

**ÓZBEKISTAN RESPUBLIKASI JOQARI HÁM ORTA ARNAWLÍ
BILIMLENDIRIW MINISTRLIGI**

**BERDAQ ATÍNDAGÍ
QARAQALPAQ MÁMLEKETLIK UNIVERSITETI**

Qoljazba huqıqında

UDK 547.96/542.816

Allamberganova Kamila Raxmetovna

**FIZIOLOGIYALÍQ AKTIV BIRIKPELERDÍŇ JASALMA HÁM
BIOLOGIYALÍQ MEMBRANALARĜA TÁSIR MEXANIZMLERI**

5A140501 – Ximiya (*Bioorganikalıq ximiya*) qánigeligi boyınsha

Magistr akademiyalıq dárejesin alıw ushın jazılǵan

DISSERTACIYA

MAKda jaqlawǵa ruxsat etildi

Magistratura bólimi baslıǵı:

_____ Gulimov A.B.

Organikalıq hám organikalıq emes

ximiya kafedrası baslıǵı:

_____ Uteniyazov K.K.

Ilimiy basshı: Organikalıq hám

organikalıq emes ximiya

kafedrası docenti, b.i.k.

Kosimbetov P.G. _____

NÓKIS – 2017

MAZMUNÍ

KIRISIW	4
I BAP. ÁDEBIYATLARDÍ SHOLÍW.....	7
1.1. Biologiyalıq hám jasalma membranalar haqqında ulıwma túsinik.	7
1.1.1. Kletka qabıǵı arqalı zatlardıń transportı.....	7
1.1.2. Biologiyalıq membranalar.....	10
1.1.3. Jasalma membranalar.....	13
1.2. Membranatrop mexanizm haqqındaǵı zamanagóy kóz-qaraslar..	16
1.2.1. Ionoforlardıń membranatrop tásiiri.....	16
1.2.2. Kanaloforlardıń membranatrop tásiiri.....	19
1.2.3. Detergentlerdiń membranatrop tásiiri.....	22
1.3. Ayırım fiziologiyalıq aktiv zatlardıń membranatrop tásiiri menen biologiyalıq effekti arasındǵı baylanıs.....	25
1.3.1. Ionoforlardıń biologiyalıq effektleri.....	25
1.3.2. Kanaloforlardıń biologiyalıq effektleri.....	28
1.3.3. Detergentlerdiń biologiyalıq effektleri.....	31
II BAP. TÁJIRIYBE BÓLIMI	33
2.1. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń jasalma membranalarǵa tásiirin úyreniw usılları.....	33
2.1.1. Ionoforlardıń membranaaktiv qasiyetlerin úyreniw usılları.....	33
2.1.1.1. Qos qatlamlı lipid membranalar ushın Ringer eritpesin tayarlaw...	33
2.1.1.2. Qos qatlamlı lipid membranalarardıń ótkiziwsheńligin úyreniw.....	35
2.1.1.3. Ionofor-kation tipindegi kompleks stexiometriyasın anıqlaw.....	38
2.1.2. Kanaloforlardıń membranaaktiv qasiyetlerin úyreniw usılları....	41
2.1.2.1. Qos qatlamlı lipid membranalarardıń ótkiziwsheńligin úyreniw.....	41
2.1.2.2. Membranalarda payda bolǵan kanaldıń strukturasın izertlew.....	43
2.1.3. Detergentlerdiń membranaaktiv qasiyetlerin úyreniw usılları.....	45
2.2.1. Qos qatlamlı lipid membranalarardıń ótkiziwsheńligin úyreniw.....	45

2.2.2. Membranalardağı destrukciyalanğan strukturalardı izertlew.....	47
2.2. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń biologiyalıq membranalarğa tásirin úyreniw usılları.....	49
2.2.1. Timocitler ushın Ringer eritpesin tayarlaw.....	49
2.2.2. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń timocitler kóleminiń kemeyiwi tásirin anıqlaw.....	51
2.2.3. Timocit kletkaları kóleminiń kemeyiwin reguliyaciyası processiniń fiziologiyalıq aktiv zatlardıń koncentraciyalarına baylanıslılıǵın úyreniw...	53
III BAP. IZERTLEW NÁTIYJELERI HÁM OLARDÍ DODALAW....	56
3.1. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń jasalma membranalarğa tásiрі....	56
3.1.1. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń ionofor effekti.....	56
3.1.2. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń kanalofor effekti.....	60
3.1.3. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń destrukciyalawshı effekti.....	64
3.2. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń biologiyalıq membranalarğa tásiрі..	68
JUWMAQ.....	72
PAYDALANÍLGAN ÁDEBIYATLAR DIZIMI.....	75

KIRISIW

Temaniń tiykarlaması hám aktualıǵı. Barlıq tiri kletkalardıń ishki ortalıǵı sırtqı ortalıqtan membrana arqalı ajırılıp turadı. Sonday – aq, kletka organellaları hám ishki bólimleri de membrana menen qaplangan bolıp, ol ximiyalıq quramı boyınsha lipid molekulalarından dúziledi. Ósimlikler kóp muǵdardaǵı biologiyalıq aktiv birikpelerdi (sonıń ishinde tómén molekulalıq massaǵa iye ósimlik peptidleri hám diterpenoidlardı) sintezleydi. Bunday peptidler ósimliklerdiń tuqımların qorǵawshı tábiyiy komponentler bolıp, patogen mikroorganizmlerdiń ósiwine, kóbeyiwine hámde tarqalıwına tuwrıdan-tuwrı tosqınlıq jasaydı, olarǵa lipid – tasıwshı proteinler, tioninler, ósimlik defensinleri sıyaqlı peptidler kiredi. Peptidler toksik (záhárli) hám antimikrob qásiyetlerdi kórsetedi. Olar hár túrli mikroorganizmler kletkalarına toksik tásir etiwde keń spektrge iye bolıp, membranalarda qanday – da bir selektivlikti (tańlawshılıqtı) keltirip shıǵaradı. Diterpenoidlarda biologiyalıq aktiv zatlar bolıp, ósimlik zatlarınıń tez kóbeyip kiyatırǵan klasına kiredi. Házirgi kúnge jergilikli ósimliklerdiń ayırım diterpenoidlardıń ximiyalıq hám farmakologiyalıq qásiyetleri hámde fiziologiyalıq aktivligi úyrenilgenine qaramastan, olardıń molekulyar tásir mexanizminiń kóplegen etapları belgisiz bolıp qalmaqta. Diterpenoidlardıń trombocitlerge tásir mexanizminiń áhmiyetli aspektlerinen biri bolsa, bul kletka fosfolipid membranalarınıń Ca^{+2} ionların ótkiziwshiligine tásir kórsete alıw qábileti bolıp tabılıwı múmkin. Ósimlikler tiykarında alınǵan peptidler hám diterpenoidlardıń ionlardı ótkiziwsheńligine tásir qılıwın úyreniw hám bul birikpelerde ionoforlıq yamasa kanal payda etiw qásiyeti bar bolıwı múmkinligi, bizdi membranaaktiv qásiyet hám biologiyalıq effektivligi arasında qandayda bir óz – ara baylanıslılıq bar bolıwı múmkin degen pikir júritiwimizge alıp keledi.

Obiekti hám predmeti. Magistrlik dissertaciya jumısında Qaraqalpaqstan Respublikası territoriyasında ósetuǵın dárilik ósimliklerden ajratıp alınǵan ayırım biologiyalıq aktiv zatlar – peptidler hám diterpenoidlar hámde olardıń tuwındıları izertlenedi.

Maqset hám wazıypaları. Magistrlik dissertaciya jumısınıń maqseti fiziologiyalıq aktiv birikpelerdiń jasalma hám biologiyalıq membranalarga tásir mexanizmin molekulyar dárejede úyreniw hámde olardıń aktivliginiń ximiyalıq dúzilisine baylanıslılıgın anıqlawdan ibarat.

Magistrlik dissertaciya jumısınıń wazıypaları tómendegilerden ibarat:

- Fiziologiyalıq aktiv birikpelerdiń membranaaktiv qásiyetlerin anıqlaw.
- Birikpelerdiń jasalma membranalarga tásir mexanizmin molekulyar dárejede izertlew.
- Úyrenilip atırǵan preparatlardıń biologiyalıq membranalarga tásirin úyreniw hám jasalma membranadaǵı alınǵan nátiyjeler menen salıstırıw.
- Izertlengen membranaaktiv zatlardıń ximiyalıq dúzilisi menen olardıń fiziologiyalıq ózgeshelikleri arasındadı baylanıslılıqtı anıqlaw.

Ilimiy jańalıǵı. Magistrlik dissertaciya jumısında birinshi márte Qaraqalpaqstan territoriyasında ósetuǵın derlik ósimliklerden ajırılıp alınǵan peptid hám diterpenoid birikpeleriniń jasalma hámde biologiyalıq membranalarga molekulyar tásir mexanizmleri úyrenilip, olardıń membrana aktiv qásiyetleri hám ximiyalıq dúzilisi arasındadı baylanıslılıqtı anıqlaw.

Izertlewdiń tiykarǵı máseleleri hám boljawları. Magistrlik dissertaciya jumısında alınatuǵın nátiyjeler jergilikli ósimlikler tiykarındadı ximiyalıq birikpelerdiń organizmge tásiriniń ayırım aspektlerin keltirip shıǵarıw ushın tájiriybelerdi ótkiziw menen ámelge asırıladı. Izertlewler dawamında kletkaǵa tásir ettiriletuǵın komponenttiń kanal payda etiwın yamasa ion tasıwshı strukturanı dúziwin boljaw arqalı molekulyar mexanizmi anıqlanadı. Bul óz gezeginde kletka membranasında ximiyalıq ózgerislerdiń júzege keliwi haqqındadı kóz – qaraslardı keńeytiredi.

Izertlew teması boyınsha ádebiyatlar túsindirmesi (analizi). Dissertaciya jumısınıń teması boyınsha 77 atamadadı respublika hám shet el masshtabındadı ilimiy miynetlerge ádebiy sholıw jasaladı. Tiykarınan ósimliklerden ajratıp alınǵan peptid hám terpenlerdiń ximiyalıq xarakteristikası, olardıń dúzilisi, biologiyalıq aktivligi, membranaaktiv wákilleriniń tásir

mexanizmleri hámde bul qásiyetleriniń ximiyalıq strukturasına baylanıslılıǵı boyınsha keyingi jıllardaǵı maǵlıwmatlar keltiriledi. Sonday – aq jasalma hám biologiyalıq membranalardıń dúzilisi, funkciyaları hámde ózgeshelikleri haqqındaǵı zamanagóy kóz – qaraslar da ádebiyatlardı sholıw babında ayırıqsha orın iyeleydi.

Usı temadaǵı ilimiy – izertlew jumısı boyınsha alınǵan nátiyjeler 4 ilimiy maqala hám 10 tezis túrinde baspadan shıǵarıldı.

Izertlewde qollanılǵan metodika. Izertlewlerdi ámelge asırıw ushın úyreniletuǵın zatlardıń dáslep jasalma membranaǵa, sońınan biologiyalıq sistemaǵa molekulyar tásir mexanizmleri basqıshpa – basqısh úyrenilip, bul eki usıl menen alınǵan maǵlıwmatlar óz – ara salıstırıladı. Nátiyjeler analizlenip, izertlengen ximiyalıq birikpelerdiń kletka membranasına qanday usılda ornalasıwı anıqlanadı hám strukturasına baylanıslı aktivligi kórsetiledi.

Izertlew nátiyjeleriniń teoriyalıq hám ámeliy áhmiyeti. Hár túrli klass birikpeleriniń kletka membranasına jaylasıwı yaǵnıy onı dúziwshi lipid molekulaları menen óz – ara ximiyalıq tásirlesiwi boyınsha jańa teoriyalıq kóz-qaraslar qalıplestirilip, belgili bir mexanizm boyınsha tásir etiwı anıqlanadı. Islep shıǵılǵan teoriyalıq kórsetpeler tiykarında jergilikli ósimliklerden alınǵan komponentlerdiń molekulyar tásirine qaray olardıń farmakologiyalıq ózgeshelikleri esapqa alınıp, jańa joqarı effektivlikke iye bolǵan dári preparatın jaratıw maqsetinde ámeliy jaqtan sınaqlar ótkeriledi.

Jumıstıń dúzilisi hám sıpatlaması. Magistrlik dissertaciya kirisiw, tiykarǵı bólim sonnan úsh bap: ádebiyatlardı sholıw, alınǵan nátiyjeler hám olardı dodalaw, tájiriybe bólimi, juwmaqlaw hám paydalanılǵan ádebiyatlar diziminen ibarat.

Kirisiw bóliminde jumıstıń aktuallıǵı, maqseti, wazıypaları hám ámeliy áhmiyeti kórsetilgen.

Tiykarǵı bólimniń ádebiyatlardı sholıw babında izertlewge tiyisli maǵlıwmatlar keltirilgen.

Tiykargı bólimniń ekinshi babı magistrant tárepinen alınǵan nátiyjeler hám olardı talqılawǵa baǵıshlanǵan.

Tiykargı bólimniń úshinshi babı tájiriybe bólimi bolıp, onda qollanılǵan usıllardıń mazmunı sáwlelengen.

Paydalanılǵan ádebiyatlar diziminde temaǵa baylanıslı bolǵan 77 atamadaǵı ádebiyat keltirilgen.

I BAP. ÁDEBIYATLARDÍ SHOLÍW

1.1. Biologiyalıq hám jasalma membranalar haqqında ulıwma túsinik

1.1.1. Kletka qabıǵı arqalı zatlardıń transportı

Suwda eriwshen iri zatlar, máselen, organikalıq kislotalardıń anionları membranadan óte almaydı. Olardıń transport mexanizmleri basqasha, yaǵnıy ańsatlasqan diffuziya tárizinde ótedi. Molekulalardıń membranadan tasılıwı, tek ǵana olardı arawlı tasıwshı sistema menen baylanıstırǵannan keyin ǵana júz beredi. Zatlardı arawlı tasıwshı sistemalar járdeminde membranadan ótkiziliwinde, tasıwshı sistemalar ótkizilip atırǵan zat penen birgelikte diffuziyalanadı.

Arawlı tasıwshı sistema bir waqıttıń ózinde eki substrattı baylanıstırıwı da múmkin. Máselen, Na^+ ionlarınıń eritrocit hám ishek epiteliy kletkaları membranası arqalı tasılıwında bir baǵdarda, simport jaǵdayda bir qatar aminokislotalar da ańsatlasqan diffuziya arqalı ótkiziledi.

Kletkada ótetuǵın bir qatar processler, qozǵalı, ATF sintezi, ionlıq quramın saqlaw, membranalar arqalı zatlardıń ótiwi menen baylanıslı jaǵdayda ámelge asadı.

