмик таъсири таъминланишида уларнинг Na^{+} -каналлари блокадаси билан боғлиқ МанИТи етакчи роль ўйнашини тахмин қилиш имконини беради. Na^{+} -каналларининг шунга ўхшаш блокланиши 1А синф антиаритмик моддаларининг таъсири учун хос бўлиб, натижада кардиомиоцитларда $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдори камайиши, кўзгалувчанлик сусайиши ва юрак қисқариши частотаси меъёрийлашиши таъминланади (Heubach and Schule, 1998; Nawada et al., 1994; Wright, 2001). Бироқ, МанИТ нисбатан юқори бўлган делькорин ва делькорининнинг антиаритмик фаоллиги МанИТ билан биргаликда МусИТ кўрсатувчи делькозин ва аяцинга нисбатан сезиларли даражада паст ҳисобланади. Шунга боғлиқ, делькозин ва аяциннинг нисбатан юқори антиаритмик фаоллиги эхтимол, уларда бир қатор 1А синф антиаритмик моддаларининг терапевтик таъсири амалга оширишида иштирок этиши мумкинлиги аниқланган (Honerjager et al., 1986) МусИТ мавжудлиги билан боғлиқ бўлиши мумкин.

Шундай қилиб, ушбу тажрибалар серияси натижалари ўрганилган ликоктонин типидagi дитерпеноид алкалоидларнинг инотроп ва антиаритмик таъсирга эгалигидан далолат беради. Делькозин ва аяциннинг инотроп ва антиаритмик таъсирларини солиштирма таҳлил қилиш, унинг

таъминланишида Na^+ -каналлари блокраниши орқали Ca^{2+} -транспорт тизимлари функцияси модуляцияси орқали кардиомиоцитларда $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдори ва юрак мускули қисқариш фаоллиги ўзгариши етакчи роль ўйнашини кўрсатади.

Умуман, диссертация иши натижалари ўрганилган фенол бирикмалари ва ликоктонин типдаги дитерпен алкалоидларнинг инотроп ва антиаритмик таъсирга эгаллиги, бу таъсир таъминланишида кардиомиоцитларда Ca^{2+} га боғлиқ жараёнлар регуляциясида иштирок этувчи турли хил ион-транспорт тизимлари ва хужайра ички сигнал каскадлари иштирок этишини кўрсатади.

ХУЛОСАЛАР

1. Фенол бирикмалари ва ликоктонин типдаги дитерпен алкалоидлар яққол ифодаланган инотроп фаолликка эга бўлиб, бу таъсир уларнинг структураси ва фойдаланилган концентрациясига боғлиқ ҳисобланади.
2. Флавоноидларнинг мусбат инотроп таъсири уларнинг структурасидаги –ОН гуруҳлар сонига боғлиқ бўлиб, $\beta\text{-AP} \rightarrow \text{AЦ} \rightarrow [\text{цАМФ}]_{in} \rightarrow \text{ПКА}$ сигнал каскади активацияси ва $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{-АТФаза}$ ингибирланиши, кардиомиоцитларда $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдори ва юрак мускули қисқариш фаоллиги ортиши билан боғлиқ ҳисобланади.
3. Флавоноидларнинг манфий инотроп таъсири уларнинг структурасидаги – OCH_3 гуруҳлар сонига боғлиқ бўлиб, Ca^{2+}_L -каналлари блокадаси ва $e\text{NOS} \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{ГЦ} \rightarrow [\text{цГМФ}] \rightarrow \text{PKG}$ сигнал каскади активацияси ҳамда кардиомиоцитларда $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдори ва юрак мускули қисқариш фаоллиги камайиши билан боғлиқ ҳисобланади.
4. Кверцетин ва генкваниннинг яққол ифодаланган антиаритмик таъсири нафақат уларнинг оксидланишли стрессни чекловчи юқори антиоксидант фаоллиги, балки кардиомиоцитларда $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдори оптималлашиши ва қисқариш фаоллиги меъёрийлашишини таъминловчи уларнинг инотроп таъсири билан таъминланади.
5. Структурасида С(7) ва С(8) углерод атомларида –ОН гуруҳи мавжуд бўлган делькозин ва аяцин дитерпен алкалоидлари концентрацияга боғлиқ мусбат ва манфий инотроп таъсир кўрсатади ҳамда бу ҳолатларда дезокси- гуруҳи жойлашган делькорин ва делькоринин алкалоидлари эса – кенг концентрациялар диапазонида фақат манфий инотроп таъсир кўрсатади.
6. Ушбу алкалоидларнинг манфий инотроп таъсири Na^+ -каналлари блокадаси орқали Ca^{2+}_L -каналлари инактивацияси ва кардиомиоцитларда $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдори камайиши ҳамда юрак мускули қисқариш фаоллиги сусайиши асосида таъминланади.
7. Делькозин ва аяциннинг мусбат инотроп таъсири саркоплазматик ретикулумда Ca^{2+} ионларининг аккумуляцияси ва чиқарилишида иштирок этувчи жараёнлар активацияси орқали кардиомиоцитларда $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдори ортишига боғлиқ.

8. Делькозин ва аяциннинг делькорин ва делькорининга нисбатан яққол ифодаланган кучлироқ антиаритмик фаоллиги антиаритмик таъсирни таъминловчи механизмда иштирок этиши мумкин бўлган, уларда манфий билан биргаликда мусбат инотроп фаоллик мавжудлиги билан боғлиқ бўлиши асосланди.
9. Ўрганилган моддаларнинг инотроп ва антиаритмик таъсир механизмлари, шунингдек уларнинг структураси ва фаоллиги ўртасидаги қонуниятлар таҳлили асосида, генкванин флавоноиди, аяцин ва делькозин алкалоидлари юрак аритмияларини даволаш ва олдини олиш учун янги самарали дори воситаларини яратишда нисбатан истиқболли номзодлар сифатида тавсия этилади.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.27.06.2017.К/В/Т.37.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ БИООРГАНИЧЕСКОЙ
ХИМИИ, НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ УЗБЕКИСТАНА,
ИНСТИТУТЕ ХИМИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ**

ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

ХУШМАТОВ ШУНКОР САДУЛЛАЕВИЧ

**ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕЙСТВИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ НА КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМЫЕ ПРОЦЕССЫ В
КАРДИОМИОЦИТАХ**

03.00.02 – Биофизика и радиобиология

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК (DSc)**

Ташкент – 2018

Тема диссертации доктора наук (DSc) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером В2017.1.DSc/В7

Докторская диссертация выполнена в Институте биоорганической химии.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (<http://www.biochem.uz>) и на Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (<http://www.ziynet.uz>).

Научный консультант: **Усманов Пулат Бекмуратович**
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Сабиров Равшан Заирович**
доктор биологических наук, академик

Мирходжаев Улугбек Закирович
доктор биологических наук, профессор

Матчанов Азат Таубалдиевич
доктор биологических наук, профессор

Ведущая организация: **Ташкентский фармацевтический институт**

Защита диссертации состоится «__» _____ 2018 г. в ____ часов на заседании Научного совета DSc.27.06.2017.К/В/Т.37.01 при Институте биоорганической химии, Национальном университете Узбекистана, Институте химии растительных веществ (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: (99871) 262–35–40; факс: (99871) 262–70–63).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биоорганической химии (регистрационный номер № ____). (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: (99871) 262–35–40; факс: (99871) 262–70–63), e-mail: asrarov54@mail.ru)

Автореферат диссертации разослан «__» _____ 2018 года.
(реестр протокола рассылки № ____ от _____ 2018 года.)

Ш.И.Салихов
Председатель Научного совета по присуждению
учёной степени, д.б.н., академик

Б.Н.Бабаев
Ученый секретарь Научного совета по присуждению
учёной степени, и. о., д.х.н.

Ш.У.Турдикулова
Председатель научного семинара при Научном совете
по присуждению учёной степени, д.б.н.

ВВЕДЕНИЕ (Аннотация диссертации доктора наук (DSc))

Актуальность и востребованность темы диссертации. В последние годы во всем мире наблюдается тенденция широкого распространения сердечно–сосудистых заболеваний, которые продолжают сохранять ведущие позиции в общей структуре заболеваемости и смертности^{1,2}. Во многом это предопределяется тем, что большинство используемых лекарственных средств при лечении этих заболеваний далеки от совершенства и имеют существенные недостатки, которые значительно ограничивают их терапевтическую эффективность и возможность их широкого применения. В связи с этим на сегодняшний день одной из актуальнейших проблем современной кардиологии является создание нового поколения эффективных лекарственных средств, обладающих целенаправленным действием на конкретные мишени и лишенных побочных эффектов.

На сегодняшний день в мире современная стратегия создания новых эффективных лекарственных средств для терапии сердечно–сосудистых заболеваний, опирается на фундаментальных знаниях молекулярных механизмов, лежащих в основе их патогенеза. При этом ведущую роль играют сведения о природе и фармакологических особенностях ключевых молекулярных мишеней, непосредственно связанных с развитием патологических процессов. В связи с этим выяснению механизмов фармакологической регуляции Ca^{2+} –транспортирующих систем кардиомиоцитов, с нарушением функции которых связано развитие большинства патологических процессов в миокарде, отводится первостепенное значение. Решение этой задачи позволит установить новые подходы фармакологической регуляции Ca^{2+} –транспортирующих систем кардиомиоцитов и обеспечит разработку принципиально новых адекватных методов профилактики и терапии сердечно–сосудистых заболеваний.

В республике принято ряд программ, направленных на обеспечение динамичного и устойчивого развития отечественной фармацевтической промышленности. При этом особое внимание уделяется вопросам обеспечения качественными и безопасными отечественными лекарственными средствами, создаваемых на основе местного растительного сырья. В стратегии действия по дальнейшему развитию Республики Узбекистан намечены задачи по «развитию фармацевтической промышленности и по обеспечению населения качественными, безопасными и дешевыми лекарственными средствами»³. При этом важное значение имеет создание новых эффективных лекарственных средств для терапии сердечно–сосудистых заболеваний на основе лекарственного сырья, которое

¹ Heart disease and stroke statistics – 2017 update: A report from the American heart association // [Электрон ресурс]. Режим доступа: <http://circ.ahajournals.org/content/135/10/e146> Дата обращения: 15.08.2017 г.

² M.Nichols, N.Townsend, P.Scarborough, M.Rayner. Cardiovascular disease in Europe 2014: Epidemiological update // European Heart Journal. – 2014. – Special article. – P.2–10.

³ Указ Президента Республики Узбекистан О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан // [Электрон ресурс]. Режим доступа: http://lex.uz/pages/getpage.aspx?lact_id=3107036 Дата обращения: 15.08.2017 г.

характеризуется содержанием огромного количества соединений с потенциальной фармакологической активностью.

Данное диссертационное исследование в определенной степени будет способствовать выполнению задач, предусмотренных в Постановлении Президента Республики Узбекистан ПП–2595 от 16 сентября 2016 года «О программе мер по дальнейшему развитию фармацевтической промышленности на 2016–2020 годы» и указе Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года № УП–4947 «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан», а также в других нормативно–правовых документах, принятых в данной сфере.

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

Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации¹. Научные исследования, направленные на изучение механизмов регуляции Ca^{2+} –зависимых процессов в миокарде, осуществляются в ведущих научных центрах и высших образовательных учреждениях мира, в том числе, в University of Alberta (Канада), University of Freiburg (Германия), New York University (США), Shihezi University (Китай), Aichi Medical University (Япония), French Institute of Health and Medical Research (Франция), в Институте Биофизики клетки РАН (Россия) и Институте Биоорганической химии (Узбекистан).

В результате исследований проведенных в мире по направлению разработке новых современных подходов терапии сердечно–сосудистых заболеваний получены важные научные результаты, в том числе: установлены некоторые детали механизма регуляции динамики $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах (University of Alberta, Канада; Shihezi University; Китай), характеризованы принципы регуляции функции Ca^{2+} –каналов L–типа (Ca^{2+}_L –каналы) и Na^+/Ca^{2+} –обменника (University of Freiburg, Германия; French Institute of Health and Medical Research (Франция); установлена роль внутриклеточных сигнальных систем в регуляции функции рианодинового рецептора (RyR2) и Ca^{2+} –АТФазы саркоплазматического ретикулума (New York University, США; Aichi Medical University, Япония); установлены механизмы модуляции Ca^{2+} –транспортирующих систем кардиомиоцитов биологически активными соединениями (Институт Биофизики клетки, Россия; Институт Биоорганической химии, Узбекистан).

В мире при разработке современных подходов терапии сердечно–сосудистых заболеваний проводятся исследования по ряду приоритетных направлений, в том числе: установление молекулярных механизмов регуляции функции Ca^{2+} –транспортирующих систем кардиомиоцитов;

¹ Обзор научных исследований по теме диссертационной работы, проводимых за рубежом, составлен по данным, приведенным в источниках: <http://med-fom-cell-phys.sites...>; <http://thoracickey.com/excitation...>; <https://www.jove.com...>; <https://www.duo.uio.no/bitstream...> и на основе других источников.

характеристика фармакологических особенностей основных молекулярных мишеней, связанных с патогенезом сердечно–сосудистых заболеваний; поиск биологически активных соединений, перспективных для создания нового поколения лекарственных средств таргетного действия с целью обеспечения адекватной терапии патологий сердца.

Степень изученности проблемы. В настоящее время за рубежом установлению молекулярных механизмов, лежащих в основе развития сердечно–сосудистых заболеваний, и разработке адекватных подходов их терапии посвящено большое количество фундаментальных исследований (Hausenloy D.J., Yellon D.M., Avkiran M., Marber M.S., Luo M., Anderson M.E., Kho C., Lee A., Hajjar R.J., Bers D.M., Shintani–Ishida K., Inui M., Kalogeris T., Baines C.P., Wright S.N. и др.). Установлена важная роль нарушений Ca^{2+} –зависимых процессов в развитии широкого круга сердечно–сосудистых заболеваний и фармакологических подходах и их коррекции (Murphy E., Allen D.G., Lee C., Dhalla N.S., Hryshko L.V., Zucchi R., Ronca–Testoni S. и др.).

В Узбекистане большой вклад в исследования, направленных на создание новых антиаритмических средств, внесли отечественные ученые (Юнусов М.С., Джахангиров Ф.Н., Салимов Б.Т.). Особое внимание в последние годы уделяется разработке эффективных подходов кардиопротекции на основе растительных полифенолов (Williams R.J., Graf B., Noad R.L., Manach C., Stevenson, D.E., Hurst R.D.). Анализ научных публикаций отечественных ученых (Эшбакова К.А., Мавлянов С.М.) показал, что их исследования в основном посвящены изучению антиоксидантных свойств фенольных соединений, которых недостаточно для комплексного анализа их фармакологического потенциала.

Связь темы диссертации с научно–исследовательскими работами научно–исследовательского учреждения, где выполнена работа. Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно–исследовательских проектов Института биоорганической химии: ФА–А11–Т057 «Создание центра высокоэффективного скрининга биологически активных соединений природного и синтетического происхождения» (2015–2017); ФА–Ф–6–004 «Комплексная характеристика механизмов модуляции перспективных мишеней сердечных и гладкомышечных клеток для разработки адекватных подходов терапии сердечно–сосудистых заболеваний» (2017–2020).

Целью исследования является характеристика особенностей действия биологически активных соединений (фенольные соединения, дитерпеновые алкалоиды ликоктонинового типа) на Ca^{2+} –зависимые процессы в кардиомиоцитах.

Задачи исследования:

исследование особенностей инотропных эффектов фенольных соединений (фенолы, флавоноиды, полифенол) и дитерпеновых алкалоидов ликоктонинового типа;

установление механизма инотропного действия фенольных соединений, исследование роли Ca^{2+} -транспортирующих систем в его обеспечении и его зависимость от их структуры;

оценка антиаритмического действия фенольных соединений, установление механизмов, лежащих в его основе, и роли их инотропной активности в его обеспечении;

установление механизма инотропного действия дитерпеновых алкалоидов ликоктонинового типа, исследование роли Ca^{2+} -транспортирующих систем в его обеспечении и его зависимость от их структуры;

оценка антиаритмического действия дитерпеновых алкалоидов ликоктонинового типа, обоснование механизма, лежащего в его основе, и роли их инотропной активности в его обеспечении;

сравнительный анализ инотропной и антиаритмической активностей фенольных соединений и дитерпеновых алкалоидов ликоктонинового типа с целью выявления наиболее перспективных кандидатов для использования в качестве основы при создании новых лекарственных средств для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Объектами исследования являются: фенолы – пирогаллол, флороглюцин, гидрохинон, галловая кислота; флавоноиды – кверцетин, 3',4'-диметил кверцетин, рутин, (+)-катехин, апигенин, лютеолин, пуликарин, генкванин, куматакенин, пендулетин, ксантомикрол, цирзимаритин; полифенол – эпигаллокатехин-3-О-галлат (ЭГКГ); дитерпеновые алкалоиды – делькорин, делькоринин, делькозин, аяцин.

Предметом исследования является исследование особенностей действия фенольных соединений и дитерпеновых алкалоидов ликоктонинового типа на Ca^{2+} -зависимые процессы миокарда крысы, характеристика механизмов их инотропного и антиаритмического действия, а также анализ их зависимости от структуры.

Методы исследования. Все эксперименты проводились с помощью современных методов регистрации и анализа сократительной и электрической активности папиллярной мышцы сердца крысы с использованием компьютерных систем сбора и обработки данных. Сократительную активность сердечной мышцы оценивали в изометрическом режиме. Анализ параметров сокращения мышцы, таких как сила (F), скорость нарастания силы ($+dF/dt_{max}$), скорость расслабления ($-dF/dt_{max}$), продолжительность цикла сокращение-расслабление (T) проводили с помощью разработанной нами программы (Мусаев и др., 2009; №DGU 01873)¹. Анализ параметров потенциала действия, таких как амплитуда (V_m) и длительность реполяризации (ПД_{50}), проводили с помощью программы LabPro Logger Lite 1.2 (Vernier Software & Technology; США).

¹ М.М.Мусаев, П.Б.Усманов, Ф.А.Рахматов, Ш.С.Хушматов. Программа для ЭВМ «Анализ кинетики мышечного сокращения» // Государственное патентное ведомство РУз. Свидетельство №DGU 01873. 18.12.2009 г. // Официальный бюллетень. – №1(9). – С.170–171.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы OriginLab OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, США).

Научная новизна диссертационного исследования заключается в следующем:

установлен механизм положительного инотропного действия флавоноидов и ведущая роль сигнального каскада β -AP \rightarrow AЦ \rightarrow цАМФ \rightarrow ПКА и Na⁺/K⁺-АТФазы в их обеспечении;

установлен механизм отрицательного инотропного действия флавоноидов, доказано участие сигнального каскада eNOS \rightarrow NO \rightarrow ГЦ \rightarrow цГМФ \rightarrow PKG и Ca²⁺_L-каналов в его обеспечении;

обоснована зависимость характера и уровня инотропных эффектов флавоноидов от количества и расположения –ОН и –ОСН₃ групп в их молекуле и механизм антиаритмического действия флавоноидов и возможной роли их инотропной активности в его обеспечении;

впервые охарактеризованы особенности инотропных эффектов алкалоидов ликоктонинового типа и механизмы их отрицательного и положительного инотропного действия, установлена роль Na⁺-каналов и процессов, участвующих в загрузке и высвобождении ионов Ca²⁺ в СР, в их обеспечении;

установлена зависимость характера инотропного действия алкалоидов от наличия гидроксильных и дезоксигрупп у углеродных атомов С(7) и С(8) их молекул и доказано возможной роли положительного инотропного действия делькозина и аяцина в обеспечении их более выраженной антиаритмической активности.

Практические результаты исследования. Установлены механизмы инотропного и антиаритмического действия фенольных соединений и дитерпеновых алкалоидов ликоктонинового типа, которые в качестве теоретической базы будут способствовать научно-обоснованному подходу рационального создания новых эффективных лекарственных средств для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Достоверность результатов исследования подтверждается использованием современных электрофизиологических методов регистрации и автоматических систем сбора и обработки результатов экспериментов, позволяющих проводить анализ достоверности полученных данных. Выводы в работе сделаны на основе результатов, обработанных с использованием современных методов математической статистики.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования. Теоретическая значимость результатов исследования определяется существенным вкладом в развитие фундаментальных представлений о механизмах, лежащих в основе инотропного и антиаритмического действия фенольных соединений и дитерпеновых алкалоидов ликоктонинового типа, роли Ca²⁺-транспортирующих систем и Ca²⁺-зависимых процессов в их обеспечении, а также возможных подходах их фармакологической регуляции.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что на основании анализа механизмов инотропного и антиаритмического действия флавоноид генкванин и алкалоиды аяцин и делькозин рекомендованы в качестве наиболее перспективных кандидатов для создания нового поколения лекарственных средств для профилактики и лечения сердечных аритмий.

Внедрение результатов исследования. На основании результатов характеристике действия флавоноидов и дитерпеновых алкалоидов ликоктонинового типа на Ca^{2+} -зависимые процессы в кардиомиоцитах:

флавоноид генкванин использован для характеристики инотропного действия флавоноидов в рамках проекта: «The International Cooperation and Exchanges» Национального Фонда Естественных Наук Китая (справка 0991–3835823 Chinese Academy of Sciences, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry от 30 ноября 2017 года). Результаты этих исследований позволили оценить роль инотропной активности флавоноидов в обеспечении их фармакологических эффектов;

выявленные особенности инотропных и антиаритмических эффектов флавоноидов нашли применение при комплексном анализе их фармакологических свойств в рамках проекта «The Central Asian Centre of Drug Discovery & Development» Академии Наук Китая и CAS TWAS scholarships (справка 0991–3835823 Chinese Academy of Sciences, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry от 30 ноября 2017 года). Результаты этих исследований способствовали комплексному анализу кардиопротекторных свойств ряда флавоноидов;

сведения о механизмах биологических эффектов флавоноидов, использованы в зарубежных журналах с высоким импакт – фактором для установления кардиоваскулярного действия флавоноидов (Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine, 2013, V.3, Journal Impact Factor, IF 0,925; Visnyk of Dnipropetrovsk University (Biology, Medicine), 2016, V.7, Global Impact Factor, GIF 0,888; World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2017, V.6, Global Impact Factor, GIF 0,629). Результаты существенно расширили представления о фармакологических свойствах флавоноидов и механизмах их кардиопротекторного действия;

особенности действия некоторых флавоноидов (апигенин, лютеолин, кверцетин) на Ca^{2+} -зависимые процессы использованы в проекте «Характеристика эффектов биорегуляторов транспорта ионов митохондрий и метаболических процессов в норме и при патологии» для характеристике действия флавоноидов на ион–транспортные системы митохондрий (справка ФТК–0313/870 Комитета по координации развития науки и технологий от 1 декабря 2016 года). Результаты этих исследований позволили уточнить роль митохондрий в обеспечении кардиопротекторного действия флавоноидов.

Апробация результатов исследования. Результаты исследования диссертационной работы прошли апробацию на 11 международных и 13 республиканских научно–практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликованы 41 научных работ, из них 11 научных статей, в том числе 6 в республиканских и 5 в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 195 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

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

В первой главе диссертации **«Молекулярные механизмы функционирования сердца в норме и при патологии»** на основе литературных данных последних лет приведены сведения о принципах структурной организации и особенностях функционирования сердца, основных ион-транспортующих системах кардиомиоцитов (Na^+ -, Ca^{2+} -, K^+ -, Cl^- -каналы, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник, Na^+/K^+ - и Ca^{2+} -АТФазы), представлены данные о роли адренорецепторов (АР) и внутриклеточных сигнальных каскадов в регуляции процессов сокращения и расслабления, описаны особенности инотропизма миокарда и электрофизиологические механизмы поддержания и нарушения сердечного ритма. Представлены данные о структурной организации и биологической активности фенольных соединений и дитерпеновых алкалоидов, а также сведения о перспективности их использования в качестве потенциальных фармакологических агентов.

Во второй главе диссертации **«Значение Ca^{2+} -транспортующих систем в обеспечении функциональной активности кардиомиоцитов»** представлены данные о динамике изменений внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} в кардиомиоцитах, описаны особенности организации и функционирования Ca^{2+}_L -каналов, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника, Ca^{2+} -АТФазы сарколеммы и Ca^{2+} -транспортующих систем СР (RyR2 , Ca^{2+} -АТФаза).

В третьей главе диссертации **«Методы оценки инотропной, электрической и антиаритмической активности биологически активных соединений»** представлены объекты исследования, методы регистрации сократительной и электрической активности сердечной мышцы, а также оценки антиаритмических эффектов соединений, описаны экспериментальные подходы изучения функциональной активности Ca^{2+} -

транспортирующих систем кардиомиоцитов, протоколы экспериментов и методы статистической обработки результатов.

В четвертой главе диссертации «**Инотропное и антиаритмическое действие фенольных соединений и дитерпеновых алкалоидов ликоктонинового типа**» представлены результаты исследования инотропных эффектов фенолов (пирогаллола, флороглюцина, гидрохинона, галловой кислоты), инотропного и антиаритмического действия флавоноидов (кверцетина, 3',4'-диметил кверцетина, рутина, (+)-катехина, апигенина, генкванина, пендулетина, ксантомикрола, лютеолина, пуликарина, куматакенина, цирзимаритина), полифенола – ЭГКГ и дитерпеновых алкалоидов ликоктонинового типа (делькорина, делькоринина, делькозина и аяцина).

Особенности инотропных эффектов фенолов. Учитывая то, что флавоноиды и полифенолы являются производными фенола, в молекулах которых содержатся дополнительные структурные фрагменты, благодаря которым они приобретают новые свойства, было целесообразным первоначально оценить инотропную активность некоторых представителей фенолов. При этом было обнаружено, что пирогаллол, флороглюцин, гидрохинон и галловая кислота заметно подавляют сокращения папиллярной мышцы сердца крысы, т.е. обладают отрицательным инотропным эффектом (ОИЭ). Наиболее выраженный ОИЭ проявляли галловая кислота и гидрохинон, в присутствии которых (150 мкМ), сила сокращения мышцы снижалась на $61,4 \pm 4,8\%$ и $45,4 \pm 6,8\%$, соответственно. Этот эффект фенолов зависил от ионов $[Ca^{2+}]_{out}$ и заметно подавлялся в присутствии нифедипина, что свидетельствует об участии Ca^{2+}_L -каналов в обеспечении их ОИЭ.

Особенности инотропных эффектов флавоноидов и полифенола ЭГКГ. В следующей серии экспериментов были изучены инотропные эффекты флавоноидов (кверцетин, 3',4'-диметил кверцетин, рутин, (+)-катехин, апигенин, генкванин, пендулетин, ксантомикрол, лютеолин, пуликарин, куматакенин, цирзимаритин) и полифенола ЭГКГ. Эти исследования были начаты с характеристики эффектов кверцетина и рутина, фармакологические свойства которых достаточно хорошо изучены, и они широко используются для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний (Hirose et al., 1999; Obied et al., 2005). При этом показано, что кверцетин и рутин обладают двухфазным инотропным действием и при низких концентрациях они вызывают положительный инотропный эффект (ПИЭ), а при высоких, наоборот, ОИЭ. В частности, установлено, что кверцетин в диапазоне концентраций 5–100 мкМ увеличивает силу сокращения мышцы с максимумом при 100 мкМ, когда она возросла на $33,5 \pm 5,7\%$ от контрольного уровня (рис. 1,А). При высоких концентрациях (>100 мкМ) кверцетин, наоборот, подавлял силу сокращения мышцы, которая уменьшалась на $63,6 \pm 5,2\%$ от контроля, при его концентрации 300 мкМ (рис. 1,Б). В этих условиях значение IC_{50} , концентрация, при которой он вызывал полумаксимальный ингибирующий эффект, составляло 229 мкМ, а $pD_2(-\log IC_{50})$, отражающий его ингибиторную активность – 3,64. Аналогично,

рутин при концентрациях 100–200 мкМ увеличивал силу сокращения мышцы, максимально на $16,4 \pm 4,5\%$ при 200 мкМ, а при высоких (>200 мкМ) снижал её на $65,5 \pm 5,8\%$ при 300 мкМ. При этом его значения IC_{50} и $pD_2(-\log IC_{50})$ составляли 245,4 мкМ и 3,6 соответственно (рис. 1,Б).