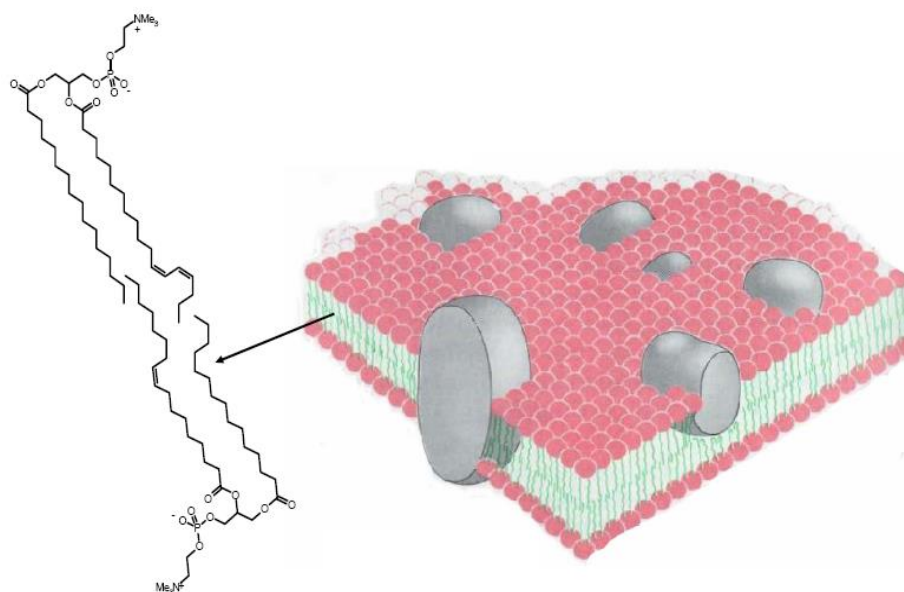
Neytral molekulalar hám ionlardı membrana arqalı tasılıwı passiv hám aktiv transportqa bólinedi.

Aktiv transport energiya sarıplanıwı menen júz beredi. Bul energiya ATF gidrolizleniwi yamasa mitoxondriyada dem alıw shınjırı arqalı elektron ótkiziliwi energiya esabınan payda boladı. Aktiv transportda zatlar hám ionlar membrana arqalı ximiyalıq yamasa elektroximiyalıq potencial gradientine qarsı baǵdarda tasıladı.

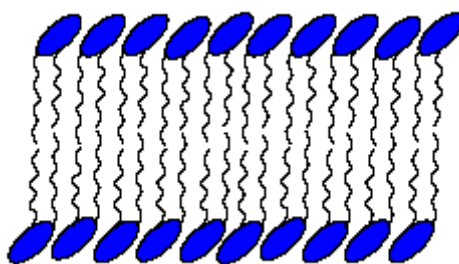
Ionlardıń membrana arqalı aktiv tasılıwı ATF molekulasında makroenergik baylanıslar sıpatında jıynalǵan energiya esabınan ámelge asıwshı plazmatikalıq membranalarda jaylasqan H^+ ion nasosı xızmeti, kletka sarkoplazmatikalıq retikulumı membranasında jaylasqan Ca^{2+} ion kanalları xızmeti misal boladı. Sonıń menen birge, oksidleniw – qálpine keliw reakciyaları tiykarında ajıralıp

shıǵatıǵın energiyasınıń sarplanıwı nátiyjesinde ámelge asıwshı mitoxondriya membranasında jaylasqan H^+ nasosı, xloroplast hám usı sıyaqlı energiya baylawshı membranalarda jaylasqan transport sistemaları da zatlardıń aktiv tasılıwına mısál bola aladı.

Kletkanıń funkcionál aktivligine tásir qılıwshı áhmiyetli faktorlardan biri, olardıń sırtqı membranasınıń ionlarǵa salıstırǵanda tańlap ótkiziwshiligi bolıp tabıladı.

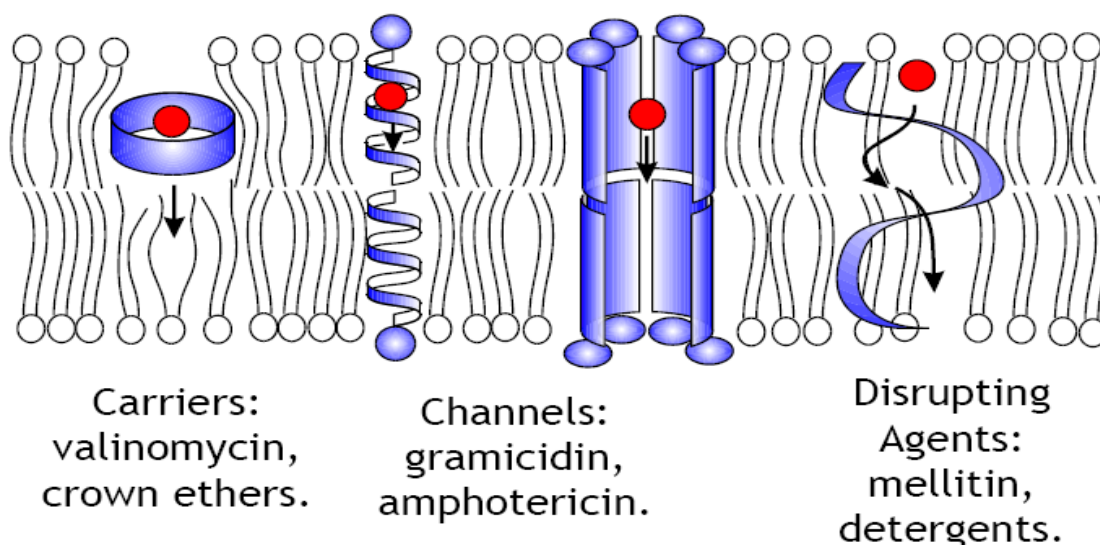


Modificirlenbegen fosfolipidler hám integrirlengen belok tutpaytuǵın ideal (jasalma qosqatlamlı lipid) membrana kationlardı ulıwma ótkizbeydi. Bunı qosqatlamda gidrofob shiyeraları bar bolıwı menen túsindiriw múmkin.



Biologiyalıq membranalardıń tiykarǵı komponenti, kóp halatlarda, qosqatlamlı yamasa bimolekulyar lipid qatlam payda etetuǵın termodinamikalıq jaqtan paydalı asociat bolıp tabılatuǵın fosfolipidler bolıp tabıladı. Qosqatlamda lipid molekulaları eki parallel bir – birine gidrofob tárepleri menen qaraǵan monoqatlam formada agregatlangan. Lipid molekulalarınıń polyarlı

gruppaları ishki uglevodorod fazasın suw ortalıǵınan ajıratıp turatuǵın eki gidrofil betti payda etedi.



Modificirlenbegen fosfolipid molekulasına iye bolǵan hám integrallanǵan beloklar tutpaytuǵın ideal membrana ionlar ushın ulıwma ótkiziwshilik payda qılmaslıǵı biologiyalıq membranalar da sıyaqlı model lipid membranalar da may kislota qaldıqları esabınan payda bolatuǵın gidrofob beti bar bolıwı menen shártli túrde belgilenedi.

Sonıń ushın hár túrli zatlar hám ionlarǵa salıstırǵanda tańlap ótkiziwshilik – biologiyalıq membranaların tiykargı funkciyası bolıp tabıladı. Biologiyalıq hám jasalma membrana olar arqalı ótiwshi kóplegen zatlar ushın diffuziyalıq barier bolıp tabıladı. Olardıń lipid fazası arqalı ótiwi ushın kóp muǵdarda energiya talap qılınadı.

1.1.2. Biologiyalıq membranalar

Membrana sózi latinsha membrane – juqa perde degen mánisti bildiredi. Kletka membranasınıń qalınlıǵı ortasha 7 – 10 nm ǵa teń hám ol kletkanı sırtqı ortalıqtan shegaralaydı, zatlardı tańlap ótkiziwsheńlik, iyiliwsheńlik qozǵalıwsheńlik, fagocitoz, energiya payda qılıw, receptorlıq sıyaqlı qásiyetlerge iye. Bul olardıń sırtqı ortalıqtan shegaralaydı, zatlar tańlap ótkiziwin táminleydi hám de hár túrli sırtqı tásirlerden qorǵaydı. Biomembranalar strukturası beloklar lipidler, suw hám anorganik

komponentlerden quralğan. Biomembranalar strukturası quramına kiriwshi beloklar hár túrli bolıp, olardıń molekulyar massası 10 000 – 240 000 D esaplanadı. Membranada beloklar eki qabatlı qatlamda jaylasıwına qaray integral hám periferik beloklarǵa bólinedi. Beloklar gidrofob qásiyetlerine qaray, bólek yaki lipidge birikken jaǵdayda boladı. Membranada kem baylangan noelektrostatik, penferik beloklar hám lipidke baylangan integral beloklar (kóbirek bólimi) fermentativ, transport (zatlar hám ionlar tasılıwın) regulyator hám struktura sıyaqlı funkciyalardı táminleydi. Membranada belok molekulaları uglevodlar menen glikoproteinlerdi eki lipidler menen birigip, lipoproteinlerdi payda qıladı.

Beloklar kletkanıń qurǵaq massasınıń 10 – 15% in, lipidler 25 – 75% in quraydı. Lipidler ádette 14 – 22 uglerod atomlarınan ibarat bolıp, fosfolipidler, glikolipidler hám steriodlardan quralğan. Fosfolipidler eki bólimnen: bas bólimi, yaǵnıy polyarlangan gidrofil hám gidrofob artqı bólimlerden quralğan. Bas bólimi fosfor kislotası qaldıǵı, gidrofob bólimi uglevodorodlar qaldıǵınan quralğan. Lipidler kletka membranasında eki qabat (qalınlıǵı 3,5 – 4,0 nm) payda qılıp jaylasadı.

Biomembranalar tańlap ótkiziwsheńlik, iyiliwsheńlik, qozǵalıwsheńlik, fagocitoz, energiya payda etiw, receptorlıq sıyaqlı qásiyetlerge iye. Biomembranalar aktiv sistema, ol kletkalardıń sırtqı ortalıq penen óz – ara qatnasların, hár túrli zatlardı, solardan ionlardı tańlap sırtqı ortalıqtan ishke kiriwin hám sırtqa shıǵarılıwın gormonlar hám basqa basqarıwshı molekulalardıń baylanısıwın, fermentler katalizleytuǵın túrli reaksiyalardıń keshiwin, elektr impulslardıń payda bolıwın hám ótkiziliwin támiynleydi.

Hár bir membrana ózine tán bolǵan funkciyanı atqaradı. Ulıwma membranalardıń strukturası málim wazıypanı atqarıw ushın oǵan iykemlesken boladı. Membranada sistemalar eki tiykarǵı faza jaǵdayında bolıwı múmkin: qattı eki qatlamlı kristall jaǵday yamasa gel jaǵdayında, suyıq kristall jaǵdayında boladı.

Eki jaǵdayda da lipid fazasınıń eki qatlamlı strukturası saqlanıp qaladı. Membrananıń temperaturası kóterilgende qattı fazanıń suyıq fazaǵa salıstırmalıǵı ózgeredi. Membrananı quraǵan fosfolipidlerdiń yarım muǵdarı qattı hám ekinshi yarım suyıq bolǵan jaǵdaydı belgileytuǵın temperatura fazalı ótiw temperaturası dep ataladı. Bul temperatura lipidlerdiń uglevodorod shınjırınıń uzınlıǵı hám onıń toyınıw dárejesine baylanıslı. Lipidlerdiń uglevodorod shınjırınıń uzınlıǵı artıwı menen fazalı ótiw temperaturası da artadı hám toyınıw dárejesi kemeyiwı menen bul temperatura páseyedi. Fazalı ótiwden payda bolatuǵın ózgerisler tiykarında lipidlerdiń uglevodorod shınjırlardıń fazalıq ózgerisleri jatadı. Gel – suyıq kristall halatındaǵı fazalar aralıq ótiwde uglevodorod shınjırları trans jaǵdayınan tártipsiz jaǵdayına ótiwi payda boladı. Bunda bir lipid molekulası iyeleytuǵın júzeniń dárejesi asadı hám uglevodorod qatlamınıń qalınlıǵı kemeyedi. Bunda sırtqı qabatlar belok molekulalarınan hám ortada jaylasqan qabat eki qatar bolıp jaylasqan lipid molekulalarınan quralǵanlıǵı anıqlanǵan. Membrananıń sırtqı tárepinde jaylasqan belok molekulaları pútin halatta bolmaǵanlıǵı sebepli lipid molekulaları kletka sırtında bar bolǵan gidrofob qásiyetke iye zatlar menen úzliksiz tásirlesedi. Bunıń nátiyjesinde bolsa suwda erimeytuǵın halatındaǵı zatlar membranadan lipid molekulaları qabatında eriwi arqalı óte aladı. Kletka membranasınıń sırtqı tárepinde jaylasqan belok molekulalarınıń arnawlı konformaciyasınan payda bolatuǵın ion kanalları arqalı hár túrli ionlar qatań tártipte, ayırırıqsha tańlawshılıq qásiyeti tiykarında kletka ishki ortalıǵına ótkiziledi yamasa sırtqa shıǵarıp jiberiliwi ámelge asadı. Sonıń menen birge membrananıń sırtqı bóliminde jaylasqan belok molekulaları membrananıń ishki hám sırtqı qabatlarında jaylasqan ferment sistemaları, ion kanalları, biologiyalıq aktiv zatlar menen tańlaw tiykarında tásirlesetuǵın receptor dep atalıwshı arnawlı molekula qurılımların quraydı. Bul qurılımlar iskerligi tiykarında kletka sırtqı ortalıq tásirlerin qabıl qıladı.

Diffuziya bólek molekula hám ionlardıń, tártipsiz hám spontan háreketine baylanıslı. Mısalı: ammiaktıń suwlı eritpesi salınǵan ıdıstıń awzın ashıq

qaldırsa, belgili waqıttan keyin barlıq xanağa onıń ótkir iyisi tarqalıp ketedi. Bul process ammiak molekulalarınń diffuzıyalanıwı menen túsindiriledi. Molekulalar hám ionlar joqarı koncentracıyalı tárepten pás koncentracıyalı tárepke gradienti boyınsha háreketlense, diffuzıyanıń bunday túri ápiwayı diffuziya dep ataladı. Diffuziyada hár bir molekula tipi óziniń koncentraciya gradienti boyınsha háreketlenedi. Mısalı: ókpede kislorod qanğa diffuzıyalanadı, sonıń menen bir waqıtta uglerod (II) –oksidi qannan alveolalarğa diffuzıyalanadı.

Mayda eriwshi zatlar membranaların lipid matriksinde erip, onnan ańsatlıq penen ótedi. Suw hám suwda eriwshi diametri kishi ionlar membranadan hár eki tárepke óte aladı. Suwda eriwshi iri zatlar, mısalı organik kislatalardıń anionları membranadan óte almaydı. Olardıń transport mexanizmleri basqasha tárizde keshedi. Ayırım molekulaların ótkiziliwi tek olardı ótkizgish penen baylanısıwınan keyin júz beredi. Zatlardı ótkizgish járdeminde ótkiziliwinde ótkizgish ótkerilip atırğan zat menen diffuzıyalanadı.

Kletkağa O_2 diffuzıyası joqarıda kórsetilgen koncentraciya gradienti tiykarında barıp, kletkanıń kislorodqa mıtájligi, yaǵniy oksidleniw reaksiyaları dárejesine baylanıslı halda ámelge asadı hám bunda CO_2 kóbeyiwi gúzetilse, avtoregulyativ processler iske túsip, kislorodqa salıstırǵanda gradient páseyttiriledi. Biologiyalıq membranalar arqalı elektr zaryadına iye bolmaǵan, neytral zatlardıń ótiw processı diffuziya esaplanadı.

Biologiyalıq membrana arqalı transport ekige: *aktiv* hám *passiv transportqa* bólinedi. *Aktiv transport* ádette elektr yamasa koncentraciya gradientine qarsı bolıp, arnawlı energiya deregin talap etedi. *Passiv transport* bolsa tek ǵana alıp ótiletuǵın zattıń koncentracıyaları gradientine baylanıslı bolıp, gradient boyınsha tasıladı.