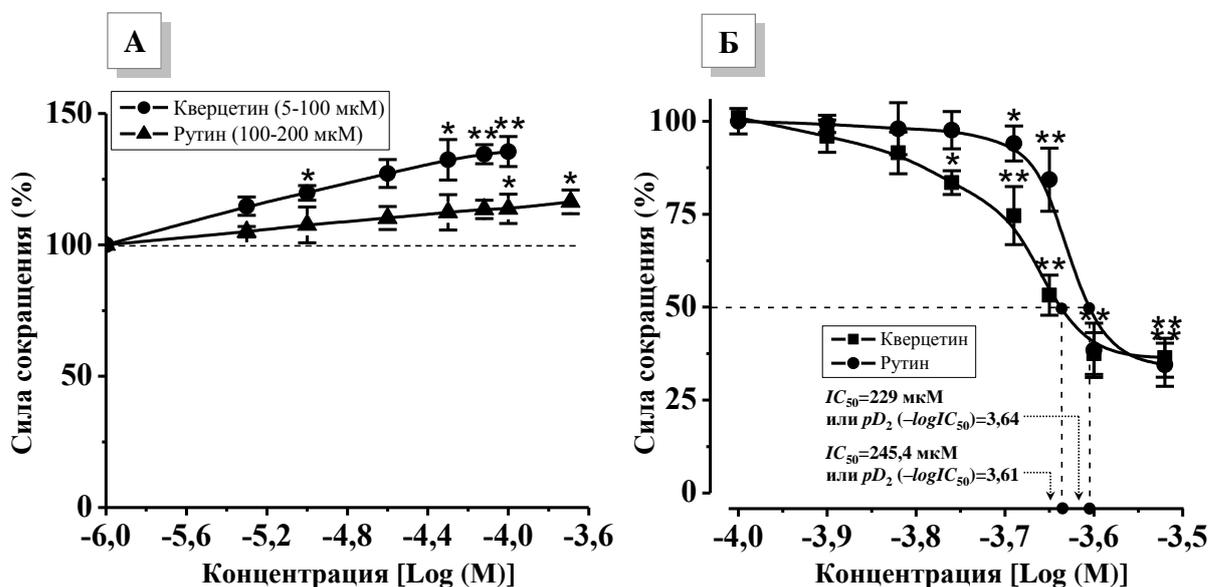


Рис. 1. Зависимость характера инотропного действия кверцетина и рутина от концентрации. А. Положительный инотропный эффект кверцетина и рутина. Б. Отрицательный инотропный эффект кверцетина и рутина. По оси ординат – сила сокращения папиллярной мышцы, выраженная в процентах от максимальной, принятой за 100%. По оси абсцисс – концентрация флавоноидов. Частота стимуляции 0,5 Гц ($t=+36 \pm 0,5^\circ\text{C}$); * – $p < 0,05$ и ** – $p < 0,01$, относительно контроля ($n=4-5$)

Двухфазный характер инотропного действия обнаружен также у генкванина, пендулетина и апигенина. При этом установлено, что из этой группы флавоноидов более выраженным ПИЭ обладает генкванин, в присутствии 10 мкМ которого сила сокращения мышцы возрастала на $46,2 \pm 4,78\%$ от контроля. При высоких концентрациях (>10 мкМ) генкванин, наоборот, подавлял силу сокращения мышцы, которая при его концентрации 100 мкМ снижалась на $56,7 \pm 5,4\%$ от контроля. В этих условиях его значения IC_{50} и $pD_2(-\log IC_{50})$ составляли 38,9 мкМ и 4,41 соответственно. Вместе с тем было обнаружено, что из этих флавоноидов наиболее выраженным ОИЭ обладает пендулетин, в присутствии 100 мкМ которого сила сокращения мышцы уменьшалась на $87,5 \pm 5,3\%$ от контрольного уровня. При этом его значения IC_{50} и $pD_2(-\log IC_{50})$ составляли 22,3 мкМ и 4,654 соответственно.

В процессе изучения инотропной активности 3',4'-диметил кверцетина, пуликарина и лютеолина было обнаружено, что эти флавоноиды, в основном, обладают только ПИЭ. При этом показано, что в присутствии 3',4'-диметил кверцетина (100 мкМ), лютеолина (50 мкМ) и пуликарина (25 мкМ) сила сокращения мышцы максимально возрастала на $67,31 \pm 5,2\%$, $57,6 \pm 5,8\%$ и $34,3 \pm 5,4\%$, соответственно. Аналогично, полифенол ЭГКГ также вызывал только ПИЭ, который при 150 мкМ максимально увеличивал силу сокращения мышцы на $67,5 \pm 6,2\%$.

При изучении эффектов ксантомикрола, (+)-катехина и куматакенина было обнаружено, что эти флавоноиды обладают только ОИЭ, который был наиболее выражен у ксантомикрола, в присутствии 100 мкМ которого сила сокращения мышцы снижалась на $84,9 \pm 6,6\%$ от контрольного уровня.

Анализ полученных данных показал, что исследованные фенольные соединения обладают выраженным инотропным действием и специфически модулируют сократительную активность сердечной мышцы. При этом установлено, что фенолы, подавляя сократительную активность сердечной мышцы, в основном обладают только ОИЭ. В отличие от фенолов инотропные эффекты исследованных флавоноидов имеют доза-зависимый характер и в зависимости от концентрации могут увеличивать или подавлять силу сокращения мышцы, проявляя ПИЭ или ОИЭ (кверцетин, рутин, апигенин, пендулетин и генкванин), либо обладают только ПИЭ (3',4'-диметил кверцетин, пуликарин и лютеолин), либо только ОИЭ ((+)-катехин, куматакенин, ксантомикрол и цирзимаритин). Полифенольное соединение ЭГКГ в широком диапазоне концентраций проявлял только ПИЭ.

Механизмы инотропного действия флавоноидов. Инотропные эффекты большинства фармакологических агентов обусловлены изменением уровня $[Ca^{2+}]_{in}$, которое обеспечивается благодаря модуляции ими функции различных Ca^{2+} -транспортирующих систем кардиомиоцитов (Bers, 2000). При этом показано, что действие положительных инотропов реализуется в результате увеличения уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах, в то время как при действии отрицательных инотропов, наоборот, происходит его снижение.

Механизм положительного инотропного действия флавоноидов. Увеличение уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах, характерное при действии большинства положительных инотропов, в основном, обеспечивается благодаря активации сигнального каскада $\beta-AP \rightarrow A\zeta \rightarrow [цАМФ]_{in} \rightarrow ПКА$, которая способствует мобилизации ионов Ca^{2+} и усилению силы сокращения сердечной мышцы (Schwinger et al., 2000; Heubach et al., 2002). Учитывая это для выяснения механизма, лежащего в основе ПИЭ исследуемых флавоноидов, были изучены их эффекты в условиях блокады $\beta-AP$ пропранололом. При этом обнаружено, что в присутствии пропранолола (10 мкМ) потенцирующий эффект кверцетина (100 мкМ) на силу сокращения мышцы уменьшался от контрольного уровня, составляющего $33,5 \pm 5,7\%$, до $22,8 \pm 6,4\%$ (рис. 2,А). Аналогично, но в разной степени в присутствии пропранолола снижался ПИЭ и других исследованных флавоноидов. При этом блокада $\beta-AP$ в меньшей степени сказывалась на эффекте 3',4'-диметил кверцетина, который снижался от $67,3 \pm 5,2\%$ до $61,2 \pm 3,9\%$ (рис. 2.А). Эти результаты указывают на то, что в реализации ПИЭ исследованных флавоноидов ведущую роль может играть активация сигнального каскада $\beta-AP \rightarrow A\zeta \rightarrow цАМФ \rightarrow ПКА$, которая обеспечивает увеличение уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах за счет их поступления через Ca^{2+}_L -каналы. Для проверки этого предположения были изучены ПИЭ флавоноидов в условиях блокады Ca^{2+}_L -каналов нифедипином. При этом обнаружено, что блокада Ca^{2+}_L -каналов в разной степени сказывается на

ПИЭ флавоноидов. В частности, установлено, что в присутствии нифедипина (0,01 мкМ) потенцирующий эффект кверцетина (100 мкМ) снижается от $33,5 \pm 5,7\%$ до $17,1 \pm 4,5\%$ (рис. 2,Б). Аналогично, в присутствии нифедипина (0,01 мкМ) потенцирующие эффекты генкванина и лютеолина, снижались от $46,2 \pm 4,78\%$ и $57,6 \pm 5,8\%$ до $14,7 \pm 4,7\%$ и $12,6 \pm 3,2\%$, соответственно. В меньшей степени блокада $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов нифедипином сказывалась на эффекте 3',4'-диметил кверцетина, который в этих условиях снижался от $67,3 \pm 5,2\%$, до $63,7 \pm 3,6\%$ (рис. 2,Б).

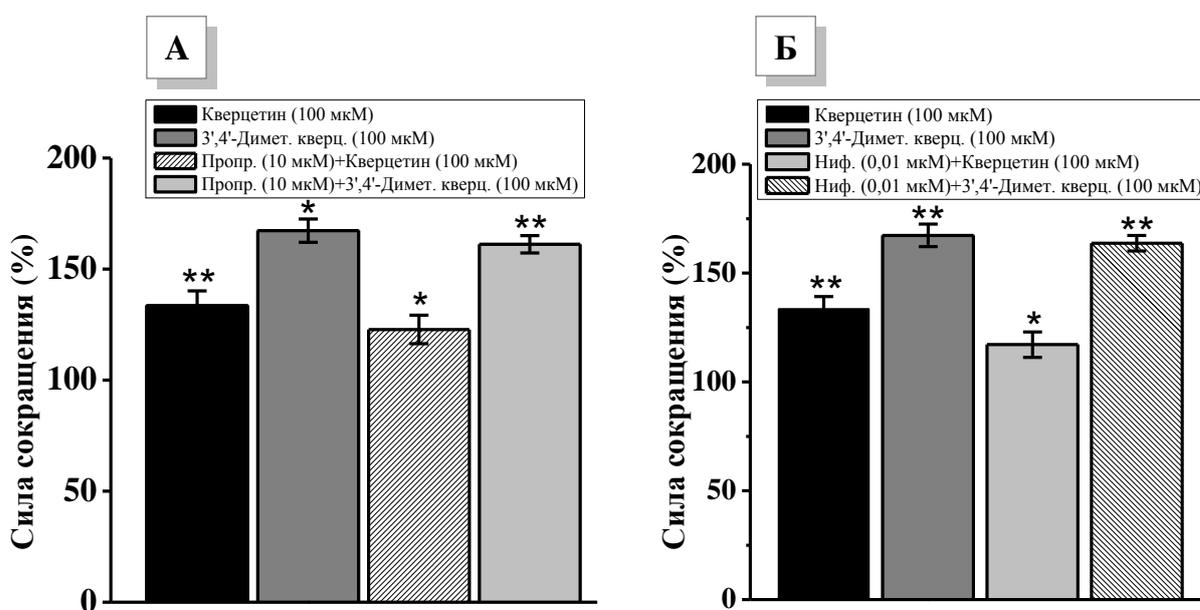


Рис.2. Влияние блокаторов β -адренорецептора пропранолола (А) и $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов нифедипина (Б) на положительный инотропный эффект кверцетина и 3',4'-диметил кверцетина. По оси ординат – сила сокращения папиллярной мышцы, выраженная в процентах, от максимальной, принятой за 100%. Частота стимуляции 0,5 Гц ($t=+36 \pm 0,5^\circ\text{C}$). * – $p < 0,05$ и ** – $p < 0,01$, относительно контроля ($n=4-5$)

Анализ этих результатов показал, что ПИЭ исследованных флавоноидов обусловлен увеличением уровня $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ кардиомиоцитах, которое в основном обеспечивается благодаря активации сигнального каскада $\beta\text{-AP} \rightarrow \text{AC} \rightarrow \text{цАМФ} \rightarrow \text{PKA}$ и $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов. Однако, неполное подавление ПИЭ некоторых флавоноидов, в условиях блокады $\beta\text{-AP}$ или $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов, может указывать на участие в их обеспечении других Ca^{2+} -транспортирующих систем кардиомиоцитов, в частности $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника. $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник играет важную роль в регуляции уровня $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ в кардиомиоцитах и непосредственно участвует в обеспечении ПИЭ сердечных гликозидов (Noyer et al., 2011; Wang et al., 2013). Этот эффект сердечных гликозидов обусловлен ингибированием Na^+/K^+ -АТФазы, которое сопровождается накоплением ионов Na^+ и активацией обращенного режима работы $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника, который обеспечивает поступление ионов Ca^{2+} в кардиомиоциты. Принимая во внимание тот факт, что флавоноиды также способны ингибировать Na^+/K^+ -АТФазу (Umarova et al., 1998), было изучено их

взаимодействие с сердечным гликозидом дигоксином. При этом обнаружено, что на фоне максимально эффективной концентрации дигоксина (3 мкМ), когда сила сокращения мышцы возрастала на $187,4 \pm 6,7\%$, флавоноиды генкванин и лютеолин не вызывали её дополнительного увеличения. Однако, в присутствии 1 мкМ дигоксина (концентрации соответствующей его значению EC_{50}), генкванин и лютеолин сохраняли способность увеличивать силу сокращения мышцы, которая возрастала на $25,5 \pm 4,3\%$ и $43,4 \pm 5,7\%$, соответственно. Из этих результатов следует, что в присутствии насыщающей концентрации дигоксина, когда активность Na^+/K^+ -АТФазы подавлена полностью, генкванин и лютеолин не могут вызывать ПИЭ, но в условиях её частичного подавления сохраняют эту способность, но в меньшей степени. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что ПИЭ генкванина и лютеолина в основном обеспечивается благодаря ингибированию Na^+/K^+ -АТФазы и накоплению ионов Na^+ в кардиомиоцитах, способствующих активации обращенного режима работы Na^+/Ca^{2+} -обменника и поступлению ионов Ca^{2+} в кардиомиоциты.

Таким образом, результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что ПИЭ исследованных флавоноидов, в основном, обусловлен увеличением уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах, которое может обеспечиваться благодаря активации β -АР \rightarrow АЦ \rightarrow $[cAMF]_{in} \rightarrow$ ПКА, Ca^{2+}_L -каналов и ингибированию Na^+/K^+ -АТФазы.

Механизм положительного инотропного действия ЭГКГ. При изучении особенностей ПИЭ ЭГКГ обнаружено, что этот эффект полифенола, в отличие от такового исследованных флавоноидов, в меньшей степени связан с активацией сигнального каскада β -АР \rightarrow АЦ \rightarrow $[cAMF]_{in} \rightarrow$ ПКА и Ca^{2+}_L -каналов. Действительно, было установлено, что блокада β -АР пропранололом и Ca^{2+}_L -каналов нифедипином, существенно не сказывалась на ПИЭ полифенола, что свидетельствует о том, что он не связан с ионами Ca^{2+} , поступающими через Ca^{2+}_L -каналы, а в основном обеспечивается за счет других источников ионов Ca^{2+} .

В связи с этим для выяснения природы ионов Ca^{2+} , участвующих в обеспечении ПИЭ полифенола, было изучено его влияние на *пост-рест потенцию* (ПРП) – феномен, характерный для сердечной мышцы, который широко используется для оценки состояния процессов, участвующих в загрузке и высвобождении ионов Ca^{2+} в СР (Bers and Christensen, 1990; Bassani et al., 1994; Maier et al., 2000). При этом показано, что в обеспечении ПРП в основном участвуют ионы Ca^{2+} , дополнительно накопленные в СР, за время периода покоя, количество которых в СР значительно больше, чем при регулярной стимуляции мышцы (Bers et al., 1993). В контрольных экспериментах, после 30 сек покоя, амплитуда сокращения папиллярной мышцы возрастала на $44,97 \pm 4,3\%$ от стационарного уровня, принятого за 100% (рис. 3,А). При этом обнаружено, что в присутствии ЭГКГ (150 мкМ) уровень ПРП дополнительно возрастает на $18,2 \pm 3,4\%$ от контрольного уровня (рис. 3,А). Эти результаты указывают на то, что в присутствии ЭГКГ происходит дополнительное накопление

ионов Ca^{2+} в СР, высвобождение которых обеспечивает прирост силы сокращения мышцы. О влиянии ЭГКГ на содержание ионов Ca^{2+} в СР, также свидетельствуют результаты экспериментов, выполненных в условиях резкого охлаждения среды инкубации от $+37^\circ\text{C}$ до $+4^\circ\text{C}$, в которых развивается фазное сокращение, обусловленное активацией высвобождения ионов Ca^{2+} из СР через RyR2 (Hasenfuss et al., 2002; Von Lewinski et al., 2005). При этом обнаружено, что в присутствии ЭГКГ (150 мкМ) амплитуда сокращения, вызванного резким охлаждением среды, дополнительно возрастает на $20,7 \pm 2,5\%$ (рис. 3,Б).

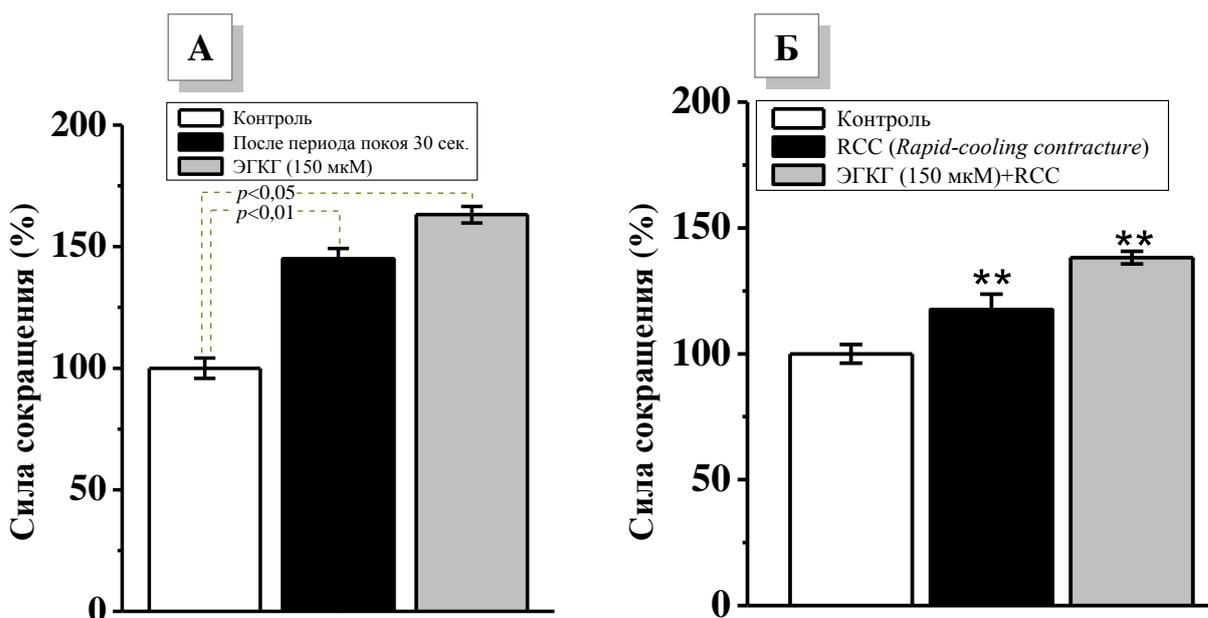


Рис. 3. Влияние ЭГКГ на пост-рест потенциацию (А) и сокращение папиллярной мышцы, индуцируемые резким охлаждением препарата (Б). А. Частота стимуляции 0,5 Гц, период покоя 30 сек. Б. Градиент температуры от $+37$ до $+4^\circ\text{C}$. По оси ординат – сила сокращения мышцы, выраженная в процентах по отношению к максимальной (А) и к контролю, полученного при охлаждении препарата (Б), принятых за 100%. * – $p < 0,05$ и ** – $p < 0,01$, относительно контроля ($n=3-4$)

Это увеличение амплитуды сокращения, индуцированного резким охлаждением среды, в присутствии ЭГКГ, свидетельствует об обеспечении полифенолом усиления процесса загрузки ионов Ca^{2+} в СР. Это находит дополнительное подтверждение в экспериментах с кофеином, который в условиях отсутствия стимуляции индуцирует одиночное сокращение мышцы, которое обеспечивается благодаря активации высвобождения ионов Ca^{2+} из СР через RyR2 (Bouchard, 1990; Dibb et al., 2007). В этих экспериментах обнаружено, что в присутствии ЭГКГ (150 мкМ) сила сокращения мышцы, индуцированного кофеином (20 мМ), дополнительно возрастает на $23,7 \pm 4,4\%$. При этом установлено, что этот эффект ЭГКГ заметно снижается в присутствии тетракаина (50 мкМ), что указывает на участие RyR2 в обеспечении его ПИЭ. Вместе с тем обнаружено, что при совместном действии тетракаина и ионов Ni^{2+} (10 мМ) эффект ЭГКГ на

кофеин–индуцированные сокращения мышцы подавляются полностью. Учитывая то, что в присутствии ионов Ni^{2+} подавляется функция Na^+/Ca^{2+} –обменника, который принимает непосредственное участие в процессе загрузки ионов Ca^{2+} в СР (Blaustein and Lederer, 1999) эти результаты служат дополнительным подтверждением активации этого процесса полифенолом.

Таким образом, результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что ПИЭ полифенола обусловлен увеличением уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах, которое, в основном, обеспечивается благодаря активации процессов загрузки и высвобождения ионов Ca^{2+} в СР. Участие в этих процессах Na^+/K^+ –АТФазы, Na^+/Ca^{2+} –обменника и RyR2 подтверждает подавление ПИЭ полифенола в присутствии дигоксина, тетракаина и ионов Ni^{2+} .

В целом, результаты этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что ПИЭ исследованных флавоноидов и полифенола ЭГКГ, в основном, обусловлены увеличением уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах, в обеспечении которых принимают участие β –АР→АЦ→[цАМФ] $_{in}$ →ПКА, Ca^{2+}_L –каналы, Na^+/K^+ –АТФаза, Na^+/Ca^{2+} –обменник и RyR2.

Механизм отрицательного инотропного действия флавоноидов. Сократительная активность сердечной мышцы определяется уровнем $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах и заметно подавляется при его снижении, происходящим в результате нарушения функции различных Ca^{2+} –транспортирующих систем (Bers, 2000). В частности, установлено, что эффекты большинства отрицательных инотропов, в основном, обеспечиваются благодаря подавлению поступления ионов Ca^{2+} в кардиомиоциты через Ca^{2+}_L –каналы сарколеммы (Housmans et al., 1995; Kihara et al., 1996). В связи с этим для выяснения механизма ОИЭ флавоноидов была изучена его зависимость от концентрации ионов Ca^{2+} в среде инкубации. При этом обнаружено, что уменьшение концентрации ионов Ca^{2+} в среде инкубации, сопровождалась снижением ОИЭ флавоноидов. Эти результаты указывают на то, что ОИЭ флавоноидов может обеспечиваться благодаря подавлению поступления ионов Ca^{2+} в кардиомиоциты через Ca^{2+}_L –каналы. Для проверки этого были изучены эффекты флавоноидов в присутствии блокатора Ca^{2+}_L –каналов – нифедипина. При этом обнаружено, что в условиях частичной блокады Ca^{2+}_L –каналов 0,01 мкМ нифедипином (концентрации, соответствующей его значению IC_{50}) (+)–катехин, ксантомикрол, куматакенин и генкванин в равноэффективных концентрациях (IC_{50}), дополнительно снижали силу сокращения папиллярной мышцы на 12,8, 14,6, 15,3 и 16,3% соответственно (рис. 4,А). В аналогичных условиях в присутствии рутина, апигенина и цирзимаритина сила сокращения папиллярной мышцы снижалась на 6,4, 4,6 и 2,5% соответственно. При этом на фоне максимально эффективной концентрации нифедипина (1 мкМ) этот эффект флавоноидов не наблюдался. Эти результаты указывают на то, что ОИЭ рутина, апигенина и цирзимаритина, в основном, обусловлен блокадой Ca^{2+}_L –каналов, сопровождаемой снижением уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах. Аналогичные данные, свидетельствующие о ведущей роли блокады Ca^{2+}_L –каналов в

обеспечении ОИЭ флавоноидов, получены рядом авторов (Fusi et al., 2005; Mann et al., 2007; Alvarez–Collazo et al., 2014). Однако, частичное сохранение ОИЭ (+)–катехина, ксантомикрола, куматакенина и генкванина в присутствии 0,01 мкМ нифедипина свидетельствует об участии в их обеспечении дополнительных механизмов, несвязанных с $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналами. При этом определенную роль может играть сигнальная система оксида азота (NO), которая, модулируя активность $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов и $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ -обменника сарколеммы, а также RyR2 и Ca^{2+} -АТФазы СР, непосредственно участвует в регуляции уровня $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ в кардиомиоцитах (Brady et al., 1993; Barouch et al., 2002; Schulz et al., 2004). Эти эффекты сигнальной системы NO лежат в основе кардиопротекторного действия большинства флавоноидов, благодаря которым обеспечивается нормализация Ca^{2+} -зависимых процессов в кардиомиоцитах и оптимизация сократительной активности сердечной мышцы (Barouch et al., 2002; Heiss et al., 2010).

В связи с этим для оценки роли сигнальной системы NO в обеспечении ОИЭ исследуемых флавоноидов были изучены их эффекты в условиях подавления функции синтазы оксида азота (eNOS) и гуанилатциклазы (ГЦ) их специфическими ингибиторами – L-NAME и метиленовым синим (МС). При этом обнаружено, что в присутствии L-NAME (100 мкМ) или МС (50 мкМ), эффект генкванина (100 мкМ) на силу сокращения мышцы снижался от $56,7 \pm 5,4\%$ до $15,4 \pm 4,8\%$ и $24,1 \pm 3,6\%$ соответственно, а при их одновременном использовании до $4,8 \pm 3,6\%$ (рис. 4,Б).