1.1.3. Jasalma membranalar

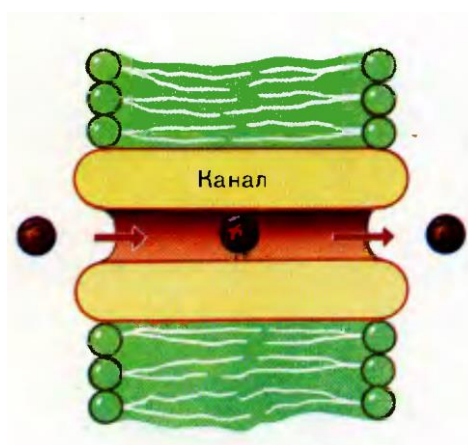
Ásirese model membrana arqalı ionlardıń tasılıw processı tereń úyrenilgen. Teoriyalıq jaqtan zat hám ionlardıń membrana arqalı tasılıwınıń eki

joli bar: *ionofo*r dep atalatuğın tasıwshılar tiykarında yamasa *kanallar* járdeminde.

Tasıwshılar sıpatında bir tárepi membrana menen baylanısqa, ekinshi bir tárepi tasılıwshı agent penen baylanısqa specifikalıq molekulalar yamasa olardıń tuwındıları kóríledi hám kompleks formasında gidrofob zona arqalı alıp ótıledi. Tasılıwshı agent membranadıń qarama – qarsı tárepinde komplekstiń dissociaciyasınan keyin suw fazasına ótip qaladı, tasıwshı bolsa óziniń aldındı halına qaytadı. Bul jaǵdayda pútkil trasport processı: komplekstiń payda bolıwı, onıń dissociaciyası, membrana arqalı háreketi sıyaqlı stadiyalarǵa bólinedi. Membranalarda elektrolitlerdi ótkiziwshiler sıpatında ionlar menen birge lipidlerde eriwshı zatlar da isletiledi. Bul haqqında 1930 – 1935 jıllarda B.Ostergout tárepinen kórsetip ótilgen. Lekin, ionlardıń biologiyalıq membrana arqalı tasıwshılar járdeminde tasılıw mexanizmin birinshi bolıp 1964 jılı B.Pressman islep shıqqan. Ol bunday tasıwshılar sıpatında ayırım «ionofo» dep atalatuğın antibiotiklerden paydalangan.

1960 jıllarda model lipid membranalarda ion ótkiziwshiligin payda qılıwshı antibiotikler ajratıp alınan. Házirgi kúnde biologiyalıq hám jasalma membranalarda ion ótkiziwshiligin payda qılıwshı bir qatar tábiyiy hám jasalma birikpeler belgili.

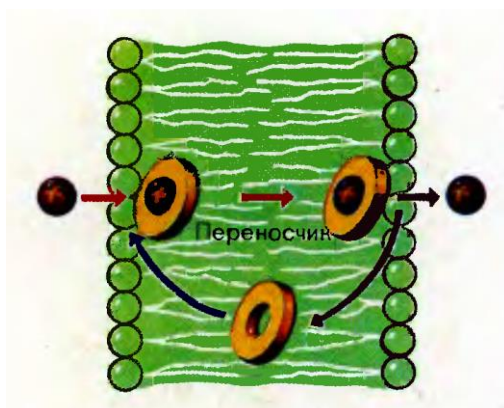
Ionlar tasılıwınıń membranaaktiv antibiotikler menen inducirlengen eki tiykarǵı mexanizmi bar. Birinshi gruppı ion tasıwshı birikpelerge ion kanalın payda qılıwshı *kanaloformerler* kiredi.



Ion bunday kanallar arqalı membrananın bir tárepinen ekinshi tárepine diffuziyalanıp ótedi. Ionlar transportınıń usı mexanizm tiykarındaǵı stimulyaciyası kanaloformer – antibiotiklerdiń háreketleniwi menen baylanıslı. Bul gruppaga gramicidin A, polien antibiotikler, ayırım jaǵdaylarda nistatin hám amfotericin B, alamecitin hámde usıǵan uqsas zatlar kiredi.

Ekinshi gruppa birikpeleri bolsa ionlardı membrananın uglevodorod bólimi arqalı ótiwin támiyinleydi. Bul zatlardıń (ionofor) aktivligi olardıń diffuziyalanıw qábiliyeti menen baylanıslı.

Mobil tasıwshılar yamasa ionoforlar lipidlerde eriwshi molekulalar bolıp esaplanıp, tasılıwshı ionlar menen baylanısıp, olardı membrananın qarama – qarsı tárepine alıp ótkeninen keyin onnan ajıralıp shıǵıw qábiliyetine iye. Baylanısıw bólimi transporttıń specifikasın támiyinleydi. Eger tasıwshı membranada orientaciyalanbaǵan bolsa hám onıń komponentleri menen specifikalıq baylanıspasa, kinetikalıq jaqtan mobil tasıwshı sıpatında kóriledi.



Ionofor aktivliktiń qanday da bir ionǵa baylanıslılıǵı bul birikpelerde ionoforlıq qásiyet tek ǵana belgili bir ion ortalıǵında bolǵanında payda bolatuǵınlıǵın kórsetedi. Bul qaǵıyda boyınsha ionoforlar bir túrdegi iondı basqalarına salıstırǵanda kóbirek ótkizip, jeke selektivlikti payda etedi.

Kópshilik ionoforlar molekulasında solvat qabıq payda etetuǵın jeterli muǵdardaǵı kislorod atomınıń ligandları, bunnan tısqarı *ionofor: kation* kompleksiniń sırtqı betine lipofil qásiyet beretuǵın radikallar barlıǵı menen xarakterlenedi.

Ionoforlardıń kompleks payda qılıwında hám transport processinde joqarı selektivlikti támiyinlew qábiliyeti onıń dúzilisindegi ózine tánligi menen anıqlanadı, usıllardan eń áhmiyetlisi birikpeniń konformaciyalıq – dinamikalıq xarakteristikası bolıp tabıladı. Tasılıwshı ion kompleks payda bolıw processinde ionofor molekulası sferasınıń ishinde qorshawda bolıp qaladı. Kóbinese bul birikpelerdiń joqarı selektivligi, kompleks payda bolıwındaǵı ekvimolyar emesligi (ionofor: kation quramı 2:1, 3:2, 3:1 qatnasta bolıwı) menen de xarakterlenedi. Bul ásirese karboksilat tipindegi birikpeler hám kraun – efirler ushın tán. Bunnan tisqari, bul komplekstiń selektivligi gidratlar degidrataciya energiyası menen de anıqlanadı. Ionofordıń jáne bir qásiyetlerinen biri – bul, lipofilligi bolıp, ol tek ǵana erkin molekulalarında emes, al onıń tasılıwshı ion menen payda qılǵan kompleksinde de boladı. Kórsetilgen qásiyetler ionofor molekulasınıń ion átirapına specifikalıq orientaciyasın támiyinleydi, bunıń nátiyjesinde ol iondı polyar gruppaları menen «orap aladı». Sırtqı betinde payda bolǵan bul konformaciya molekulanıń polyarsız bólimin payda etedi. Lipofillik qásiyeti ionofor: kation kompleksiniń ekvimolyar emes dúzilisi nátiyjesinde de payda boladı.

Ionofor jáne bir juwap beriwi kerek bolǵan talaplarınan biri ol translokaciya processinde sonday kinetikanı támiyinlew kerek, bunda tasıwshınıń membrana arqalı háreketi 10^5 s^{-1} ke shekem bolıwı zárúr. Usı waqıttıń ózinde baylanıs konstantası optimal muǵdarda bolıwı kerek, komplekstiń payda bolıwı hám ajıralıw processleri maksimal tezlikte bolıwı talap qılınadı. Bul jaǵdayda ionoforlarda tek ǵana belgili bir birikpelerge tán bolǵan bir qatar qásiyetler bolıwı kerek.

1.2. Membranatrop mexanizm haqqındaǵı zamanagóy kóz – qaralar

1.2.1. Ionoforlardıń membranatrop tásiiri

Jasalma membranalarda ótkerilgen tájiriybelerde tioninler membranaǵa onıń betindegi specifikalıq receptorlardı isletpesten tuwrıdan – tuwrı tásir etiwı

kórsetilgen. *Pyrularia pubera* tioninleri menen ótkerilgen tájiriybelerde teris zaryadlangan membranalar on zaryadlangan tioninlerdin en basli tásir etiw orayı bolatuǵınlıǵı anıqlangan. Basqa tájiriybelerde, neytral hám kúshsiz kationlıq fosfolipidlerden quralǵan membranalar da liziske ushıraytuǵınlıǵı kórsetilgen.

Tioninlerdin membranaǵa destabillewshi táhiri boyınsha bir neshe eksperimental dáliyiller bar. Házirgi waqıtta tioninlerdin membranaǵa litik táhiri mexanizmi boyınsha *in vivo* hám *in vitro* tájiriybeler juwmaǵınan kelip shıǵıp úsh túrdegi gipoteza alǵa súrilgen.

Birinshi mexanizm (ion kanalların payda etiw modeli) tioninlerdin membranaǵa jaylasıp, ion – selektiv kanallardı payda etiwı menen túsiniriledi. Bul pikir petch – klamp metodı járdeminde ion toklarınıń baqlanıwı menen dáliyillenedi. Lekin bul maǵlıwmatlar kletkanın lizisi sebebi ion – selektiv kanallardıń payda bolıwına baylanıslı yamasa baylanıssız ekenligin tolıq túsinire almaydı.

Ekinshi mexanizm («gilem» sıyaqlı model) toksinler ayırım klasterlerdi payda etip membrananı modifizirlewı menen túsiniriledi. Klaster payda bolatuǵın orınlargá «gilem» bólimi degen atama berilgen. Bul uchastkalarda membrana qatadı hám bunın nátiyjesinde «gilem» zonasınıń átirapındaǵı oblastlarda membrananın suyılıwı gúzetiledi. Toksinler menen membrana arasındagı kóp muǵdardagı hár qıylı baylanıslar membrananın turaqsızlıǵına, sońınan buzılıwına alıp keledi.

1.2.2. Kanaloforlardın membranatrop táhiri

Jasalma membranalarda ótkerilgen tájiriybelerde peptidler membranaǵa onın betindegi specifikalıq receptorlardı isletpesten tuwrıdan – tuwrı tásir etiwı kórsetilgen. *Pyrularia pubera* peptidleri menen ótkerilgen tájiriybelerde teris zaryadlangan membranalar on zaryadlangan peptidlerdin en basli tásir etiw orayı bolatuǵınlıǵı anıqlangan. Basqa tájiriybelerde, neytral hám kúshsiz kationlıq fosfolipidlerden quralǵan membranalar da liziske ushıraytuǵınlıǵı kórsetilgen.

Peptidlerdiń membranaǵa destabillewshi tásiiri boyınsha bir neshe eksperimental dáliyiller bar. Házirgi waqıtta peptidlerdiń membranaǵa litik tásiiri mexanizmi boyınsha *in vivo* i *in vitro* tájiriybeler juwmaǵınan kelip shıǵıp úsh túrdegi gipoteza alǵa súrilgen.

Barlıq úsh túrdegi gipoteza boyınsha peptidlerdiń biologiyalıq membranalarǵa tásir etiw mexanizmi tómendegi súwrette kórsetilgen:

Birinshi mexanizm (ion kanalların payda etiw modeli) peptidlerdiń membranaǵa jaylasıp, ion – selektiv kanallardı payda etiw menen túsiniriledi. Bul pikir petch – klamp metodı járdeminde ion toklarınıń baqlanıwı menen dáliyillenedi. Lekin bul maǵlıwmatlar kletkanıń lizisi sebebi ion – selektiv kanallardıń payda bolıwına baylanıslı yamasa baylanıssız ekenligin tolıq túsinire almaydı.

Ekinshi mexanizm («gilem» sıyaqlı model) toksinler ayırım klasterlerdi payda etip membrananı modifizirlew menen túsiniriledi. Klaster payda bolatuǵın orınlarǵa «gilem» bólimi degen atama berilgen. Bul uchastkalarda membrana qatadı hám bunıń nátiyjesinde «gilem» zonasınıń átirapındaǵı oblastlarda membrananıń suyılıwı gúzetiledi. Toksinler menen membrana arasındǵı kóp muǵdardǵı hár qıylı baylanıslar membrananıń turaqsızlıǵına, sońınan buzılıwına alıp keledi.

Úshinshi mexanizm (membranı eritiw modeli) «gilem» zonasınıń payda bolıp, membrana turaqsızlanıwınan tısqarı, toksinniń membrana menen baylanısıwında júzege keletuǵın «gilem» uchastkası átirapındaǵı fosfolipidlerdiń erkin halda shıǵıp ketiw menen túsiniriledi.

Ion kanalların payda etiw modeli. Házirgi waqıtta peptidlerdiń effekti olardıń membranaǵa tásiiri menen baylanıslı degen túsinik ulıwmalasqan xarakterge iye. Bir qatar izertlewshiler tárepinen peptidler kation – selektiv ion kanalların payda etiw uqıplılıǵı kórsetilgen. α/β – Peptidler tásirinde ion kanallarınıń payda bolıwı jasalma qosqatlamlı membranalar menen ótkerilgen tájiriybelerde kórsetip berilgen. Bunday kanallar peptid eritpeleriniń nanomolyar koncentraciyalarınan **submikromolyar** koncentraciyalarına shekem anıqlanǵan.

Ádette, qosqatlamalı lipid membranalar $\sim 1\mu\text{M}$ koncentraciyadan baslap buzıladı hám bul muǵdar toksinnıń tiri kletkaǵa tásirindegi effektke tuwrı keledi. Jasalma qosqatlamalı lipid membranalarǵa paydalana otırıp, membrananı peptid menen tásirlestirgende onıń effekti bir saat aralıǵında gúzetilip, *in vivo* tájiriybeleri menen sáykes keledi. Puropeptidlerdiń zamarrıqlar hám sút emiziwshiler kletkalarına citotoksik qásiyeti úyrenilgen. Bunda puropeptidler kletka membranalarındaǵı lipid qosqatlamında Ca^{2+} hám K^{+} ushın kation – selektiv ion kanalların payda etip, olardıń ótkiziwshiligin ózgertedi. Bul tájiriybeler menen peptidlerdiń ion kanalların payda etiwı anıq dálıyillenip berildi. Lekin, lipid qosqatlamalarınń buzılıwı yamasa ionofor aktivliktiń baqlanıwı *in vivo* tájiriybelerindegi waqıt qanday bolsa, sonsha waqıtta ámelge asadı degen fakt birinshi dárejeli bolıp tabıladı. Sonlıqtan, birdey waqıtta birdey koncentraciyada membrana óz turaqlılıǵın joǵaltadı degen pikir stabil ion kanallarınıń payda bolıwına qarsı bolıp shıǵadı.

Membrananıń eriwi bolıp ótetuǵın modellerde onıń ayırım uchastkalar toksinler hújiminiń baslanǵısh stadiyalarında ion tasıwda qatnasadı. Bunnan tısqari, toksin molekulalarınń ólshemleri hám olardıń struktura payda etiwı tek ǵana ion kanalların modeliniń dúziliw imkaniyatın azaytadı. Mısalı ushın, Thevissen hám kásiplesleri ion – selektiv kanallar payda bolıw modelin antibiotikler hám **fluorecentn** boyagıshlar sıyaqlı birikpeler membranalar arqalı ótedi, biraq kanallardıń teoriyalıq ólshemleri buǵan jol qoymaydı degen argumentler menen biykarlaydı. Sonday – aq, peptidler, mısalı ushın, puropeptidler, jaqsı (300 mg/ml ge shekem) eriytuǵın zatlar; olardıń usı qásiyeti hámde tiykarınan zaryadlangan beti berilgen modeldi bir tekli emes, al quramalı ekenligin kórsetedi.