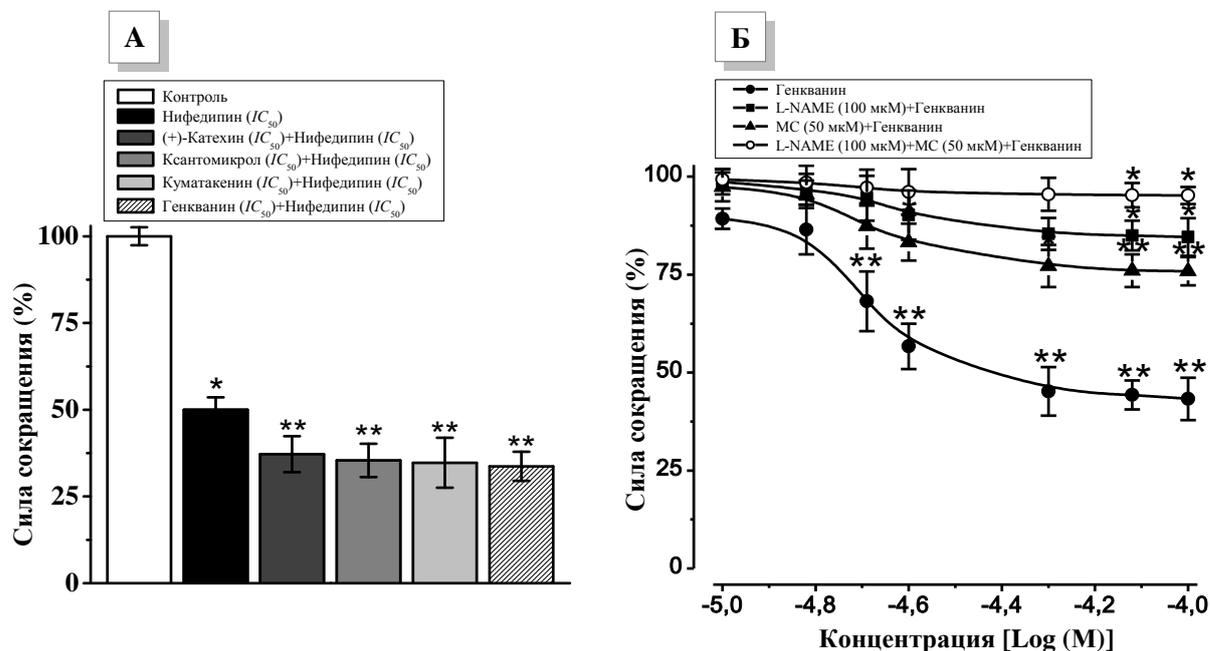


Рис. 4. Влияние блокатора $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов нифедипина (А) и ингибиторов синтазы оксида азота– L-NAME и гуанилатциклазы – МС (Б) на отрицательный инотропный эффект флавоноидов. По оси ординат – сила сокращения папиллярной мышцы, выраженная в процентах от максимальной, принятой за 100%. Б. По оси ординат – концентрация генкванина. Частота стимуляции 0,5 Гц ($t=+36 \pm 0,5^\circ\text{C}$); * – $p < 0,05$ и ** – $p < 0,01$, относительно контроля ($n=3-4$)

Эти результаты свидетельствуют о том, что в реализации ОИЭ исследованных флавоноидов, наряду с непосредственной блокадой Ca^{2+}_L -каналов, важную роль также может играть система NO, активация которой обеспечивает уменьшение уровня $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах и снижение сократительной активности сердечной мышцы.

Зависимость инотропных эффектов флавоноидов от их структуры. Анализ зависимости инотропных эффектов исследованных флавоноидов от структуры показал, что важную роль в их обеспечении играют количество и положение –ОН групп, двойная связь между атомами С(2) и С(3), в сочетании с α - и β -кетогруппами в С-кольце, а также наличие метоксильных (–OCH₃) или гликозидных групп (рис. 5).

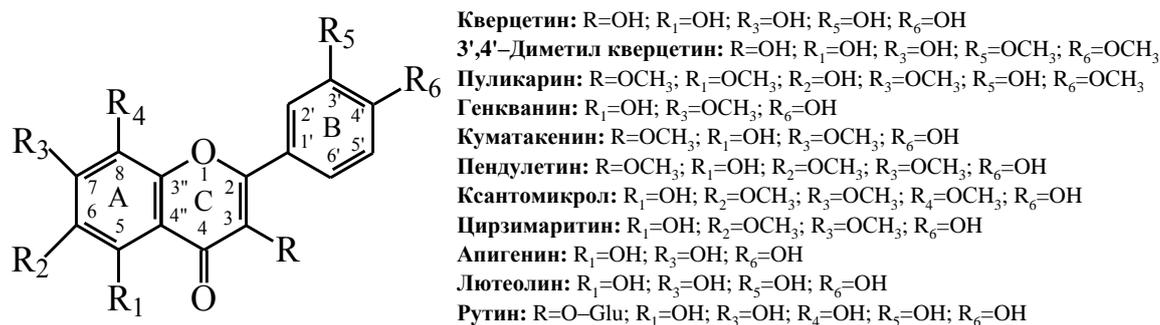


Рис. 5. Химическая структура флавоноидов.

При этом установлено, что снижение ПИЭ исследованных флавоноидов в ряду лютеолин>генкванин>пуликарин>кверцетин>апигенин>пендулетин >рутин совпадает с уменьшением числа –ОН групп в их молекуле. В частности, лютеолин, обладающий наиболее выраженным ПИЭ, содержит четыре –ОН группы в положениях С(5), С(7), С(3') и С(4'), в то время как апигенин, располагающийся в середине ряда, содержит три –ОН группы в положениях С(5), С(7) и С(4'). Менее выраженным ПИЭ обладает рутин, что, по-видимому, связано с наличием в положении С(3) его структуры гликозидной группы вместо –ОН группы. Результаты этого анализа хорошо согласуются с литературными данными, в которых показано, что –ОН группа в положении С(4'), наряду с α - и β -кетогруппами в С-кольце, играют важную роль в обеспечении ПИЭ большинства флавоноидов (Itoigawa et al., 1999). Аналогичный анализ зависимости ОИЭ исследованных флавоноидов от их структуры показал, что важную роль в его обеспечении играет содержание –OCH₃ группы в их молекуле, уменьшение числа которых сопровождается его снижением в ряду пендулетин>ксантомикрол>куматакенин>апигенин>рутин. Так пендулетин, обладающий наиболее выраженным ОИЭ, содержит три –OCH₃ группы в положениях С(3), С(6), С(7), а апигенин и рутин, которые обладают наименьшим ОИЭ, вообще не содержат этих групп. Вместе с тем, введение гликозидных групп в структуру флавоноидов также способствует усилению их ОИЭ.

Таким образом, из проведенного анализа следует, что важную роль в обеспечении ПИЭ флавоноидов играет наличие –ОН групп у атомов С(3') и С(4') в В–кольце, двойной связи между атомами С(2) и С(3) и α - и β -кетогруппы в С–кольце. Вместе с тем, для флавоноидов, обладающих ОИЭ, характерно присутствие –ОСН₃ в А– и В–кольце, количество которых определяет уровень их эффекта.

Антиаритмическая активность флавоноидов. Флавоноиды обладают эффективным кардиопротекторным действием и широко используются для профилактики и лечения различных патологий сердца (Testai et al., 2015). Этот эффект флавоноидов, в основном, обусловлен их антиоксидантной активностью, благодаря которой обеспечивается нейтрализация активных форм кислорода, подавление свободнорадикальных процессов и торможение развития окислительного стресса (Ruijters et al., 2013). Вместе с тем установлено, что важную роль в обеспечении протекторного эффекта флавоноидов играет сигнальная система NO, активация которой обеспечивает снижение уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах и оптимизацию сократительной активности сердечной мышцы (Rubbo et al., 1994; Hare and Comeford, 1995). При этом показано, что система NO также играет важную роль в обеспечении антиаритмического действия флавоноидов особенно в условиях ишемии/гипоксии (Antzelevitch et al., 2004).

В связи с этим для оценки антиаритмической активности исследуемых флавоноидов были изучены их эффекты на модели сердечной аритмии, индуцируемой аконитином, который обладает выраженным аритмогенным действием (Catterall, 2000; Wright, 2002; Kneller et al., 2005). В основе этого эффекта аконитина лежит нарушение механизма инактивации Na⁺-каналов, сопровождаемое увеличением уровня $[Na^+]_{in}$ и активацией Na⁺/Ca²⁺-обменника, который, обеспечивая накопление ионов Ca²⁺ в кардиомиоцитах, способствует спонтанному высвобождению ионов Ca²⁺ из СР и нарушению сердечного ритма (Watano et al., 1999; Roden et al., 2002).

При изучении эффектов исследуемых флавоноидов на аконитиновой модели аритмии было обнаружено, что некоторые из них обладают достаточно выраженным антиаритмическим действием и заметно снижают частоту спонтанных сокращений папиллярной мышцы, индуцируемых аконитином. При этом установлено, что в присутствии (+)-катехина, рутина, 3',4'-диметил кверцетина, генкванина и кверцетина частота спонтанных сокращений мышцы, индуцированных аконитином (1 мкМ), снижается от 264±14 до 87±32, 84±18, 73±16, 43±12 и 32±14 сокращений в минуту, соответственно. Как видно из этих результатов, наиболее выраженным антиаритмическим действием обладают кверцетин и генкванин, которые, по сравнению с другими флавоноидами, более эффективно предотвращали развитие аконитин-индуцированных спонтанных сокращений мышцы. В обеспечении антиаритмического эффекта кверцетина ведущую роль играет его антиоксидантная активность, благодаря которой он, ограничивая развитие окислительного стресса и предотвращая Ca²⁺ перегрузку, способствует оптимизации уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах и нормализации

сократительной активности сердечной мышцы (Miller, 1996; Tsutsui et al., 2011). Однако, анализ полученных данных показал, что инотропная активность флавоноидов также может вносить определенный вклад в обеспечении их антиаритмического действия. В частности, высокая антиаритмическая активность кверцетина и генкванина, по сравнению с другими исследованными флавоноидами, может обеспечиваться благодаря их выраженному ПИЭ. Однако, антиаритмическая активность 3',4'-диметил кверцетина, который обладает более выраженным ПИЭ, но не проявляет ОИЭ, была существенно ниже, чем у кверцетина и генкванина. Вместе с тем антиаритмическая активность (+)-катехина, который обладает наиболее выраженным ОИЭ, но не проявляет ПИЭ, также была намного ниже, чем у кверцетина и генкванина. Это данные могут свидетельствовать о том, что в обеспечении антиаритмического действия флавоноидов, наряду с их антиоксидантной активностью, определенный вклад также может вносить их инотропная активность. В частности, наличие у кверцетина и генкванина, наряду с отрицательной, положительной инотропной активности, может свидетельствовать об их важной роли в обеспечении их более выраженного антиаритмического действия.

Инотропная активность дитерпеновых алкалоидов ликоктонинового типа. В Институте химии растительных веществ (Узбекистан) на протяжении многих лет ведутся широкомасштабные исследования, направленные на создание антиаритмических средств на основе дитерпеновых алкалоидов, выделенных из растений родов *Aconitum* L. и *Delphinium* L. (сем. *Ranunculaceae*). В частности, на основе алкалоидов аконитинового типа из растений *Aconitum* L. получен ряд соединений (аллапинин, дезацетиллапаконитин, бензоилгетератизин и азопелин), обладающие уникальным антиаритмическим действием (Джахангиров и др., 2001; Салимов, 2007; Юнусов, 2014). Антиаритмический эффект этих алкалоидов реализуется благодаря блокаде Na^+ -каналов кардиомиоцитов, которая способствует снижению скорости развития потенциала действия, замедлению его распространения и подавлению возбудимости проводящей системы сердца. Однако, блокада Na^+ -каналов этими алкалоидами также сопровождается снижением сократительной активности миокарда, что является нежелательным побочным эффектом, наличие которого ограничивает их широкое применение для лечения некоторых типов аритмий (Gutser and Gleitz, 1998; Hao et al., 2013; Borcsa et al., 2014).

Из растений рода *Delphinium* L. выделено большое количество дитерпеновых алкалоидов ликоктонинового типа, которые также представляют большой интерес для создания новых антиаритмических средств. Однако, механизм, лежащий в основе антиаритмического действия этих алкалоидов, и, что особенно важно, особенности их инотропной активности, не были изучены, что не позволяет прогнозировать их перспективность для создания новых эффективных средств профилактики и лечения сердечных аритмий.

В связи с этим одной из задач данной диссертации было изучение особенностей инотропных эффектов алкалоидов ликоктонинового типа (делькорин, делькоринин, делькозин и аяцин) и роли Ca^{2+} -зависимых процессов в их обеспечении. В процессе исследования эффектов этих алкалоидов было обнаружено, что они обладают достаточно выраженной инотропной активностью. При этом установлено, что алкалоиды делькозин и аяцин обладают двухфазным инотропным эффектом и при низких концентрациях (1–10 мкМ) увеличивают силу сокращения мышцы на $22,5 \pm 3,5\%$ и $17,7 \pm 4,1\%$, а при высоких (>10 мкМ) подавляют её на $42,4 \pm 4,7\%$ и $34,9 \pm 4,3\%$ соответственно (рис. 6.А,Б). В отличие от этих алкалоидов, делькорин и делькоринин, в широком диапазоне концентраций (1–100 мкМ), в основном, подавляли силу сокращения мышцы на $82,2 \pm 4,2\%$ и $74,8 \pm 6,3\%$ соответственно (рис. 6.Б).

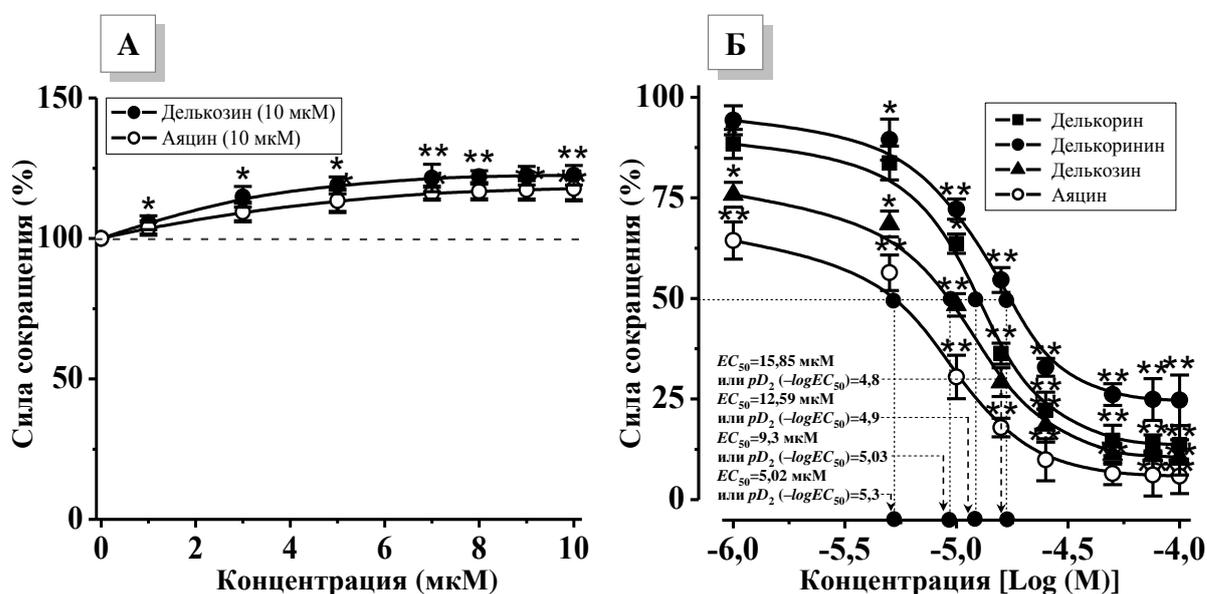


Рис. 6. Зависимость инотропных эффектов дитерпеновых алкалоидов от концентрации. А. Положительный инотропный эффект делькозина и аяцина. Б. Отрицательный инотропный эффект дитерпеновых алкалоидов. По оси ординат – сила сокращения папиллярной мышцы, выраженная в процентах от максимальной, принятой за 100%. По оси абсцисс – концентрация алкалоидов. Частота стимуляции 0,5 Гц ($t=+36 \pm 0,5^\circ\text{C}$). * – $p < 0,05$ и ** – $p < 0,01$, относительно контроля ($n=3-5$)

Эти результаты свидетельствуют о том, что инотропная активность алкалоидов имеет доза-зависимый характер и в зависимости от концентрации они могут проявлять ПИЭ и ОИЭ (делькозин, аяцин), либо только ОИЭ (делькорин, делькоринин). Вместе с тем обнаружено, что эффекты делькозина и аяцина также зависят от частоты стимуляции и при частотах стимуляции >1 Гц они вызывали только ОИЭ, максимально подавляя силу сокращения мышцы на $89,5 \pm 4,4\%$ и $94,2 \pm 4,3\%$, соответственно, при 4 Гц. В аналогичных экспериментах с делькорином и делькоринином частота стимуляции существенно не влияла на их ОИЭ.

Зависимость инотропных эффектов делькозина и аяцина от частоты стимуляции свидетельствует о том, что они могут обеспечиваться благодаря их влиянию на транспорт ионов Ca^{2+} через $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналы сарколеммы или их высвобождения из СР кардиомиоцитов. Это предположение основано на том, что сокращения сердечной мышцы при низких частотах (до 1 Гц), в основном, обеспечиваются ионами Ca^{2+} , высвобождаемыми из СР, а при высоких – поступающими через $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналы сарколеммы (Tang et al., 1996; Layland and Kenitsh, 1999; Bers, 2001).

Механизм отрицательного инотропного действия дитерпеновых алкалоидов ликоктониного типа. Выше отмечалось, что эффекты отрицательных инотропов, в основном, обеспечиваются благодаря подавлению поступления ионов Ca^{2+} в кардиомиоциты через $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналы сарколеммы (Kihara et al., 1996; Bers, 2000). В связи с этим, для выяснения механизма, лежащего в основе ОИЭ исследуемых алкалоидов, были изучены их эффекты в условиях блокады $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов нифедипином. В этих экспериментах обнаружено, что в присутствии нифедипина ОИЭ алкалоидов существенно снижается и при его максимально эффективной концентрации (1 мкМ) не наблюдался. При этом установлено, что в присутствии 0,01 мкМ нифедипина, концентрации соответствующей его значению IC_{50} , делькорин, делькоринин, аяцин и делькозин (IC_{50}) снижали силу сокращения папиллярной мышцы всего на $5,8 \pm 3,4\%$, $9,3 \pm 3,8\%$, $14,2 \pm 4,2\%$ и $8,4 \pm 5,1\%$ соответственно. Эти результаты указывают на то, что в условиях, когда часть $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов заблокирована нифедипином ОИЭ исследуемых алкалоидов сохраняется, но реализуется неполностью. Вместе с тем установлено, что ОИЭ этих алкалоидов зависит от концентрации ионов $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{out}}$ в среде инкубации и заметно снижался при её уменьшении. В совокупности эти результаты свидетельствуют о том, что ОИЭ исследуемых алкалоидов, в основном, обусловлен снижением уровня $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ в кардиомиоцитах, которое обеспечивается благодаря подавлению ими поступления ионов Ca^{2+} через $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналы сарколеммы.

Состояние $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов контролируется мембранным потенциалом (МП) и их активация при смещении МП от -90 до -20 мВ, обеспечиваемого входящим Na^+ током в процессе развития потенциала действия (ПД), способствует поступлению ионов Ca^{2+} в кардиомиоциты (Bers, 2000). Такая модуляция активности $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов мембранным потенциалом лежит в основе ОИЭ антиаритмических средств 1А класса, эффекты которых в основном обеспечиваются блокаде Na^+ -каналов (Nawada et al., 1994; Neubach and Schule, 1998). При этом установлено, что блокада Na^+ -каналов этими агентами сопровождается снижением скорости развития восходящей фазы ПД (V_{max}), уменьшением его амплитуды и длительности. Снижение этих параметров ПД, в свою очередь, ограничивает развитие деполяризации и активацию $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов, что способствует подавлению поступления ионов Ca^{2+} в кардиомиоциты и сократительной активности сердечной мышцы. Учитывая это, для оценки роли Na^+ -каналов в обеспечении отрицательного инотропного действия исследуемых алкалоидов

были изучены их эффекты на параметры ПД папиллярной мышцы сердца крысы. В этих экспериментах обнаружено, что в присутствии делькорина, делькоринина, аяцина и делькозина амплитуда ПД снижается от контрольного уровня $103,17 \pm 4,5$ мВ до $85,8 \pm 6,6$ мВ, $84,6 \pm 4,2$ мВ, $87,02 \pm 5,1$ мВ и $72,5 \pm 4,7$ мВ соответственно. При этом установлено, что этот эффект алкалоидов также сопровождается уменьшением длительности ПД, которая на уровне 50% реполяризации (PD_{50}) в присутствии делькорина, делькоринина, делькозина и аяцина уменьшалась от контрольного значения $51,3 \pm 1,6$ мс до $38,9 \pm 4,2$ мс, $22,3 \pm 5,1$ мс, $30,3 \pm 3,8$ мс и $21,4 \pm 2,5$ мс соответственно. Эти эффекты алкалоидов на примере аяцина представлены на рис. 7.

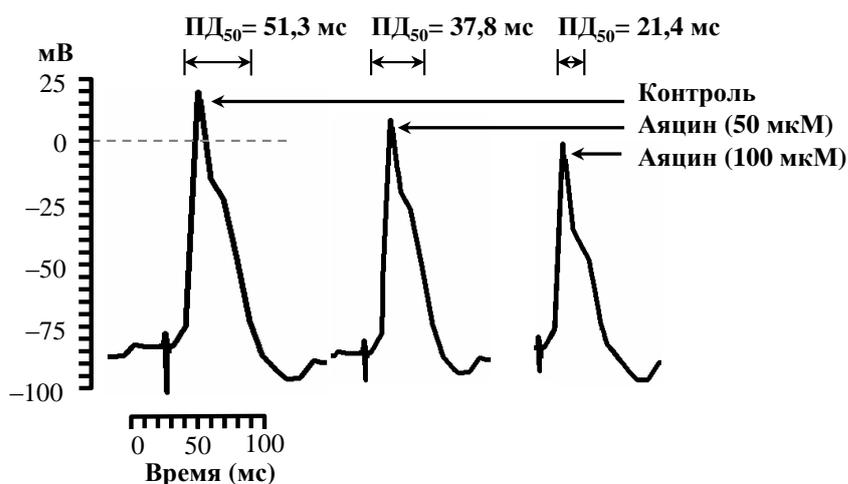


Рис. 7. Действие дитерпенового алкалоида аяцина на параметры потенциала действия папиллярной мышцы сердца крысы. Оригинальные записи потенциала действия в присутствии 50 и 100 мкМ аяцина. Частота стимуляции 1 Гц ($t = +36 \pm 0,5^\circ\text{C}$).

Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что подавление амплитуды ПД папиллярной мышцы, вызываемое исследуемыми алкалоидами, в основном, обусловлено блокадой Na^+ -каналов кардиомиоцитов, входящие токи через которые (I_{Na}) определяют скорость развития восходящей фазы ПД, его амплитуду и длительность (Bers, 2000).

Отсюда следует, что блокируя Na^+ -каналы и ограничивая развитие деполяризации, эти алкалоиды способствуют инактивации $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов и сокращению длительности «кальциевого окна» – времени, в течении которого они транспортируют ионы Ca^{2+} в кардиомиоциты (January et al., 1991). На основании этих данных можно заключить, что в обеспечении ОИЭ исследованных алкалоидов ключевую роль играет блокада Na^+ -каналов, сопровождаемая снижением уровня деполяризации и инактивацией $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналов, что способствует подавлению поступления ионов Ca^{2+} в кардиомиоциты и сократительной активности сердечной мышцы.

Механизм положительного инотропного действия алкалоидов делькозина и аяцина. В связи с тем, что ПИЭ делькозина и аяцина наблюдался только при низких частотах стимуляции (0,1–1 Гц) в условиях, в которых сокращения сердечной мышцы обеспечиваются, в основном, ионами

Ca^{2+} высвобождаемым из СР, было изучено их влияние на ПРП папиллярной мышцы. При этом обнаружено, что в присутствии делькозина и аяцина (10 мкМ) уровень ПРП дополнительно возрастает на $29,9 \pm 5,7\%$ и $19,8 \pm 3,4\%$, от контрольной величины, соответственно (рис. 8,А). Учитывая то, что в формировании ПРП участвуют ионы Ca^{2+} , накопленные в СР за время периода покоя, этот эффект алкалоидов свидетельствует об дополнительном накоплении ионов Ca^{2+} в СР, в обеспечении которого важную роль играют ионы Ca^{2+} , поступающие через $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник (Bers and Christensen, 1990; Maier et al., 2000). Участие $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника в обеспечении этого эффекта алкалоидов подтверждают эксперименты, в которых он существенно снижался в условиях его блокады ионами Ni^{2+} . Вместе с тем обнаружено, что этот эффект алкалоидов зависит от состояния механизма, участвующего в обеспечении ПРП. При этом установлено, что в присутствии максимально эффективной концентрации кофеина (20 мМ), когда он не функционирует, в результате истощения запасов ионов Ca^{2+} в СР, этот эффект делькозина и аяцина не наблюдается. Однако, в присутствии 4 мМ кофеина в условиях в которых уровень ПРП снижался до $83,6 \pm 5,3\%$ от контроля, делькозин и аяцин увеличивали его на $15,6 \pm 4,5\%$ и $12,7 \pm 3,4\%$ соответственно (рис. 8,Б).

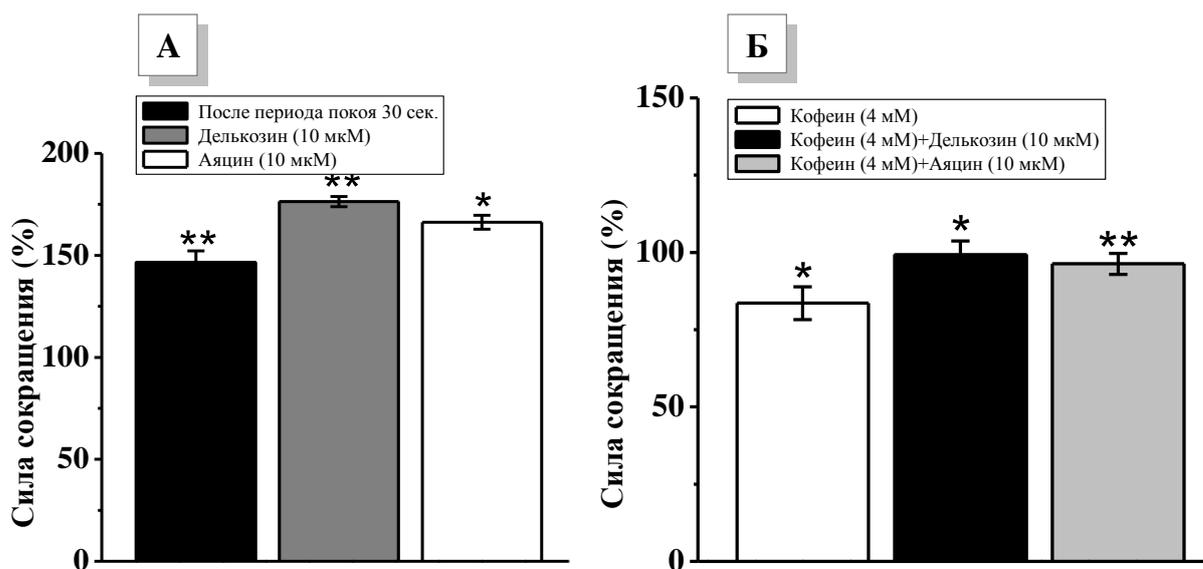


Рис. 8. Влияние дитерпеновых алкалоидов делькозина и аяцина на пост-рест потенциацию (А) и кофеин-индуцируемые сокращения (Б) папиллярной мышцы сердца крысы. А. По оси ординат – сила сокращения мышцы, выражена в процентах от максимальной, принятой за 100%. Частота стимуляции 0,5 Гц, период покоя 30 сек. Б. По оси ординат – сила сокращения мышцы, выраженная в процентах по отношению к контролю, полученного в присутствии кофеина (20 мМ) и принятого за 100% ($t=+36 \pm 0,5^\circ\text{C}$). * – $p < 0,05$ и ** – $p < 0,01$, относительно контроля ($n=4-5$)

Эти результаты указывают на то, что в условиях частичного функционирования механизма, обеспечивающего ПРП, алкалоиды сохраняют способность стимулировать накопление ионов Ca^{2+} в СР. В совокупности полученные данные свидетельствуют о том, что ПИЭ

делькозина и аяцина обусловлен увеличением уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах, в обеспечении которого, в основном, участвуют ионы Ca^{2+} , высвобождаемые из СР.