Qosqatlamalı lipid membranalar, sonıń menen birge bimolekulyar yamasa «qara» dep te atalatuǵın lipid membranalar, keń qollanılatuǵın eksperimental model bolıp tabıladı.

Bunday membranalarǵa struktura tiykarınan eki suwlı fazanı bóliwshi teflon tipindegi gidrofob materialǵa bekkemlengen bir lipid qosqatlam bolıp

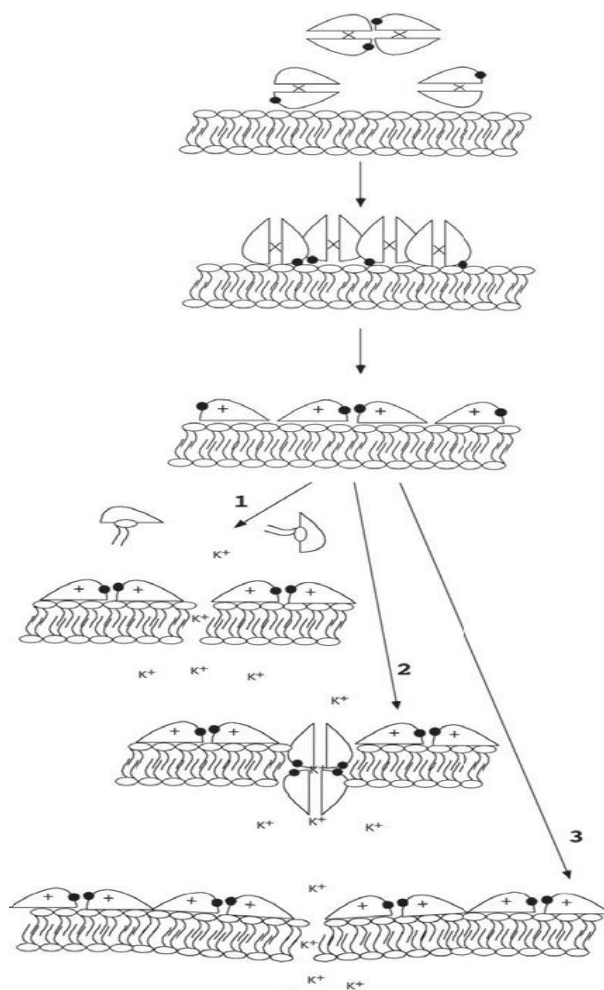
tabıladı. Bul tosıqtaǵı kishi tesikshedeǵı óz – ózinen payda bolatuǵın membrana sıyaqlı plyonka – birinshi bolıp amerikalıq ilimpaz P.Myuller tárepinen 1962 jılı usınılǵan. Bul usılda qosqatlamlı lipid membranalarǵı payda qılıw texnikası júdá ápiwayı bolıp esaplanadı. Lipidtiń organikalıq eritiwshideǵı eritpesinen kishi naysha járdeminde jıńışke teflon tosıqtaǵı diametri 1 mm bolǵan tesikshege jaǵıladı. Bunnan payda bolǵan plyonka dáslep jeterlishe juwan hám qaytqan jaqtılıqta kúlreń túste boladı. Keyinshelik bet hádiyseleri kúshi esabınan bir neshe minuttan keyin jıńışkelenip baradı hám eni 100 – 600 nm átirapında boladı. Nátiyjede, plyonkada qara daǵlar payda bola baslaydı, keyin bolsa onıń hámme jeri «qara» reńge kirip qaladı.

Bul eki lipid monoqatlamnıń bir keń qosqatlamǵa qosılıwı esabınan baradı. Qosqatlamlı lipid membranalarǵı payda qılıw ushın qálegen lipidten paydalanıw múmkin. Qosqatlamlı lipid membranalarǵı payda qılıw ańsat bolıp kóringen menen, onda islewde eksperimentatordan úlken qábiliyet, sabır hám shıdam talap qıladı. Payda bolǵan qosqatlamlı membrananıń turaqlılıǵındaǵı mashqala sonnan ibarat, ol qashan bolmasın, kóbinese eń kerekli waqıtta jarılıp ketiwi múmkin. Onıń ómiriniń waqtı ádette bir neshe minuttan baslap 1 – 3 saatqa shekem bolıwı múmkin.

Qosqatlamlı lipid membrananıń bul turaqsızlıǵı kóplegen faktorlarǵa, máselen: úlgide jaǵımsız aralaspalardıń payda bolıwı, lipidlerdiń oksidleniwi, ıdıs hám priborlardıń kirlewi, temperaturanıń terbeliwi, vibraciya, koncentraciya yaǵniy birden túsip ketiwi hám ortalıqtıń jabısqaqlıǵı sıyaqlı faktorlarǵa baylanıslı. Biraq, kem payda bolatuǵın lipid qosqatlamı júdá joqarı mexanikalıq turaqlılıq hám elastikalıqqa iye. Bunnan tısqarı qosqatlamlı lipid membranalar óziniń qısqa múddetli elektr maydanına salıstırǵanda joqarı shıdamlılıqqa iye ekenligi menen ajralıp turadı. Lipidli qosqatlam óziniń dielektrlik qásiyeti menen, házirgi waqıtta belgili bolǵan eń zor izolyatorlar máselen: qattı parafin, cirkoniyli farfor yamasa polivinilxlorid sıyaqlı materiallardan qalıspaydı. Sonıń ushın da qosqatlamǵa tásir qılatuǵın elektr maydan qaytımlı bolıp tabıladı: maydandı alıp taslaǵannan keyin membrana óziniń funkciyasın tolıq tikleydi.

Qosqatlamli lipid membranani model sistema sıpatında qollanıp, lipidtiń elektr tıǵızlıq, ótkiziwshilik, membrana potencialı sıyaqlı elektrlik qásiyetlerin úyreniw múmkin. Qosqatlamli lipid membrananiń usınday elektrlik qásiyetleri biologiyalıq membrana arqalı ionlar trasportın úyreniwde ayırıqsha áhmiyetke iye.

Házirgi kúnge kelip biologiyalıq membranalarıdaǵı hár túrli ion tasıwshı sistemalardı túrlishe metodlar menen úyreniw arqalı bir túrdegi mániske iye bolǵan maǵlıwmatlar alındı. Bul izertlewlerde biomembranalar hám model sistemalar arqalı selektiv ótkiziwshilikti támiyinlewshi tábiyiy hám sintetikalıq birikpeler júdá úlken áhmiyetke iye bolıp tabıladı. Membrana ótkiziwshiliginiń induktorları, hár túrli fizika – ximiyalıq qásiyetlerdiń bolıwına qaramastan, biologiyalıq aktiv birikpeler ózine tán klastı payda etedi.



1 – Súwret. Tioninlerdiń kletka membranasına tásir mexanizminiń sxemalıq kórinisi. 1 – membranani eritiw modeli; 2 – ion kanallarınıń payda bolıw modeli; 3 – «gilem» modeli.

Úshinshi mexanizm (membrananı eritiw modeli) «gilem» zonasınıń payda bolıp, membrana turaqsızlanıwınan tısqarı, toksinniń membrana menen baylanısıwında júzege keletuǵın «gilem» uchastkası átirapındaǵı fosfolipidlerdiń erkin halda shıǵıp ketiwi menen túsindiriledi..

Barlıq úsh túrdegi gipoteza boyınsha tioninlerdiń biologiyalıq membranalarǵa tásir etiw mexanizmi 1 – súwrette kórsetilgen.

1.2.3. Detergentlerdiń membranatrop tási

Házirgi waqıtta tioninlerdiń effekti olardıń membranaǵa tási menen baylanıslı degen túsinik ulıwmalasqan xarakterge iye. Bir qatar izertlewshiler tárepinen tioninler kation – selektiv ion kanalların payda etiw uqıplılıǵı kórsetilgen. α/β – Tioninler tásirinde ion kanallarınıń payda bolıwı jasalma qosqatlamlı membranalar menen ótkerilgen tájiriybelerde kórsetip berilgen. Bunday kanallar tionin eritpeleriniń nanomolyar koncentraciyalarınan submikromolyar koncentraciyalarına shekem anıqlanǵan. Ádette, qosqatlamlı lipid membranalar $\sim 1\mu\text{M}$ koncentraciyadan baslap buzıladı hám bul muǵdar toksinnıń tiri kletkaǵa tásirindegi effektke tuwrı keledi.

Jasalma qosqatlamlı lipid membranalarǵa paydalana otırıp, membrananı tionin menen tásirlestirgende onıń effekti bir saat aralıǵında gúzetilip, *in vivo* tájiriybeleri menen sáykes keledi. Purotioninlerdiń zamarıqlar hám sút emiziwshiler kletkalarına citotoksik qásiyeti úyrenilgen. Bunda Purotioninler kletka membranalarındaǵı lipid qosqatlamında Ca^{2+} hám K^{+} ushın kation – selektiv ion kanalların payda etip, olardıń ótkiziwshiligin ózgertedi. Bul tájiriybeler menen tioninlerdiń ion kanalların payda etiwı anıq dálillenip berildi. Lekin, lipid qosqatlamlarınıń buzılıwı yamasa ionofor aktivliktiń baqlanıwı *in vivo* tájiriybelerindegi waqıt qanday bolsa, sonsha waqıtta ámelge asadı degen fakt birinshi dárejeli bolıp tabıladı. Sonlıqtan, birdey waqıtta birdey koncentraciyada membrana óz turaqlılıǵın joǵaltadı degen pikir stabil ion kanallarınıń payda bolıwına qarsı bolıp shıǵadı.

Membrananın eriwi sadır bolatuǵın modellerde onıń ayırım uchastkaları toksinler hújiminiń baslanǵısh stadiyalarında ion tasıwda qatnasadı. Bunnan tısqarı, toksin molekulalarınń ólshemleri hám olardıń struktura payda etiwı tek ǵana ion kanalların modeliniń dúziliw imkaniyatın azaytıadı. Mısalı ushın, Thevissen hám kásiplesleri ion – selektiv kanallar payda bolıw modelin antibiotikler hám **fluorescentnı** boyagıshlar sıyaqlı birikpeler membranalar arqalı ótedi, biraq kanallardıń teoriyalıq ólshemleri buǵan jol qoymaydı degen argumentler menen biykarlaydı. Sonday – aq, tioninler, mısalı ushın, Purotioninler, jaqsı (300 mg/ml ge shekem) eriytuǵın zatlar; olardıń usı qásiyeti hámde tiykarınan zaryadlangan beti berilgen modeldi bir tekli emes, al quramalı ekenligin kórsetedi.

1.3. Ayırım fiziologiyalıq aktiv zatlardıń membranatrop tásiri menen biologiyalıq effekti arasındagı baylanıs

1.3.1. Ionoforlardıń biologiyalıq effektleri

Ekinshi modelge sáykes, membrana betinde akkumulirlengen peptidlerdiń joqarı tıǵızlıǵı, fosfolipid uchastkalarında jańa qásiyetke iye klasterlerdiń payda bolıwına hám membrana ótkiziwshiliginiń ózgeriwine sebepshi boladı. Jaqın kúnlerge shekem toksikliktiń «gilem» modeli eń anıq gipoteza dep esaplanıp kelgen.

Membrananın fizikalıq parametrlerin ózgeriwi, ásirese membrana aǵıwshılıǵınıń tómenlewi, olardıń barerlik qásiyetindegi ózgerislerdi keltirip shıǵaradı, nátiyjede membrananın buzılıwına alıp keledi. Membrana betinde akkumulirlengen peptidlerdiń joqarı tıǵızlıǵı ornaǵan waqıtta yamasa toksinniń eritpedegi buǵan sáykes koncentraciyasında membranada qaytımsız energetikalıq qayta strukturalanıw sadır boladı hám onıń turaqlılıq buzıladı. Bul kóz – qarastan, membrananın buzılıwı onıń eriwi arqalı baqlanadı hám ion – kanallarınıń payda bolıwına alıp kelmeydi. Monoqatlamlı model membranalarda

alıp barılğan tájiriýbeler nátiýjeleri olardıń Viskotoksin A₃ penen tásirlesiwinde elektrostatikalıq kúshler basım bolatuǵınlıǵın kórsetedi.

Bul jaǵdayda eki túrli tásirlesiw orınlı bolıp, olar membrananın qatıw effektine alıp keletuǵın peptid muǵdarına baylanıslı. Bul model principi boyınsha isleytuǵın peptidlerden biri góbelek gemolimfasınan ajratılıp alınğan *Cecropin* bolıp tabıladı. Magaininler de mikroorganizmlerge usı mexanizm boyınsha tásir etedi. Lekin, magaininler bárinen burın tesikler yamasa kanallar agregatların payda etip aralıq stadiya boyınsha óz funkciyasın ámelge asıradı. Solay etip, kanallardıń hám «gilem» zonalarınıń payda bolıwı membrana ótkiziwshiliginiń toksin tipine baylanıslı eki aspekt – onıń koncentraciyası hám tásir etiw waqtı boyınsha ámelge asadı.

Barlıq tioninlerdiń kristall strukturaları membranada ótkiziwshiliktiń belgili bir uchastkaların payda etiwiniń potencial qábiliyetin boljawǵa imkaniyat beredi. Bul máselede Debrezen hám kásiplesleriniń alıp barǵan jumısları ayırıqsha orındı tutadı. Olardıń nátiýjelerinde, Viskotoksin molekulasınıń japıraq sıyaqlı iyiliwinde qatnasatuǵın organikalıq emes fosfat ionınıń gidrofob motivi «gilem» zonaların payda etiwde tiykargı faktor bolıp esaplanatuǵınlıǵı kórsetilgen.

Bunnan tısqarı, Vernon hám Rogers tárepinen toksin koncentraciyasınıń artıwı menen payda bolǵan uchastkalardıń ólshemleri de joqarılap baratuǵınlıǵınıń anıqlanıwı berilgen modeldi jáne bir márte dáliýilleydi.

1.3.2. Kanaloforlardıń biologiyalıq effektleri

Jaqın kúnlerge shekem toksikliktiń «gilem» modeli eń anıq gipoteza dep esaplanıp kelgen. Rentgenostrukturalıq analiz metodı menen barlıq belgili bolǵan tioninler óz quramında tutatuǵın specifikalıq baylanısw ornı bar ekenligi anıqlanǵan. Bul orın fosfolipid penen baylanısw bólimi dep bolǵan. Rentgen nurlarınıń shashılıwın hám fluorescent anizotropiyanı ólshew arqalı tioninler eritpelerde dimer yamasa tetramer strukturaǵa iye bolatuǵın burıńǵı gipoteza dáliýillendi. Sońınan, tioninler belok – lipid kompleksler payda etiw uqıplılıǵı,

sonday – aq olar ayırım fosfolipidlerdi eritiw qábiliyetine iye ekenligi de kórsetildi. Krambinniń biologiyalıq membranaǵa tásin hár qıylı zondlar járdeminde EPR – spektri arqalı úyreniwdiń nátiyjeleri bul tioninniń sarkoplazmatikalıq retikulum membranasınıń lipid matriksine meyilligi hám onıń molekulasınıń membranaǵa kiriwinde lipid matriksi barlıq profilde tártipsiz halǵa keletuǵınlıǵı haqqında derek beredi. Krambin hám α – Purotionin molekularınıń bunday tásiiri differencial skanirlewshi kalorimetriya metodı menen de tastıyqlanǵan. Bunda, α – Purotionin liposomaǵa tásir etip, teris zaryadlanǵan fosfolipid vezikulalar agregaciyasın inducirleydi.