Анализ полученных данных показал, что в обеспечении инотропной активности исследованных алкалоидов принимают участие различные механизмы, в которых задействованы Na^+ -, Ca^{2+} -каналы и Na^+/Ca^{2+} -обменник сарколеммы, а также RyR2 СР кардиомиоцитов. При этом показано, что характер инотропного действия этих алкалоидов зависит от особенностей их структуры, которая, в основном, отличается наличием гидроксильных групп у углеродных атомов С(7) и С(8) у аяцина и делькозина и дезоксигрупп у делькорина и делькоринина.

Антиаритмическая активность алкалоидов ликоктониного типа. В процессе изучения эффектов исследуемых алкалоидов на аконитиновой модели аритмии было обнаружено, что они с разной эффективностью снижают частоту спонтанных сокращений папиллярной мышцы, индуцируемых аконитином. При этом установлено, что в присутствии делькорина, делькоринина, делькозина и аяцина (100 мкМ) частота спонтанных сокращений мышцы, индуцированных аконитином (1 мкМ), снижается от 266 ± 5 до 23 ± 4 , 36 ± 7 , 18 ± 6 и 9 ± 2 ударов/минуту соответственно. Эти результаты свидетельствуют о том, что исследованные алкалоиды заметно подавляют развитие спонтанных сокращений мышцы, индуцируемых аконитином, что указывает на наличие у них антиаритмической активности. Анализ литературных данных и результатов, полученных в процессе реализации этих исследований, позволил предположить, что в обеспечении антиаритмического действия изученных алкалоидов ведущую роль может играть их ОИЭ, который обусловлен блокадой Na^+ -каналов. Аналогичной блокадой Na^+ -каналов характеризуются эффекты антиаритмических средств 1А класса, благодаря которой обеспечивается снижение уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах, подавление их возбудимости и нормализация частоты сердечных сокращений (Heubach and Schule, 1998; Nawada et al., 1994; Wright, 2001). Однако, антиаритмическое действие делькорина и делькоринина, обладающих более выраженным ОИЭ, было существенно слабее, чем у делькозина и аяцина, которые наряду с ОИЭ проявляют также ПИЭ. В связи с этим, более выраженная антиаритмическая активность аяцина и делькозина, по-видимому, может обеспечиваться благодаря наличию у них ПИЭ, который, как установлено, может участвовать в реализации терапевтических эффектов ряда антиаритмических средств 1А класса (Honerjager et al., 1986).

Таким образом, результаты этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что исследованные дитерпеновые алкалоиды ликоктониного типа обладают инотропной и антиаритмической активностью. Сравнительный анализ инотропных и антиаритмических эффектов делькозина и аяцина показал, что в их реализации ведущую роль играет блокада Na^+ -каналов, сопровождаемая модификацией функции Ca^{2+} -транспортирующих,

обеспечивающих снижение уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах и нормализацию сократительной активности сердечной мышцы.

В целом, в процессе реализации диссертационной работы установлено, что исследованные фенольные соединения и дитерпеновые алкалоиды ликоктонинового типа обладают инотропным и антиаритмическим действием, в обеспечении которых задействованы различные внутриклеточные сигнальные каскады и ион–транспортующие системы, участвующие в регуляции Ca^{2+} –зависимых процессов в кардиомиоцитах.

ВЫВОДЫ

1. Фенольные соединения и дитерпеновые алкалоиды ликоктонинового типа обладают выраженной инотропной активностью, характер которых зависит от их структуры и используемой концентрации.
2. Положительная инотропная активность флавоноидов определяется количеством –ОН группа в их структуре и обеспечивается благодаря активации сигнального каскада β -АР→АЦ→ $[cAMF]_{in}$ →ПКА и ингибированию Na^+/K^+ -АТФазы, сопровождаемых увеличением уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах и сократительной активности сердечной мышцы.
3. Отрицательная инотропная активность флавоноидов зависит от числа – OSN_3 группы в их структуре и обеспечивается в результате блокады Ca^{2+}_L -каналов и активации сигнального каскада $eNOS$ → NO →ГЦ→ $[cGMF]$ →ПКГ, сопровождаемых снижением уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах и подавлением сократительной активности сердечной мышцы.
4. Выраженная антиаритмическая активность кверцетина и генкванина может быть связана не только с их высокой антиоксидантной активностью, ограничивающей развитие окислительного стресса, но также может обеспечиваться их инотропным действием, способствующим поддержанию оптимального уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах и нормализации их сократительной активности.
5. Дитерпеновые алкалоиды делькозин и аяцин, содержащие в молекуле гидроксильные группы у углеродных атомов С(7) и С(8), в зависимости от концентрации, могут обладать положительным и отрицательным инотропными эффектами, а делькорин и делькоринин, у которых в этом положении представлены дезоксигруппы, в широком диапазоне концентраций проявляли только отрицательный инотропный эффект.
6. Отрицательный инотропный эффект этих алкалоидов обеспечивается благодаря блокаде Na^+ -каналов, сопровождаемой инактивацией Ca^{2+}_L -каналов, способствующей снижению уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах и подавлению сократительной активности сердечной мышцы.
7. Положительный инотропный эффект делькозина и аяцина обеспечивается благодаря активации процессов, участвующих в загрузке и высвобождении ионов Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикулуме,

сопровождаемых увеличением уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ в кардиомиоцитах и сократительной активностью сердечной мышцы.

8. Более выраженный антиаритмический эффект делькозина и аячина, по сравнению с делькорином и делькоринином, может быть обусловлен наличием у них, наряду с отрицательной, положительной инотропной активностью, которая может участвовать в механизме, обеспечивающим их антиаритмическое действие.
9. На основании анализа механизмов инотропного и антиаритмического действия исследованных соединений, а также закономерностей между их структурой и активностью флавоноид генкванин и алкалоиды аяцин и делькозин представляют собой наиболее перспективные кандидаты для разработки новых эффективных лекарственных средств для профилактики и лечения сердечных аритмий.

**SCIENTIFIC COUNCIL AWARDING SCIENTIFIC DEGREES
DSc.27.06.2017.K/B/T.37.01 AT THE INSTITUTE OF BIOORGANIC
CHEMISTRY, THE NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN AND
THE INSTITUTE OF CHEMISTRY OF PLANT SUBSTANCES**

INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY

KHUSHMATOV SHUNKOR SADULLAEVICH

**CHARACTERIZATION OF THE EFFECTS OF BIOLOGICALLY
ACTIVE COMPOUNDS ON CALCIUM-DEPENDENT PROCESSES IN
CARDIOMYOCYTES**

03.00.02 – Biophysics and radiobiology

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

Tashkent – 2018

This dissertation of DSc thesis has been registered with the number B2017.1.DSc/B7 at the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan.

The doctoral dissertation (DSc) is carried out at the Institute of Bioorganic chemistry.

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

Scientific consultant: **Usmanov Pulat Bekmuratovich**
doctor of sciences in biology, professor

Official opponents: **Sabirov Ravshan Zairovich**
doctor of sciences in biology, academician

Mirkhodjaev Ulugbek Zakirovich
doctor of sciences in biology, professor

Matchanov Azat Taubaldievich
doctor of sciences in biology, professor

Leading organization: **Tashkent Pharmaceutical Institute**

Defense will take place on «____» _____ 2018 at ____ at the meeting of the Scientific council DSc.27.06.2017.K/B/T.37.01 on award of scientific degrees at the Institute of Bioorganic Chemistry and the National University of Uzbekistan and the Institute of Chemistry of Plant Substances (Address: 100125, Tashkent, 83 Mirzo Ulugbek street. Phone: (99871) 262–35–40; Fax: (99871) 262–70–63).

Dissertation is registered at the Information Resource Centre at the Institute of Bioorganic Chemistry (registration number D–200). (Address: 100125, Tashkent, 83 Mirzo Ulugbek street. Phone: 262–35–40, Fax: (99871) 262–70–63), E–mail: Asrarov54@mail.ru.

Abstract of dissertation is distributed on «____» _____ 2018 year
(Protocol at the register _____ on «____» _____ 2018 year)

Sh.I.Salikhov
Chairman of the Scientific council
awarding scientific degrees, D.B.Sc., academician

B.N.Babaev
Scientific secretary of the Scientific council
awarding scientific degrees, D.Ch.Sc.

Sh.U.Turdikulova
Chairman of the academic seminar under the
scientific council awarding scientific degrees, D.B.Sc.

INTRODUCTION (abstract of doctoral dissertation)

The aim of research work. The aims of the present study were to characterize effects of biologically active compounds (phenolic compounds, diterpene alkaloids of the lycocotinin type) on Ca^{2+} -dependent processes in cardiomyocytes.

The objects of research work. The study subjects are: phenols – pyrogallol, floroglucinol, hydroquinone, gallic acid; flavonoids – quercetin, 4',3-dimethyl quercetin, rutin, (+)-catechin, apigenin, luteolin, pulicarin, genkwanin, kumatakenin, penduletin, xanthomicrol, cirsimaritin; polyphenol – epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG); diterpene alkaloids – delkorine, delkorinin, delkozin, ajacin.

Scientific novelty of the research work is as follows:

new data on the mechanisms of positive and negative inotropic actions of flavonoids have been obtained, the role of the signal transduction systems $\beta\text{-AP}\rightarrow\text{AC}\rightarrow\text{cAMP}\rightarrow\text{PKA}$ and $e\text{NOS}\rightarrow\text{NO}\rightarrow\text{GC}\rightarrow\text{cGMP}\rightarrow\text{PKG}$, as well as, $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -channels and $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{-ATPase}$ in these effects have been established, new insights into possible contribution of the inotropic activity of flavonoids to their antiarrhythmic action were also provided;

for the first time, data on the inotropic effects of lycocotinin type alkaloids delkorine, delkorinin, delkozin and ajacin have been obtained, the mechanisms of their negative and positive inotropic action have been established, the participation of Na^+ -channels and processes involved in loading and releasing of Ca^{2+} in sarcoplasmic reticulum in their realization have been demonstrated, involvement of the positive inotropic activity of alkaloids in providing their antiarrhythmic action has been proposed;

Implementation of the research results. Based on the results of a complex investigation of the mechanisms of inotropic and antiarrhythmic actions of flavonoids and diterpene alkaloids of the lycocotinin type;

flavonoids genkwanin were used in a comparative analysis of the mechanisms of inotropic action of flavonoids in the project «The International Cooperation and Exchanges» of the National Foundation for Natural Sciences of China (reference of the Chinese Academy of Sciences, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, 0991-3835823 of November 30, 2016). The results of these studies made it possible to evaluate the role of inotropic activity of flavonoids in providing their pharmacological effects;

mechanism of inotropic and antiarrhythmic action of flavonoids have found application in the implementation of the project «The Central Asian Center of Drug Discovery & Development» of the Chinese Academy of Sciences and CAS TWAS scholarships (reference of the Chinese Academy of Sciences, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, 0991-3835823 of November 30, 2016). These studies have made a great contribution to the complex analysis of the cardioprotective properties of a number of flavonoids;

data on the mechanisms of biological effects of studied flavonoids have been used by foreign journals with high impact factor in order to characterize of

pharmacological properties of flavonoids (Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine, 2013, V.3, Journal Impact Factor, IF=0,925; Visnyk of Dnipropetrovsk University (Biology, Medicine), 2016, V.7, Global Impact Factor, GIF=0,888; World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2017, V.6, Global Impact Factor, GIF=0,629). The results of these studies have made a significant contribution to a more fundamental understanding of the pharmacological properties of flavonoids and the mechanisms of their cardioprotective action.

mechanism of the action of some studied flavonoids (apigenin, luteolin, quercetin) on Ca^{2+} -dependent processes were used in the project «Characterization of the effects of bioregulators of ion transport of mitochondria and metabolic processes in norm and in pathology» (reference of the Committee for the Coordination of Development of Science and Technology, FTK-0313/870 of December 1, 2017). The results of these studies have made it possible to clarify the role of mitochondria in providing the cardioprotective action of flavonoids.

The structure and volume of the thesis. The dissertation contains five chapters, conclusions, list of references. Size of dissertation is 195 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Хушматов Ш.С., Усманов П.Б., Салимов Б.Т. Сравнительное действие алкалоидов дельфатина и 6–дезоксиделькорина на сократительную активность папиллярной мышцы крысы // Журнал Доклады Академии наук Республики Узбекистан. – Ташкент, 2011. – №5. – С.77–81 (03.00.00; №6).
2. Khushmatov Sh.S., Eshbakova K.A., Alimova D. The inotropic effects of 3'4'–dimetyl quercetin in isolated rat papillary muscle // European Journal of Medicine. – 2015. – V.9(3). – P.170–179 (№5; Global Impact Factor – 0,876).
3. Хушматов Ш.С., Махмудов Р.Р., Мавлянов С.М. Сравнительное изучение инотропной и антиаритмической активности флавоноидов – кверцетина, рутина и (+)катехина // Российский кардиологический журнал. – Москва (Россия). – 2015. – №11(127). – С.35–41 (№1. Web of Science IF – 0,067).
4. Khushmatov Sh.S. The effect of the diterpene alkaloids on transmembrane action potential of isolated rat myocardium // European Applied Sciences (Europäische Fachhochschule). Germany. – 2015. – №.4. – P.5–8 (03.00.02; №5).
5. Khushmatov Sh.S., Eshbakova K.A., Alimova D. Antiarrhythmic effect of dimetyl quercetin on aconitine–induced arrhythmias in rat papillary muscle // Ежемесячный научный медицинский журнал «Интер–медикал». Международное научное объединение «Inter–Medical» (Россия). – 2015. №6(12). – С.49–53 (03.00.00; №1).
6. Хушматов Ш.С. Двухфазный кардиотропный эффект алкалоида аяцина // Вестник Киевского национального университета им. Тараса Шевченко (Украина). – 2015. – №2(19). – С.24–28 (03.00.00; №10).
7. Хушматов Ш.С., Эшбакова К.А., Есимбетов Р.М., Зарипов А.А., Калилаева Б.Р., Палуаниязова Д.А. Кардиофармакологические свойства флавоноида апигенина // Вестник Каракалпакского отделения Академии наук республики Узбекистан (Нукус). – 2015. – № 3. – С.8–11 (03.00.00; №10).
8. Хушматов Ш.С., Махмудов Р.Р., Мавлянов С.М., Абдикулов З.У. Краткая фармакологическая характеристика и кардиоактивность некоторых фенольных соединений // Научный журнал «Вестник Гулистанского госуниверситета». – 2015. – №.4. – С.17–21 (03.00.00; №3).
9. Хушматов Ш.С., Махмудов Р.Р., Рустамов Ш.Ю. Полифункциональное фармакологическое действие экстракта подорожника большого (*Plantago major* L.) // Инфекция, иммунитет и фармакология. – 2015. – №2. – С.189–192 (03.00.00; №7).
10. Хушматов Ш.С., Баратов К.Р., Есимбетов А.Т., Бегдуллаева Г.С. Изучение действия аяцина на пост–экстрасистолическое сокращение миокарда морских свинок // Вестник Каракалпакского отделения Академии

наук республики Узбекистан (Нукус). – 2016. – №3. – С.41–45 (03.00.00; №10).

11. Хушматов Ш.С., Усманов П.Б., Махмудов Р.Р., Омонтурдиев С.З. Антиаритмическое действие флавоноидной фракции экстракта *Plantago major* L. // Инфекция, иммунитет и фармакология. – 2017. – №2. – С.283–289 (03.00.00; №7).

П бўлим (II часть; II part)

12. Усманов П.Б., Курбанов А.Ш., Хушматов Ш.С. Экспресс–метод скрининга аритмогенной активности лекарственных препаратов // Журнал Фармацевтический Вестник Узбекистана. – Ташкент. 2008. – №2. – С.69–74.

13. Мусаев М.М., Усманов П.Б., Рахматов Ф.А., Хушматов Ш.С. Программа для ЭВМ «Анализ кинетики мышечного сокращения» // Государственное патентное ведомство РУз. – Свидетельство №DGU 01873. 18.12.2009 г.

14. Рахматов Ф.А., Холмуродов М.Х., Хушматов Ш.С., Усманов П.Б. Применение компьютерных технологий для исследования сократительной активности миокарда // Сборник тезисов. 15–ая Международная Пущинская школа–конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века». – Пущино, 2011. – 218–219.

15. Хушматов Ш.С., Жумаев И.З., Усманов П.Б., Салимов Б.Т. Изучение механизма кардиотропного действия алкалоида делькорина // Сборник тезисов. 16–я Международная Пущинская школа–конференция молодых ученых «Биология наука XXI века». – Пущино, 2012. – С.453.

16. Khushmatov Sh.S., Omonturdiev S.Z., Eshbakova K.A., Usmanov P.B., Tashmatov Z.O. Relaxant effect of the flavonoid pulicarin // Medicinal Plant Research (Canada). – 2012. – V.2(5). – P.21–25.

17. Хушматов Ш.С. Изучение действия алкалоида делькозина на сократительную активность папиллярной мышцы крысы // Материалы I Всероссийской научной сессии молодых ученых и студентов с межд. участием «Современные решения актуальных научных проблем в медицине». – Нижний Новгород, 2013. – Журнал Медиаль. – 2013. – №1(6). – С.112–113.

18. Хушматов Ш.С. Изучение действия алкалоида делькоридина на функциональную активность миокарда крысы // Материалы Всероссийской студенческой научно–практической конф. с международным участием, состоявшейся в рамках Недели науки АФ КНИТУ–КАИ. «Актуальные проблемы науки в студенческих исследованиях». – Альметьевск (Респ. Татарстан), 2013. – С.132–134.

19. Khushmatov Sh.S. The negative inotropic effects of delkorin on rat papillary muscles // 7th Drug Design & Medicinal Chemistry. – Boston (MA, USA), 2013. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.gtcbio.com/preview/drugdesign/main.htm>

20. Хушматов Ш.С., Эшбакова К.А., Ташматов З.О., Есимбетов Р.М., Есимбетов А.Т., Зарипов А.А. Циклический АМФ–зависимый

положительный инотропный эффект апигенина // Тезисы II Международной науч. конф. молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации». – Вестник ЮКГФА (Шымкент, Респ. Казахстан), 2014. – Прил. 2. – №4(69). – С.192–193.

21. Хушматов Ш.С., Мавлянов С.М., Усманов П.Б. Инотропная активность флавоноидов – кверцетина и рутина // Сборник тезисов междунаро. конф. молодых ученых «Экспериментальная и теоретическая биофизика». – Пушкино (Московская область), 2014. – С.131–132.

22. Хушматов Ш.С., Усманов П.Б. Роль кальциевых каналов (рианодиновые рецепторы) саркоплазматического ретикулума в инотропном эффекте алкалоида аячина // Сборник тезисов конф. «Сердечная недостаточность». – Москва (Общероссийская общественная организация «Общество специалистов по сердечной недостаточности»), 2014. – С.18.

23. Хушматов Ш.С., Махмудов Р.Р., Мавлянов С.М. Кардиоваскулярный эффект фракции экстракта *Plantago major* L. // Материалы научной конф. «Современные проблемы физико–химической биологии», посвящ. 80–летию акад. Б.А.Ташмухамедова. – Ташкент, 2015. – С.333–336.

24. Хушматов Ш.С. Исследование влияния алкалоида делькорина на электрофизиологические свойства миокарда крысы // Материалы 69–ая научно–практ. конф. студ. и молодых ученых с междуна. участием «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2015». – Минск (Респ. Беларусь), 2015. – С.1633.

25. Хушматов Ш.С., Эшбакова К.А. Исследование действия флавоноида пуликарина на активность системы аденилатциклазы в миокарде крысы // Материалы конф. молодых ученых «Актуальные проблемы химии природных соединений», посвящ. памяти акад. С.Ю.Юнусова. – Ташкент, 2015. – С.144.

26. Хушматов Ш.С., Баратов К.Р., Зиямиддинова Э.Дж. Кардиоваскулярные эффекты 4–5–дигидрокси–7–метоксифлавона // Материалы XIX Международной медико–биологической конф. молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина. Человек и его здоровье». – Санкт–Петербург (СПбГУ), 2016. – С.612–613.

27. Хушматов Ш.С., Исмаилова М., Умарова Г.Б. Действие алкалоида аячина на пост–экстрасистолическое сокращение изолированного миокарда морских свинок // Материалы научно–практической конференции «Современные аспекты физико–химической биологии и экотоксикологии», посвящ. 70–летию проф. У.З.Мирходжаева. – Ташкент, 2016. – С.250–251.

28. Khushmatov Sh.S., Eshbakova K.A., Tashmatov Z.O. The inotropic effects of 4',5–dihydroxy–3,6,7–trimethoxyflavon in isolated rat papillary muscle // Proceedings of abstracts: Scientific Conference of PhD. Students of FAFR and FBFS, SUA in Nitra (Slovak University of Agriculture in Nitra). – Slovak Republic, 10th November, 2016. – P.35–36.

29. Хушматов Ш.С., Баратов К.Р., Тошматов З.О., Эшбакова К.А. Миокард функционал фаоллигига 6,7,8–триметокси–5,4'–

дигидроксифлавоноинотроп таъсирида азот оксидининг (NO) иштироки // Сборник тезисов конф. молодых ученых «Биорганическая химия в решении актуальных задач здравоохранения и сельского хозяйства». – Ташкент (ИБОХ АН РУз), 2016. – С.77–78.

30. Хушматов Ш.С., Тошматов З.О., Аиса Х.А., Эшбакова К.А. Влияние генкванина на показатели сокращения миокарда в условиях при блокаде NO-синтаз // Сборник тезисов. Конгресс «Сердечная недостаточность – 2016». – Москва, 2016. – С.61/225.

31. Хушматов Ш.С., Тошматов З.О., Эшбакова К.А. Изучение кардиотропного действие 6,7,8-триметокси 5,4'-дигидроксифлавона // «Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2016»: Сборник тезисов докладов LXX Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых. В авторской редакции. (Под редакцией А.В. Сикорского, О.К.Дорониной). – Минск: БГМУ, 2016. – 1506 с. – С.1272.

32. Хушматов Ш.С., Абдулладжанова Н.Г., Жумаев И.З., Рустамов Ш.Ю. Изучение механизма инотропного действия (-)-эпигаллокатехингаллата // Сборник тезисов докладов LXXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2017». Под редакцией Сикорского А.В., Дорониной О.К. – Республика Беларусь (г. Минск; БГМУ), 2017. – С.1495.

33. Хушматов Ш.С., Усманов П.Б., Есимбетов А.Т., Абдулладжанова Н.Г. Изучение действия (-)-эпигаллокатехин-3-галлата на активность Na^+/Ca^{2+} -обменника и $RyR2$ кардиомиоцитов // Материалы VI научно-практической конференции, посвященной ко дню «Охраны окружающей среды», «Рациональное использование природных ресурсов Южного Приаралья». – Нукус, 2017. – С.42–43.

34. Khushmatov Sh.S. Possible involvement of sodium pump in inotropic effect of 4',5-dihydroxy-7-methoxyflavon in rat cardiac muscle // Abstract Book of «XXth International medical biological conference of young researchers» (Fundamental Science and Clinical Medicine). – St. Petersburg (Russia), 2017. – V.20. – 1–680). – P.651.

35. Хушматов Ш.С., Усманов П.Б., Рустамов Ш.Ю., Тошматов З.О., Аиса Х.А. Изучение двухфазного инотропного действия цирзимаритина // Сборник материалов научно-практической конференции «Актуальные проблемы и достижения генетики, геномики и биоинформатики». – Ташкент (УзМУ), 2017. – С.224–225.

36. Хушматов Ш.С., Усманов П.Б., Жумаев И.З., Абдулладжанова Н.Г. Активация Na^+/H^+ -обменника при действии (-)-эпигаллокатехингаллата // Сборник тезисов конгресса Приволжского Федерального округа «Сердечная недостаточность». – Казань, 2017. – С.5/24.

37. Khushmatov Sh.S., Baratov K.R., Toshmatov O.Z., Eshbakova K.A. Involvement of nitric oxide in negative inotropic effect of 4',5-dihydroxy-3,6,7-trimethoxyflavon in rat cardiac muscle // XII International symposium «Actual problems of chemistry, biology and technology of natural compounds». – Tashkent

(Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan acad. S.Yu.Yunusov Institute of the Chemistry of plant substances), 2017. – P.123.

38. Khushmatov Sh.S., Usmanov P.B., Toshmatov Z.O., Aisa H.A., Eshbakova K.A. The negative inotropic effects of genkwanin on rat papillary muscle // Proceedings of abstracts. Scientific Conference of PhD. Students of FAFR and FBFS with International participation (Slovak University of Agriculture in Nitra). – Slovak Republic, 7th November, 2017. – 29.

39. Хушматов Ш.С., Усманов П.Б., Чуллиева М.М., Игамназаров Р.Ф., Махмудов Р.Р. Антиаритмическое действие флавоноидной фракции экстракта *Plantago major* L. // Фундаментальная наука и клиническая медицина. «Человек и его здоровье»: тезисы XXI Международной медико–биологической конференции молодых исследователей. – СПб.: Изд–во СПбГУ, 2018. – 548 с. [Фундам. наука клин. мед. – 2018. – Т.21. – С.1–548]. – С.460–461.

40. Хушматов Ш.С., Усманов П.Б., Наджимова Х.К. Изучение инотропного и антиаритмического действия некоторых фенольных соединений // Сборник тезисов конгресса Южного Федерального округа «Сердечная недостаточность». – Ростов–на–Дону, 2018. – С.6–7.

41. Khushmatov Sh.S., Usmanov P.B., Inogamov U.K., Toshmatov Z.O., Aisa H.A., Eshbakova K.A. Possible involvement of NO–synthase in inotropic effect of 4',5–dihydroxy–7–methoxyflavon in rat cardiac muscle // Open Access Journal of Translational Medicine & Research (USA). – 2017. – 1(3):00014. – P.2/1–2/7.

Автореферат «Ўзбекистон Биология журнали» таҳририяида таҳрирдан ўтказилди
(11.05.2018 й.)

Бичими 60x84¹/₁₆. Ризограф босма усули. Times гарнитураси.
Шартли босма табағи: 3. Адади 100. Буюртма № 11.

«ЎзР Фанлар Академияси Асосий кутубхонаси» босмахонасида чоп этилган.
Босмахона манзили: 100170, Тошкент ш., Зиёлилар кўчаси, 13–уй.