YaMR metodı menen *Pyricularia* tárepinen ajratıp alınǵan tioninlerdi úyreniwde fosfolipid membranaǵa tioninlerdiń toksik tásiriniń tek ǵana Tyr13, Arg10, Trp8 aminokislota qaldıqları emes, al joqarı konservativ Lys1 tutatuǵın jańa molekulyar mexanizmi usınılǵan. Aktivlenbegen halında toksinler oligomer (dimer yamasa tetramer) lerdi payda etedi hám olardı aktiv emes formada uslap turatuǵın organikalıq emes fosfor menen baylanısqa boladı. Oń zaryadlanǵan tioninler elektrostatalıq kúshler tásirinde teris zaryadlanǵan membranaǵa jaqınlasadı. Birinshi fazada oligomerler dissociaciyalanadı hám gidrofob spiralları bul etapta membrana menen asociaciyalanadı. Bunday tájiriybelerde tionin kletka membranası menen tásirleskende, gidrofob oblasttaǵı Trp8 aminokislota qaldıǵı membranaǵa kiriwi kórsetilgen.

Ekinshi stadiyada joqarı oń zaryadlı tioninler membrana menen tásirleskende fosfolipidler segregaciyasına hám oń zaryadlanǵan «patch» – uchastkalardıń payda bolıwına alıp keledi. Bul uchastkalar membrananıń eriw temperaturası sıyaqlı qásiyetlerin geriske ushıratadı. Giudici hám kásiplerleriniń kórsetiwine qaraǵanda, membrana sıyıqlıq – gel ótiw seriyaların basıp ótedi. Membrananıń eki túrli potencial aspektleri boljap berilgen: membrananıń belgili bir bóleginiń qattı bolıwı hám onıń aralıq shegaralardaǵı aǵıwshılıǵı. Bunday qásiyet teris zaryadlanǵan patch – uchastkalar upakovkası erkin energiyanı tómendetedi hám fosfolipidler membrananıń qattı uchastkaları bólimlerinen shıǵıp ketedi degen juwmaq penen sáykes keledi. Trp8 ximiyalıq modifikaciyası

tájiriybeleri teris zaryadlangan uchastkalardıń tómen intensiv jıynalıwına hám peptidler toksikliginiń páseyiwine alıp kelgen.

1.3.3. Detergentlerdiń biologiyalıq effektleri

Membranada dissociaciyalangan monomerler orientaciyasın ózgeritiwi múmkin, bunda Tyr13 qaldıǵı fosfolipidtiń fosfat bólimi tárepinde jaylasadı. Kisloata shınjırları bolsa tionin molekulasında tıǵız jaylasqan boladı. Toksinniń fosfolipid penen baylanısıw processı lokal tárizde membrananiń qattılıǵın arttıradı, sonıń menen bir qatarda patch – zonaları arasında membrana aǵıwshılıǵın joqarılataadı. Bul effekt Coulon hám kásiplesleriniń gipotezasında kórsetilgenindey, fosfolipidlerdiń shıǵıp ketiwin hám aqırında membrananiń buzılıwın túsindiriw ushın jeterli. Toksin tásirinde fosfolipidlerdiń shıǵıp ketiwi membrananiń tábiyyı dúzilisın ózgerterdi, aǵıwshılıǵın joqarılataadı hám onıń komponentleriniń háreketleniwine tásir etedi. Bul processler turaqsız tesiklerdiń payda bolıwına sebepshi bolıp, fosfolipidlerdiń sezilerli dárejede joǵalıwına hám nátiyjede membrana lizisine alıp keledi. Membrananiń buzılıw processı onıń baslanǵısh depolyarizaciyası, kletka sırtındaǵı kalciydiń kiriwi hám fosfolipaza A aktivaciyası arqalı tezlestiriliwi múmkin.

Sunday – aq, ósimlik biocid peptidleriniń joqarıda ayılǵan mexanizmlerinen tısqarı, toksik polipeptidler ushın kislotalıq fosfolipidlerdiń membranalıq receptor – domenleri de bar. *Pyricularia pybera* tionini ushın joqarıda belok receptorı bar bolıwı boljap ayılǵan bolsa da, onı ajratıp alıp, identifikaciyalawı boyınsha urınıwlar házirge shekem tabıslı ámelge asırılmaǵan. Bıraq, v otvet *Pyricularia pybera* tionininiń tásirine juwap retinde timocitler kletkasınıń ishindegi depodan membrana menen baylanısqa Ca^{2+} diń erkin halǵa ótiwi boyınsha tájiriybeler nátiyjeleri belok receptorınıń hám kletka ishindegi processlerdiń quramalıraǵı aktivleniw mexanizminiń bar ekenliginen derek beredi.

Anethum graveolens hám *Daucus carota sativa* tuqımlarınan ajratıp alınǵan peptidlerdiń kation frakciyaları *Verticillium dahliae* zamarrıǵınıń

patogen shtampınıń ósiwin ingibirlewi anıqlandı. Bul peptidlerdiń patogenlerge qarsı fungicid effektiniń molekulyar mexanizmlerinen biri – tioninlerdiń fosfolipid qosqatlamda ion – ótkeriwshi strukturalardı payda etip, kletka membranasındaǵı lipid matriksiniń dáslepki upakovkasında defektlerdi keltirip shıǵarıwı menen baylanıslı bolıwı múmkin.

Sonıń ushın, *Anethum graveolens* hám *Daucus carota sativa* tuqımlarınan ajıratıp alınǵan peptidlerdiń kation frakciyalarınıń jasalma hám biologiyalıq membranalarǵa tásiiri úyrenildi.

II BAP. TÁJIRIYBE BÓLIMI

2.1. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń jasalma membranalarǵa tásirin úyreniw usılları

2.1.1. Ionoforlardıń membranaaktiv qasıyetlerin úyreniw usılları

2.1.1.1. Qos qatlamlı lipid membranalar ushın Ringer eritpesin tayarlaw

Diterpenoidlar 10^{-3} M koncentraciyada dimetilsulfoksidte eritildi. Tájiriybe ushın kerekli eritpelerdi tayarlawda bidistillengen suw hám pH mánisi 7,4 bolǵan 1 mM tris – HCl buferi isletildi. Membrananı juwıp turıwshı ortalıq sıpatında Ringer eritpesi qollanıldı. Onıń quramı: 140 mM NaCl, 6 mM KCl, 1 mM CaCl_2 , 1,5 mM MgCl_2 , 10 mM Tris – HCl eritpelerinen ibarat. Barlıq reaktivler “x.ch.” hám “ch.d.a.” gradacıyalarında paydalanıldı («Sigma», USA). Tájiriybeler $25 \pm 1^\circ\text{C}$ temperaturada alıp barıldı.

2.1.1.2. Qos qatlamlı lipid membranalarǵa ótkiziwsheńligin úyreniw

Jasalma qos qatlamlı lipid membranalar Montal – Myuller metodu boyınsha eki kameralı teflon yacheyka tosıǵındaǵı diametri 200 mkm bolǵan tesikte membrana payda etiwshı eritpe járdeminde júzege keltirildi. Tájiriybeden aldın fosfolipidler (azolektin) 2 mg/100 mkl koncentraciyada n – oktanda eritildi. Stacionar volt – amper xarakteristikalar tómendegishe tárizde úyrenildi. Izertlenip atırǵan zat tásirinde ótkiziwsheńligi stacionar dárejege jetken membranaǵa oń hám teris polyarlıqtaǵı ($0 \text{ mV} - V_t - 0 \text{ mV}$) tuwrı múyeshli kernew impulsleri (V_t) berildi, olardıń dawamlılıǵı (0,1-1,0 min) transmembranalıq toktıń jańa stacionar mánisiniń qalıplesiwi ushın jeterli edi. Modifikaciyalangán membrananıń kation – anion selektivligi nolinshi tok potencialınıń mánisi menen bahalanadı. Bul potencial membrana arqalı ótetuǵın toktı nolde uslap turıw ushın 1:1 hám 1:2 elektrolitler (*cis/trans* 50/150 mM; hám *cis/trans* 5/15 mM) aktivliginiń úsh eseli gradienti qatnasında qosqatlamǵa beriliwi kerek bolǵan potencial bolıp esaplanadı.

2.1.1.3. Ionofoz – kation tipindeki kompleks stexiometriyasını anıqlaw

Bimolekulyar lipid membrananın kation – anion selektivligi 20/10 mM sistemasında 1 hám 2 valentli metallardı salıstırğanda hám 10/10 mM sistemasında 2 valentli metallardı salıstırğanda biionlıq potenciallar mánisleri boyınsha bahalanadı.

Birdey túrdegi valentliktegi kationlar ushın ótkiziushilik koefficientiniń baylanışılıǵı ideal selektiv membrana ushın Goldman teńlemesi arqalı esaplanadı:

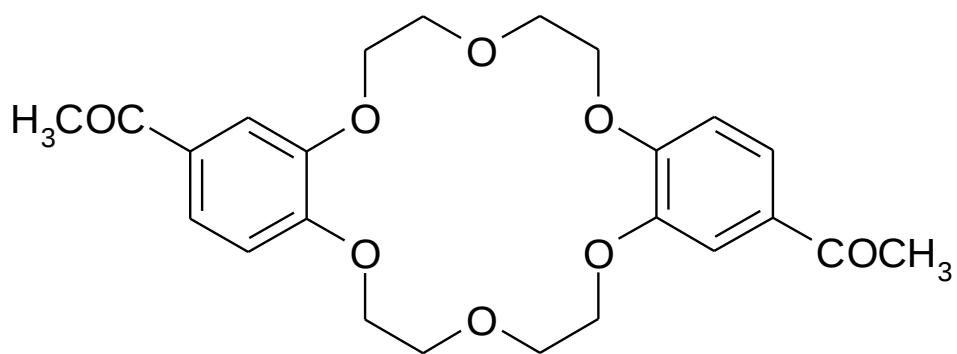
$$\frac{P_{K1}}{P_{K2}} = \exp \left[\frac{V^*}{\left(\frac{RT}{F_z} \right)} \right]$$

bul jerde: P_{K1} hám P_{K2} – salıstırılıp atırğan kationlardıń sáykes túrdegi ótkiziushilik koefficienti; V^* – ion potenciali; R – universal gaz turaqlısı; T – absolyut temperatura; F – Faradey turaqlısı; z – valentlik.

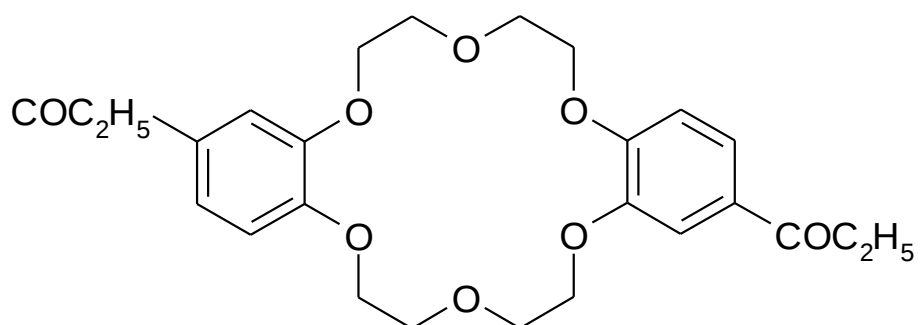
2.1.2. Kanalofozların membranaaktiv qasiyetlerin úyreniw usılları

2.1.2.1. Qos qatlamlı lipid membranaların ótkiziushenligin úyreniw

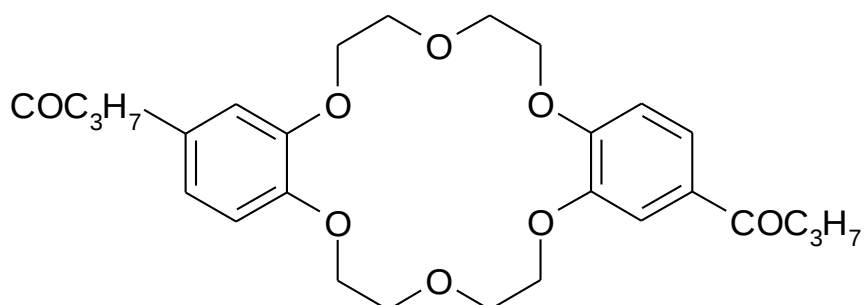
Úyrenilgen makrocikllik hám psevdocikllik birikpelerden (3 – súwret): 4',4''(5'') – diacetil-DB18K6 (1), 4',4''(5'') – dipropionil – DB18 (2) hám 4',4''(5'') – dioktanoil – DB18K6 (5) Ca^{2+} – kompleksonlar; 4',4''(5'') – dibutilil – DB18K6 (3) hám 4',4''(5'') – divaleril – DB18K6 (4) Ca^{2+} – Ionofozlar; 4',4''(5'') – dimetiletanolamin – DB18K6 (6) hám bis – O – metoksi – fenoksi – dietil efir (11) – Ca^{2+} – kanaloformerler bolıp tabıladı. Suwda eriwshi DB18K6 – sulfotuwindıları: 4' – tret – butyl – 4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota (7), 4' – acetil – 4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota (8), 4' – DB18K6 – sulfokislota (9) hám 4',4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota (10) K^+ ionlarına salıstırılmalı túrde kanaloformerlik qasiyetlerdi kórsetedi.



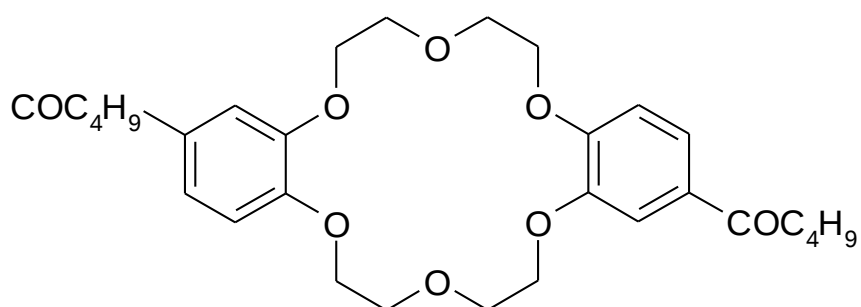
4',4''(5'') – diacetyl-DB18K6 (1)



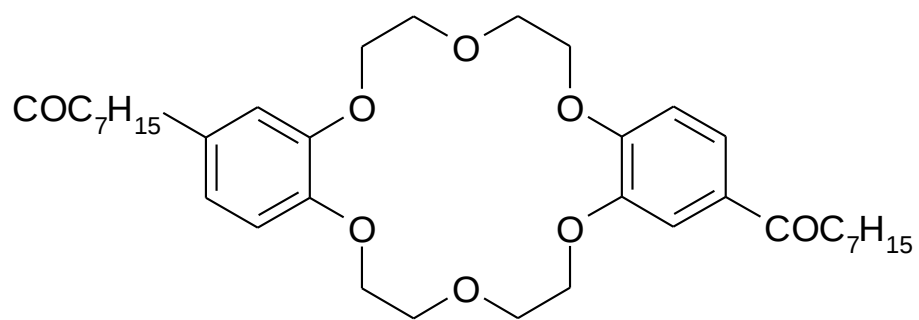
4',4''(5'') – dipropionil – ДБ18 (2)



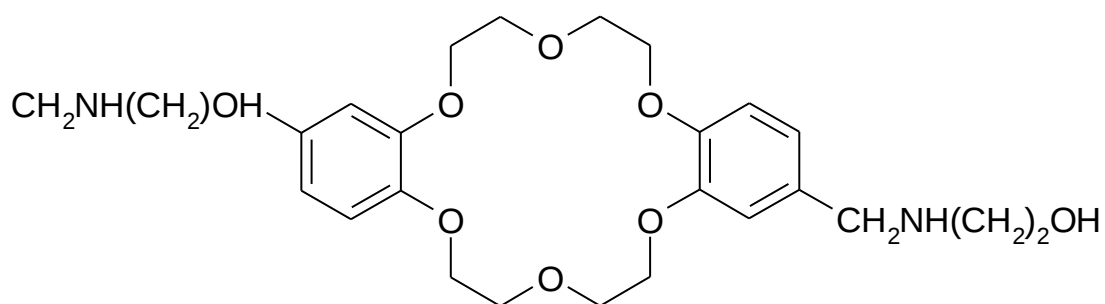
4',4''(5'') – dibutilil – DB18K6 (3)



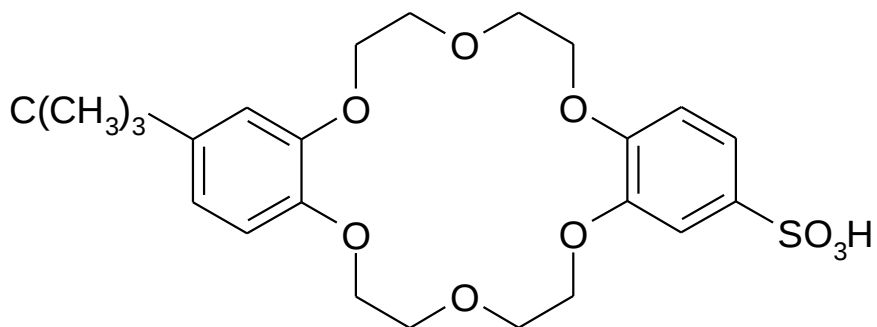
4',4''(5'') – divaleril – DB18K6 (4)



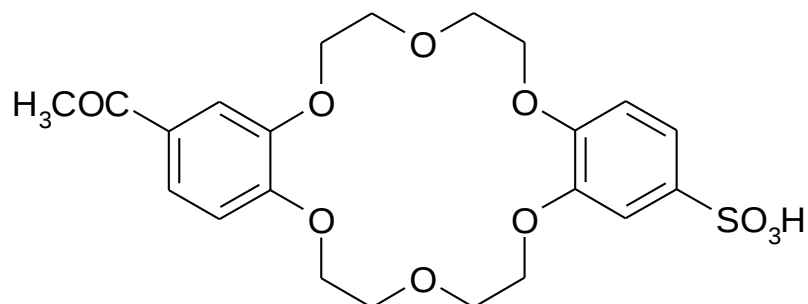
4',4''(5'') – dioktanoil – DB18K6 (5)



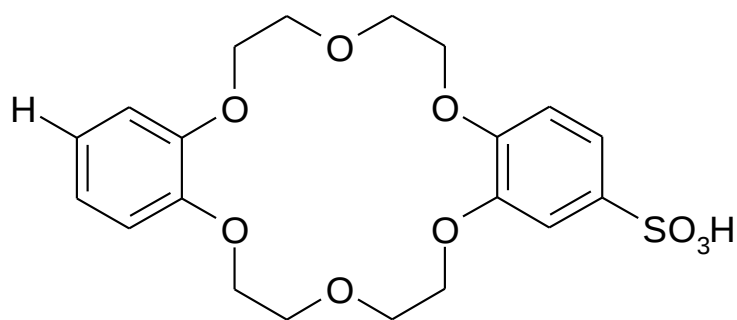
4',4''(5'') – dimetiletanolamin – DB18K6 (6)



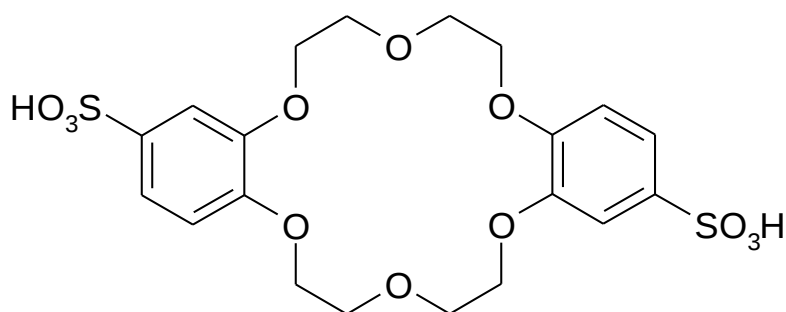
4' – *tert* – butyl – 4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota (7)



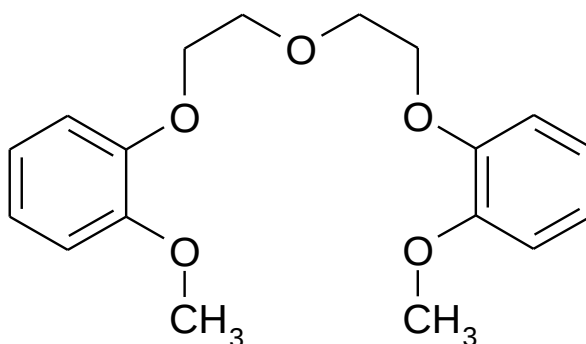
4' – acetil – 4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota (8)



4' – DB18K6 – sulfokislota (**9**)



4',4''(5'') – DB18K6 – disulfokislota (**10**)



Bis – O – metoksi – fenoksi – dietil efir (**11**)

Qosqatlamli lipid membrananiñ elektr sıymılgı membranğa generatorıdan (G6 – 34) periodlıq rejimde 10 V/sek razvertka tezliginde hám 20 – 30 mV kernew amplitudasında shıǵatúǵın simmetriyalıq úsh múyeshli kernew impulsleri beriliw arqalı transmembranalıq tok amplitudalarınan anıqlandı. Payda etilgen mebranalardıñ sıymılgı ádette $0,75 \pm 0,03$ mkf/sm² mánisine teń boldı. Stacionar volt – amper xarakteristikalar tómendegishe tárizde úyrenildi. Izertlenip atırǵan zat tásirinde ótkiziwshiligi stacionar dárejege jetken

membranağa oń hám teris polyarlıqtağı (0 mV- V_t -0 mV) tuwrı múyeshli kernew impulsleri (V_t) berildi, olardıń dawamlılıǵı (0,1-1,0 min) transmembranalıq toktıń jańa stacionar mánisiniń qalıplesiwi ushın jeterli edi.

2.1.2.2. Membranalarda payda bolǵan kanaldıń strukturasını izertlew

Selektivlilik bir waqıttıń ózinde qosqatlamnıń eki tárepinde 1:1 hám 2:1 elektrolitler qatnasqanda tómendegi formula arqalı tabıldı:

$$V^* = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{aMe_o + 4 \left(\frac{P_2'}{P_1} \right) aCa_o}{aMe_i + 4 \left(\frac{P_2'}{P_1} \right) aCa_i \times \exp \left(\frac{FV^*}{RT} \right)} \right)$$

bul jerde: $P_2' = \frac{P_2}{1 + \exp \left(\frac{FV^*}{RT} \right)}$; aCa_o hám aMe_o , aCa_i hám aMe_i sáykes túrdegi

qosqatlamnıń *cis* hám *trans* tárepindegi Ca^{2+} ionlarınıń hám salıstırılıp atırǵan elektrolittiń aktivligi.

2.1.3. Detergentlerdiń membranaaktiv qasiyetlerin úyreniw usılları

Qosqatlamnıń payda bolıwı oscillograf (tok sıyımlılıǵınıń ózgeriwi 1 V/sek razvyorkada 300 – 400 pF) járdeminde baqlap barıldı. Jeke ion kanallarınıń xarakteristikaların ólshew EPC – 7 (HEKA, Germaniya) usiliteli járdeminde + 50 mV mánisinde potencialdı fiksaciyalaw rejiminde membrana potencialın fiksaciyalaw arqalı ámelge asırıldı. Xlor – gúmis elektrod potenciallar ayırmashılıǵı ± 1 mV mánisinen artpadı.

Bir (P_1) hám eki (P_2) valentli kationlar ushın ótkiziwshilik koefficientiniń baylanıslılıǵı A.Shamu tárepinen usınılǵan formula arqalı esaplanadı:

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

bul jerde: a_{Ca} hám a_{Me} – Ca^{2+} ionınıń hám salıstırılıp atırǵan bir valentli kationnıń aktivligi.

2.2.1. Qos qatlamlı lipid membranalarǵıń ótkiziwsheńligin úyreniw

Potencial (ádette +50 mV) eksperimental yacheykanıń *cis* – ocegine berildi. Potencial mánisi sanlı voltmetr járdeminde kontrollanıp turıldı. Eksperimental yacheykanıń *trans* – ocegi virtual jer wazıypasın atqardı. Shıǵıwshı signal KSP – 4 samopis potenciometrde registraciyalandı. Membrana ótkiziwsheńligi (G) tómendegishe formula menen anıqlandı: $G=I/V$, bunda I – membrana arqalı ótiwshı tok, al V – *cis* – ocektegi potencial.

Tájiriybede VL 1MZ standart AgCl elektrodlardan paydalanılıp, ol ólshenip atırǵan yacheyka menen aǵarlı kópirsheler arqalı baylanıstırıldı. Modificirlenbegen qosqatlamlı membrana ótkiziwsheńligi 5 pS ten artpadı. Qosqatlamlı lipid membrananıń elektr sıyımlıǵı membranaǵa generatordan (G_6 – 34) periodlıq rejimde 10 V/sek razvyortka tezliginde hám 20 – 30 mV kernew amplitudasında shıǵatuǵın simmetriyalıq úsh múyeshli kernew impulsleri beriliw arqalı transmembranalıq tok amplitudalarınan anıqlandı. Payda etilgen mebranalarǵıń sıyımlıǵı ádette $0,75 \pm 0,03$ mkF/sm² mánisine teń boldı.

2.2.2. Membranalarǵı destrukciyalanǵan strukturalardı izertlew

Peptid eritpelerin tayarlawda bidistillengen suw hám pH mánisi 7,4 bolǵan 1 mM tris – HCl buferi isletildi. Membrananı juwıp turıwshı ortalıq sıpatında Ringer eritpesi qollanıldı. Onıń quramı: 140 mM NaCl, 6 mM KCl, 1 mM CaCl₂, 1,5 mM MgCl₂, 10 mM Tris – HCl eritpelerinen ibarat; pH mánisi 7,4 ke teń. Barlıq reaktivler “x.ch.” hám “ch.d.a.” gradaciýalarında paydalanıldı («Sigma», USA). Tájiriybeler $25 \pm 1^\circ\text{C}$ temperaturada alıp barıldı.

Házirgi waqıtta biocid peptidlerdi ajratıp alıw ushın bir qatar metodlar paydalanıladı. Bunda yáki suıyltırılǵan kislotaların dúzli eritpeleri yamasa suwlı buferler menen ekstrakciyalap erkin peptidler ajratıp alınadı yáki petroley

efir menen ekstrakciyalaw arqalı belok – peptid kompleksi túrinde alınıp, keyin bul kompleks gidrolizlenenedi.

Anethum graveolens hám *Daucus carota sativa* tuqımınan ajıratıp alıńan biocid peptidlerdiń joqarı koncentrlengen kation frakciyaları izertlew obektleri sıpatında alındı.

2.2. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń biologiyalıq membranalarǵa tásirin úyreniw usılları

2.2.1. *Timocitler ushın Ringer eritpesin tayarlaw*

Biocid peptidlerdiń biologiyalıq mebranaǵa tásirin úyreniw boyınsha tájiriybeler 6 – 8 háptelik 100 – 150 gramm salmaqtaǵı aq krisalarda ótkerildi. Olardıń timusı qosımsha 5 mM glyukoza qosılǵan normal Ringer eritpesinde ajıratıp alındı. Bunday timus bir tekli massa alıńansha jaqsılap tazalandı. Bul massa yacheyka ólshemi 100 mkm bolǵan neylon setka járdeminde filtrlendi. Sońınan suspenziya normal Ringer eritpesi menen 2 – 3 márte juwılıp, 1000 g da 5 minut dawamında centrifugalandı. Shókpe normal Ringer eritpesinde qayta suspenziyalandı. Kletkalar muǵdarı Goryaev kamerasında sanaldı. Standart probirkaǵa 10 mkl kletka preparatı (107 kletka/ml átirapında) hám 10 mkl kók tripan eritpesi quyıldı. Sońınan, 3 minut dawamında 100 kletkadan sanap barıldı (aspan kók reńge kirgenler – nabıt bolǵan, al reńge boyalmaǵanlar – tiri timocitler ekenligin ańlattı). Normal Ringer eritpesi menen kletka suspenziyaları aqırǵı koncentraciya 100×10^6 kl/ml bolǵanǵa shekem suyıtırıldı.

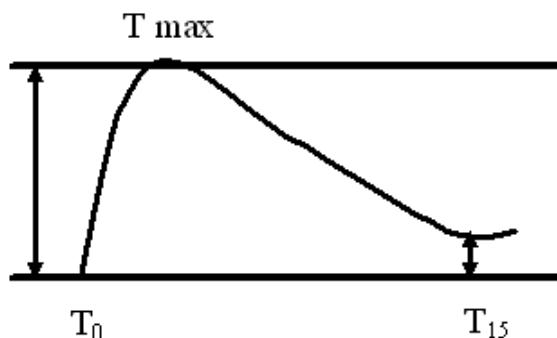
2.2.2. *Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń timocitler kóleminiń kemeyiwe tásirin anıqlaw*

Tájiriybelerde MKMF – 1mikrokolorimetrinde nur ótkeriw mánisine qaray kletka kólemin registraciyalaw metodı qollanıldı. Nur ótkeriw maksimumı 610 nm de bolǵan svetofiltr paydalanıldı. Shıǵıwshı signal KSP – 4I samopisec járdeminde registraciyalandı. Tájiriybe barısında, normal Ringer eritpesin tutqan

900 mkl kólemdegi ortalıq (kontrol), yáki basqa tekseriliwshi eritpeler, U – 3 (Germany) suwlı termostat járdeminde turaqlı temperaturada uslap turılǵan shiyshe kyuvetaǵa jaylastırıldı. 10 minuttan soń yacheykaǵa kletka suspenziyasınıń alikvotası (100 mkl) qosıldı. Izertleniwshi zatlar koncentrlengen baslanǵısh eritpelerinen alıp qosıldı. Kletkalar kóleminiń regulyaciyası 2 – súwrette kórsetilgen sxema boyınsha hámde tómendegishe formula menen esaplandı:

$$RVD = (T_{\max} - T_{15}) / (T_{\max} - T_0),$$

bunda T_0 hám $T_{\max}$ – sáykes túrde gipotonikalıq shoktan aldın hám kletkanıń isiniw pigindegi 610 nm diapozonda nur ótkeriw; T_{15} – gipotonikalıq shoktan 15 minut keyinge nur ótkeriw.



2 – súwret. Kólemiń regulyatorlıq kemeyiwın (RVD) anıqlaw sxeması

Alınǵan nátiyjeler student kriteriyasın esaplawdıń ayırmashılıǵı tuwrıdan – tuwrı bolmaǵan metodı arqalı statistikalıq qayta islendi. Statistikalıq isenimli ayırmashılıqlar sıpatında $p < 0,05$ bolǵandaǵı mánisleri alındı. Barlıq úyrenilgen kórsetkishlerdiń ólshem birlikleri SI sistemasında berilgen.

2.2.3. Timocit kletkaları kólemiń kemeyiwın regulyaciyası processiniń fiziologiyalıq aktiv zatlardıń koncentraciyalarına baylanıslılıǵın úyreniw

Timocitler ushın Ringer eritpesiniń muzlaw temperaturasınıń tómenlewi boyınsha anıqlanǵan osmoslılıǵı 300 ± 2 mOsm/kg H_2O mánisine teń (osmometr OM802, Vogel, Germany). KCl – Ringer eritpesinde barlıq natriy xloridi muǵdarı kaliy xloridi menen almasırlanǵan. Gipotonikalıq eritpeler KCl – Ringer

eritpesin 15 mM HEPES, 1 mM CaCl₂, 1.5 mM MgCl₂ quramına iye, pH 7,4 hám osmoslılıǵı 34±2 mOsm/kg H₂O mánislerine iye bolǵan H – bufer menen suıtırılıw jolı arqalı tayarlandı. Alınǵan gipotonikalıq eritpelerdiń osmolyarlıǵı tómende keltirilgen formula boyınsha esaplandı:

$$P=(P_R V_R + P_H V_H)/(V_R + V_H)$$

bunda P_R hám P_H – sáykes túrde Ringer hám H – bufer eritpeleriniń osmoslılıǵı, V_R hám V_H – bul eritpelerdiń kólemleri. Qollanılǵan kólemler hám gipotonikalıq eritpelerdiń osmoslılıǵınıń qatnasları 1 – tablicada keltirilgen.

1 – Tablica. Gipotonikalıq eritpelerdiń quramı hám osmoslılıǵı

Eritpe №	Ringer eritpesi (ml)	H-bufer (ml)	Aqırǵı osmoslılıq (mOsm/kg H₂O)	Osmoslılıq gradienti (mOsm/kg H₂O)
1	7	0	300	0
2	6	1	262	38
3	5	2	224	76
4	4	3	186	114
5	3	4	148	152
6	2	5	110	190

Biocid peptidler tásirinde qosqatlamlı lipid membranalarǵa elektrlik xarakteristikaların hám kletka kóleminiń reguliyatorlıq kemeyiwini registraciyalaw Graph Digitizer 2.15, Microsoft Office – 2003 hámde Origin 6 (Microsoft, USA) standart programmalar paketleri járdeminde kompyuterde ámelge asırıldı.

III BAP. IZERTLEW NÁTIYJELERI HÁM OLARDÍ DODALAW

3.1. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń jasalma membranalarǵa tásiiri

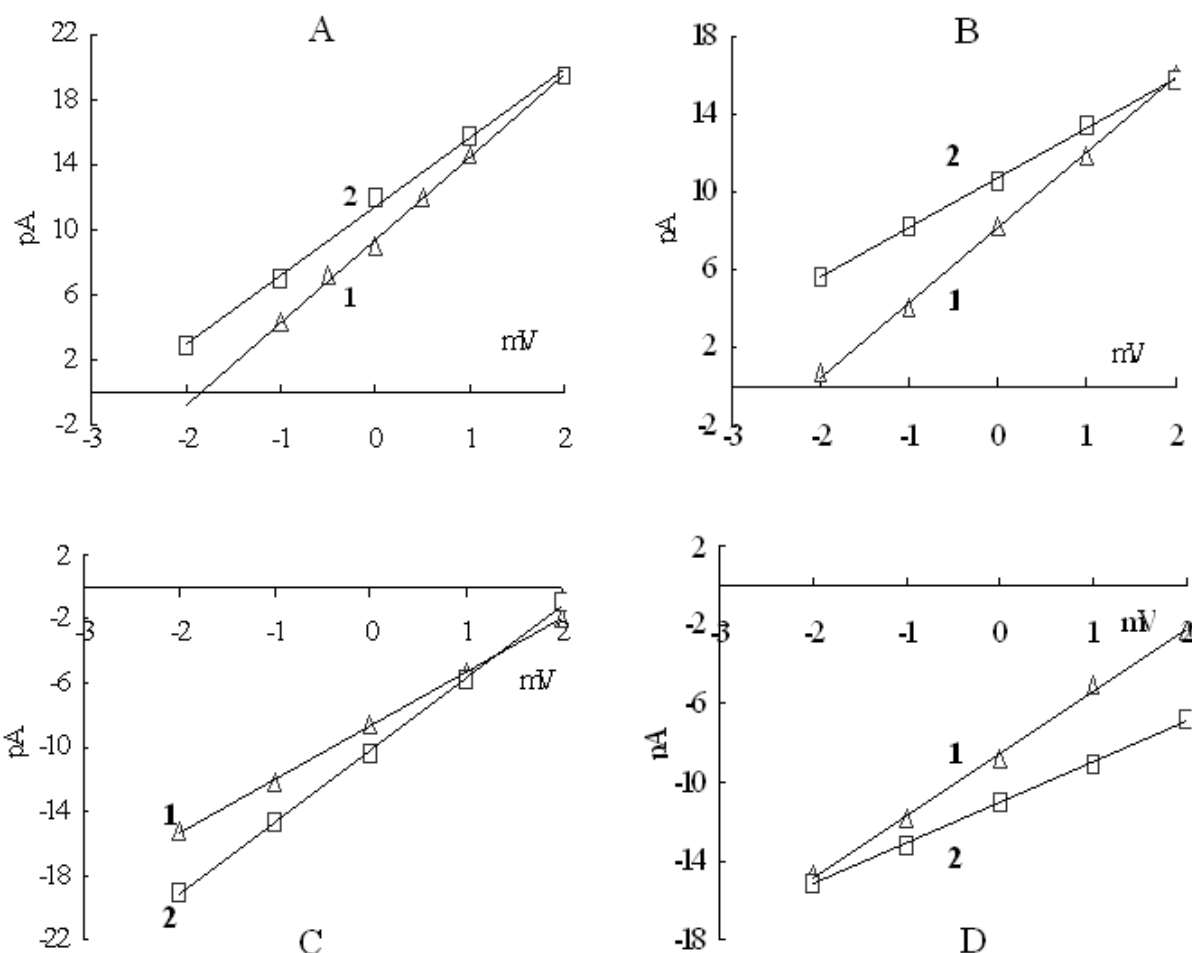
3.1.1. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń ionofor effekti

Lagochilus túri ósimlikleri tiykarında alınatuǵın diterpenoidlardıń ionofor qásiyetlerin úyreniw ushın olardıń qosqatlamlı lipid membranalar ótkiziwshiligine tásiiri úyrenildi. Tájiriybelerde lipid qosqatlamnıń ótkiziwshiligi membrananı juwıp turıwshı eritpege qosılǵan anıq bir diterpenoidqa baylanıslı ekenligi kórsetildi. Lipid membrananı juwıp turıwshı eritpede bir yamasa eki valentli elektrolitler bolıwına qaramastan, eksperimental yacheykaǵa lagoixilin hám onıń lagoden, lagoxirzin, 3,18;15,16 – di – O – Izopropilidenlagoxilin, lagoxirzidin hám 3,18 – O – Izopropilidenlagoxirzin sıyaqlı tuwındıların (200 mkM koncentraciyaǵa shekem) qosılǵanında qosqatlamlı lipid membrananıń ótkiziwshiligi ózgermedi. Lekin, 3,18 – O – etilidenlagoxilin eritpege qosılǵanda qosqatlamlı lipid membrananıń ótkiziwshiligi, 2 – 5 mkM den baslap, onıń koncentraciyasına baylanıslı túrde artıp bardı. Ádette qosqatlam ótkiziwshiliginiń artıwı bul biologiyalıq aktiv zattı membrananı juwıp turıwshı eritpege qosqan waqıttan baslandı. Qosqatlam ótkiziwshiliginiń aqırǵı mánisi otceklerdiń birewine yamasa ekewine de diterpenoid qosılıwına baylanıslı boldı. Eki tárepine de qosılǵanda ótkiziwshilik bir qansha joqarı mániske iye boldı. Qosqatlamlı lipid membrananıń maksimal ótkiziwshiligi 3,18 – O – etilidenlagoxilin ushın 55 mkM koncentraciyalarında gúzetildi. Bul diterpenoid penen inducirlengen lipid qosqatlamnıń ótkiziwshiliginen derek berdi.

Sonıń menen bir qatarda membranaaktiv diterpenoid penen modifikaciyalanǵan qosqatlamlı lipid membrananıń ótkiziwshiligi Ca^{2+} ionların tutıwı menen baylanıslılıǵı anıqlandı. Bul ionlardıń maksimal koncentraciyası 3,18 – O – etilidenlagoxilin qatnasında 8 mM di quradı.

Membranaaktiv diterpenoid penen modifikaciyalanǵan qos qatlamlardıń kation – anion selektivligin úyreniw arqalı ótkiziwshilik eki valentli kationlar ushın tán bolıp, olardıń bir valentlileri ushın áhmiyetli emes ekenligi anıqlandı.

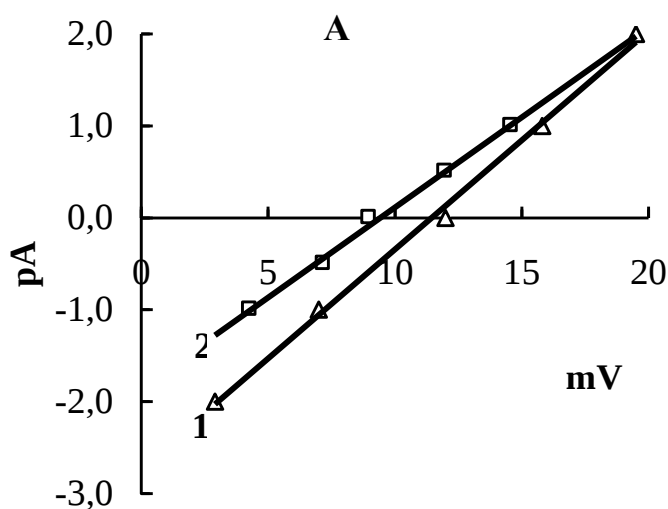
CaCl₂ (5mM/15mM, *cis/trans*) (A), CaCl₂ (5mM/15mM, *cis/trans*) 150 mM NaCl qatnasında (B), NaCl (C) hám KCl (D) (50mM/150mM; *cis/trans*) koncentraciyalarındaǵı úsh eseli gradientinde 3,18 – O – izopropilidenlagoxilin (1) hám 3,18 – O – etilidenlagochilin (2) menen modifikaciyalangan membrana ótkiziwshiligi gúzetilmedi:



Diterpenoid penen modifikaciyalangan qosqatlamlı lipid membranada elektrolitlerdiń 1:1 qatnasta bolıwı, onıń bir valentli kationlar ushın ótkiziwshiligin joǵaltadı.

Modifikaciyalangan lipid qosqatlamlardıń kation – anion selektivligi, qosqatlam eritpesi elektrolitlerin 2:1 qatnasqa ajratqanda baqlandı. Nolinshi tok potencialınıń teris mánisi diterpenoid penen modifikaciyalangan membrana arqalı anionlarǵa qaraǵanda kationlar jaqsı ótiwin bildiredi.

Cis – 5mM/*trans* – 15mM CaCl₂ sistemadağı (A) nolinshi tok potencialı eger qosqatlamlı lipid membrana 3,18 – O – Izopropilidenlagoxilin (1) menen modifikaciyalangan bolsa 12,0±0,5 mV, al 3,18 – O – etilidenlagochilin (2) menen modifikaciyalangan bolsa 9,6±0,5 mV qa teń boldı:



CaCl₂ eritpesiniń bul gradienti ushın esaplap tabılǵan teoriyalıq potencialı 12,5 mV qa teń. Bul 3,18 – O – Izopropilidenlagoxilin menen modifikaciyalangan membranalar Ca²⁺ ionı ushın joqarı selektivliktegi ótkiziwshilikke iye ekenliginen derek beredi. Bul bolsa jáne bir márte diterpenoid penen modifikaciyalangan lipid qosqatlam eki valentli kationlar ushın joqarı ótkiziwshilikke iye ekenligin kórsetedi.

Diterpenoid penen modificirlengen qosqatlamlı lipid membrananiń 10 mM Ca²⁺/10 mM Me²⁺ juplıǵı ushın nolinshi tok potencialınıń tájiriybede alınǵan mánisleri (mV) tómendegi tablicada keltirilgen:

Modificirlewshi diterpenoid	Me ²⁺			
	Zn ²⁺	Mg ²⁺	Ba ²⁺	Sr ²⁺
3,18-O-Izopropilidenlagoxilin	+8,8±0,1	-7,4±0,1	-8,6±0,3	-14,3±0,7
3,18-O-Etilidenlagochilin	+5,3±0,1	-4,8±0,5	-5,6±0,5	-11,0±0,7

Ótkiziwshilikke baylanıslı bolǵan hár túrli eki valentli kationlardı salıstırılıw elektrolitler 2:1 qatnasta alınǵan 10 mM eritpeni ekige bóletuǵın

diterpenoid penen modifikaciyalangan qosqatlamli lipid membranada otkizildi. Bunda yacheykalardin birinde barliq waqıtta CaCl_2 eritpesi boldı.

Eger Zn^{2+} ionı otkiziwshiliktın maksimal mánisine iye bolgan bolsa, Sr^{2+} ionı – minimal otkiziwshilikti payda qıldı (qalğan eki valentli kationlar aralıq jaǵdaylarda boldı).

Tájiriybelerde, sonday – aq, membranaaktiv diterpenoid penen modifikaciyalangan qosqatlamli membrana arqalı Zn^{2+} ionı basqalarǵa qaraǵanda ańsaraq otetuǵınlıǵı kórsetip berildi. Fiksaciya qılınǵanda yacheykadaǵı nolinshi tok on potencial mániske erisildi. Basqa barlıq kationlar menen, CaCl_2 yacheykasındaǵı nolinshi tok teris potencial mánisin kórsetti. Bul jaǵdayda membranaaktiv diterpenoid penen modifikaciyalangan qosqatlamli lipid membrana ushın úyrenilgen kationlardı membrana arqalı ótiw qábiliyetine qaray tómendegishe qatarǵa jaylastırıw múmkin:



Alınǵan nátiyjeler tiykarında membranaaktiv diterpenoid penen modifikaciyalangan membranalar eki valentli kationlardı jaqsı ótkizedi degen juwmaq shıǵarıw múmkin.

Trans – bóliminde hár qıylı eki valentli kation, al *cis* – bóliminde Ca^{2+} ionların tutqan simmetriyalıq emes tájiriybelerde otkiziwshilik koefficientleriniń qatnası tómendegi tablicada keltirilgen:

Modificirlewshi diterpenoid	$\text{P}_{\text{Ca}^{2+}}/\text{P}_{\text{Me}^{2+}}$			
	$\text{P}_{\text{Ca}^{2+}}/\text{P}_{\text{Zn}^{2+}}$	$\text{P}_{\text{Ca}^{2+}}/\text{P}_{\text{Mg}^{2+}}$	$\text{P}_{\text{Ca}^{2+}}/\text{P}_{\text{Ba}^{2+}}$	$\text{P}_{\text{Ca}^{2+}}/\text{P}_{\text{Sr}^{2+}}$
3,18-O-İzopropilidenlagoxilin	0,505	1,780	1,954	3,046
3,18-O-Etilidenlagochilin	0,662	1,450	1,547	2,356

Demek, lagochilinge salıstırǵanda gidrofob bóliminiń (qosımsha metil gruppanıń qatnasıwı esabınan) artıwı nátiyjesinde membranaaktiv diterpenoid penen modifikaciyalangan membrananiń Zn^{2+} ionına bolǵan otkiziwshiligi kemeyedi, lekin Sr^{2+} ionlarına bolǵan otkiziwshiliktın artıwına alıp keledi.

Izertlew ushın alınğan diterpenoidlar dúzilisindegi tiykarǵı parq olardıń molekulasındaǵı C_3 hám C_{18} , C_{15} hám C_{16} jaǵdaylardaǵı funkcional gruppalar hámde orınbasarlar tábiyatınan ibarat hám usıǵan qaray úyrenilgen zatlardı shártli túrde tórt gruppǵa ajıratıw múmkin:

1) molekulasında C_3 hám C_{18} , C_{15} hám C_{16} jaǵdaylarda erkin funkcional gruppalarǵa iye bolǵan birikpeler (lagochilin hám lagoden);

2) molekulasında tek ǵana C_3 hám C_{18} jaǵdaylarda gidroksil gruppa bloklangan zatlar (3,18 – O – etilidenlagochilin);

3) molekulasında tek ǵana C_{15} hám C_{16} jaǵdaylarda gidroksil gruppa jabılǵan birikpeler (lagoxirzin);

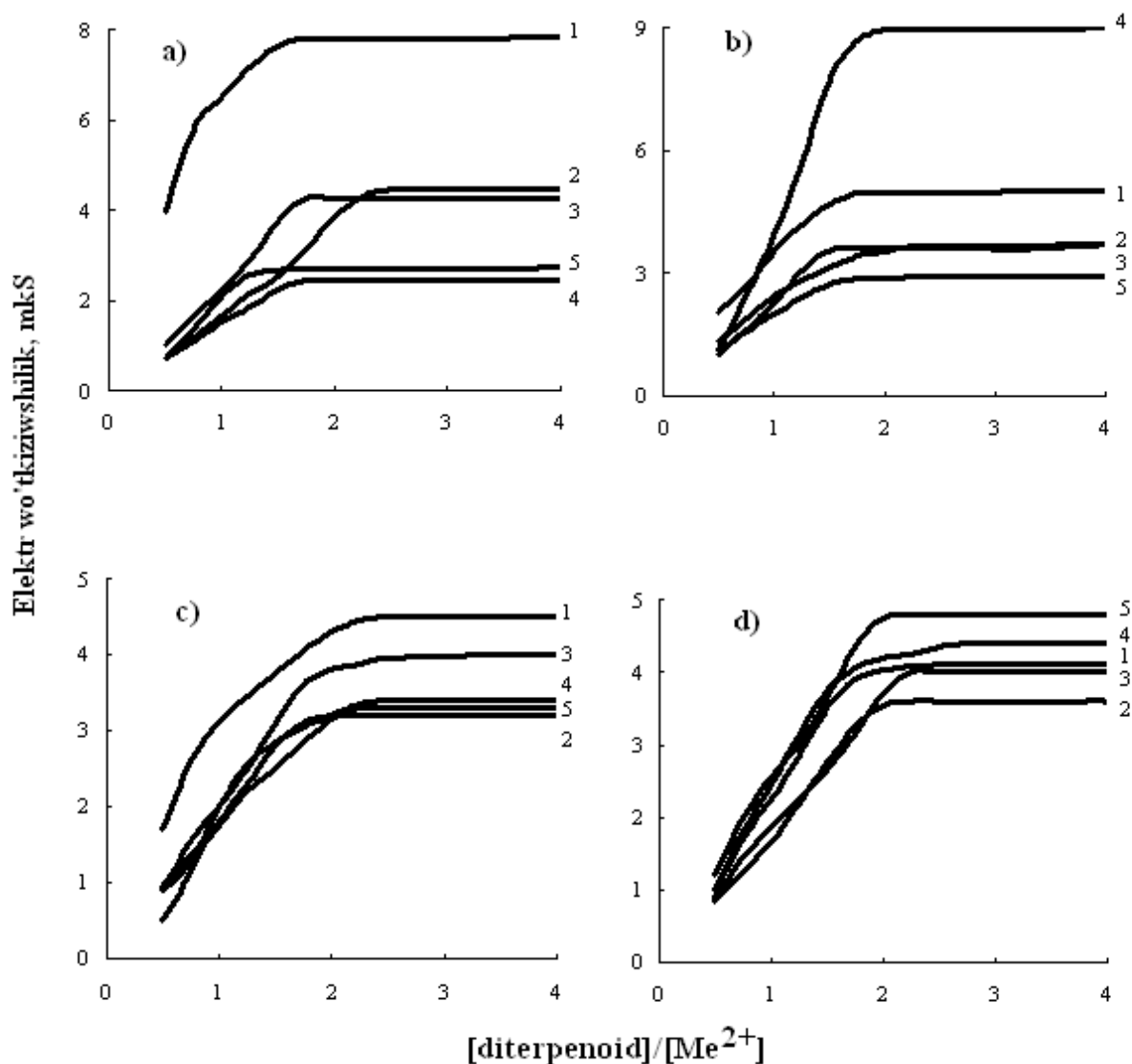
4) molekulasında C_3 hám C_{18} , C_{15} hám C_{16} jaǵdaylarda barlıq gidroksil gruppa bloklangan zatlar (3,18;15,16 – di – O – izopropilidenlagochilin, lagoxirzidin hám 3,18 – O – Izopropilidenlagoxirzin).

Tájiriybelerde 2 – gruppǵa tiyisli bolǵan yamasa molekulasında tek ǵana C_3 hám C_{18} jaǵdaylarda gidroksil gruppa bloklangan, lekin C_{15} hám C_{16} jaǵdaylarda gidroksil gruppa erkin bolǵan diterpenoid (3,18 – O – etilidenlagochilin) ionofor qasiyet kórsetti. Qalǵan gruppalarǵa tiyisli bolǵan diterpenoidlar ionofor qasiyet kórsetpedi.

3,18 – O – etilidenlagochilin hám onıń eki valentli kationlar menen kompleksileriniń membranaaktiv qasiyetleri diterpenoid molekulasındaǵı gidrofob bólimler esabınan ámelge asırılıwı, membrana arqalı alıp ótiletuǵın kationlar bolsa gidroksil gruppalar járdeminde fiksaciyalanıwı kórsetip berildi. Sebebi, 3,18 – O – etilidenlagochilin molekulasında jeterli dárejede (C_3 hám C_{18} jaǵdaydaǵı gidroksil gruppa bloklangan) metil strukturanıń bolıwı bul diterpenoidtıń qosqatlamnıń lipid matriksine jaylasıwı ushın kerek bolǵan lipofillikti keltirip shıǵarsa, gidroksil gruppanıń C_{15} hám C_{16} jaǵdayda bolıwı bul birikpeniń qosqatlam arqalı alıp ótiletuǵın ion menen *ionofor: kation* kompleksin payda etiw processin optimallastradı.

Lagoxilin tuwındılarınıń qatnasında cink hám silitili – jer metalları dúzlarınıń spirtli yamasa acetonlı eritpelerindegi elektr ótkiziushiligin úyreniw

arqalı bul diterpenoidlar izertlengen kationlar menen kompleks birikpede payda etetuǵınlıǵı dáliyillep berildi:



Bul jerde lagoxilin tuwındılarınıń etanoldaǵı hám acetondaǵı eritpelerin ayırım eki valentli kationlar 1) Ca²⁺, 2) Zn²⁺, 3) Mg²⁺, 4) Sr²⁺, 5) Ba²⁺ menen konduktometriyalıq titrlew iymek sıızıqları kórsetilgen.

Tájiriybeden alınǵan maǵlıwmatlardı analizley otırıp, lagoxilin tuwındılarınıń koncentracıyasınıń artıwı menen eritpeniń elektr ótkiziwshiligi ózgerip barıwı hám sońınan bir tegislikke shıǵatuǵınlıǵı kórsetip berildi.

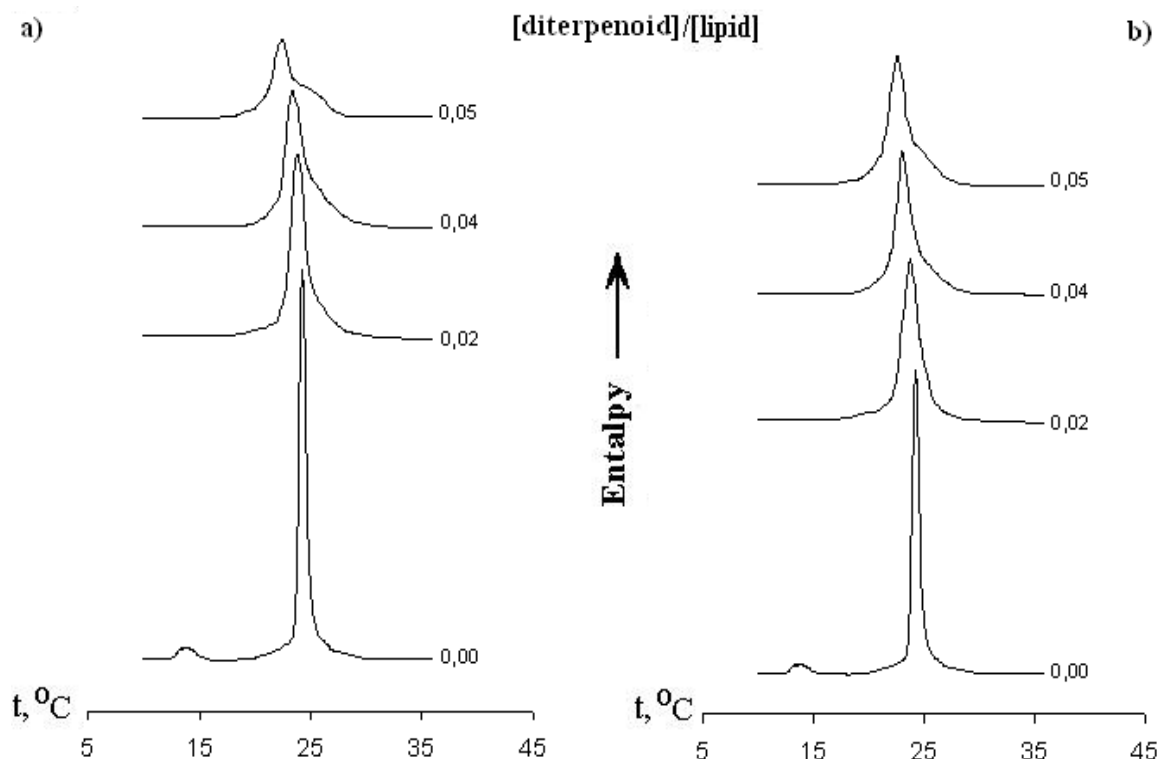
Bul koncentracıyalarda berilgen birikpeniń cink hám silitili – jer metalları kationları menen maksimal baylanısıwı ámelge asırıladı. Titrlew iymek sıızıǵındaǵı maksimal baylanısıw noqatında lagoxilin tuwındılarınıń eki valentli

kationlar menen etanolda hám acetonda kompleks payda etiw processiniń muǵdarlıq xarakteristikaları esaplap shıǵıldı:

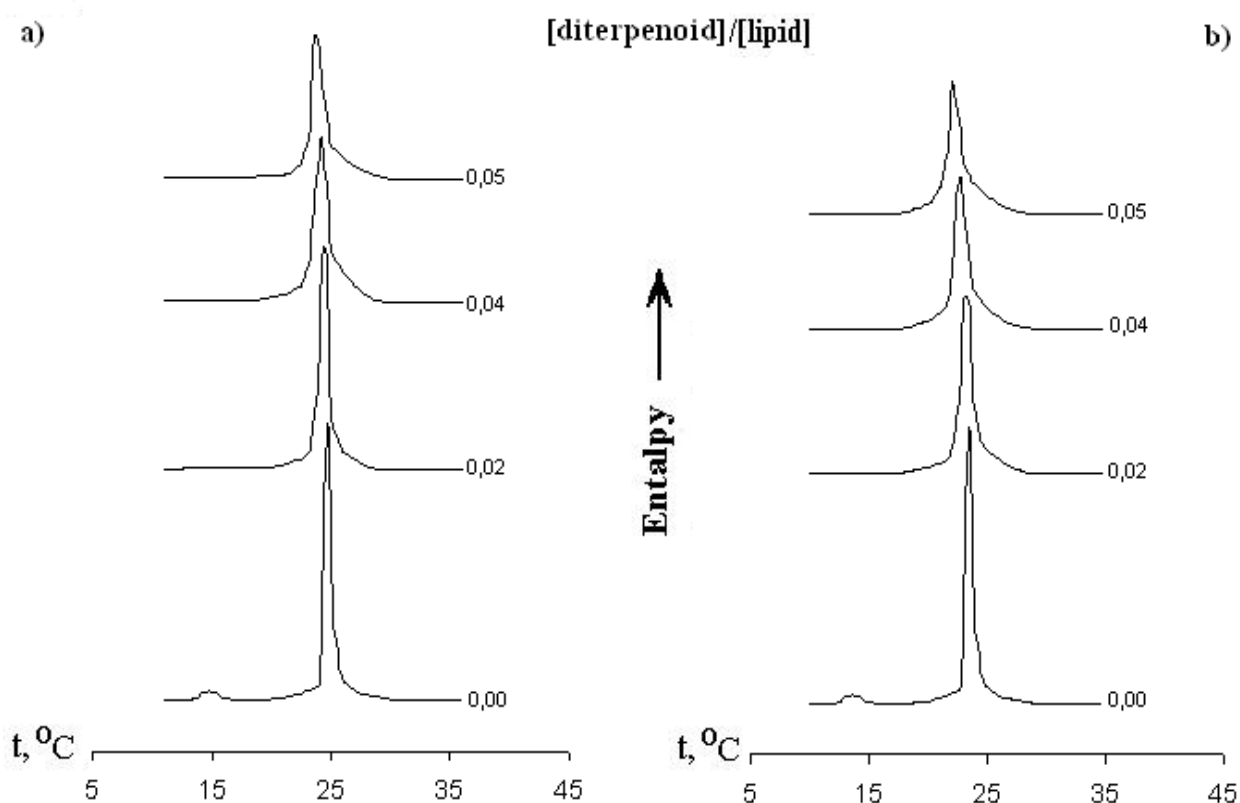
Kationlar	Kompleks payda bolıw processiniń xarakteristikaları					
	$K \times 10^4$		r (Å)		ΔG (kJ)	
	etanol	aceton	etanol	aceton	etanol	aceton
3,18-O-izopropilidenlagoxilin (IPL)						
Ca²⁺	0,16	0,16	4,90	6,19	-18,28	-18,28
Mg²⁺	0,06	0,09	5,27	6,07	-15,85	-16,85
Zn²⁺	0,15	0,07	4,75	6,16	-18,12	-16,23
Sr²⁺	0,14	0,11	5,45	6,31	-17,95	-17,35
Ba²⁺	0,11	0,08	5,47	6,25	-17,35	-16,56
3,18-O-etilidenlagoxilin (EL)						
Ca²⁺	0,98	0,59	5,59	6,47	-22,77	-21,51
Mg²⁺	0,10	0,33	4,95	6,24	-17,11	-20,07
Zn²⁺	0,08	0,16	5,33	5,99	-16,56	-18,28
Sr²⁺	0,14	0,06	5,28	8,16	-17,95	-15,85
Ba²⁺	1,43	2,14	5,36	5,53	-23,71	-24,70

Lagoxilin tuwındılarınıń eki valentli kationlar menen etanolda hám acetonda kompleks payda etiw processiniń termodinamikalıq xarakteristikaları: $K \times 10^4$ – kompleks payda etiw konstantası; r – payda bolǵan komplekslerdiń Stoks boyınsha radiusları (Å); ΔG – kompleks payda etiwdegi Gibbs erkin energiyası (kJ) bolıp esaplanadı. Kompleks payda bolıwdıń termodinamikalıq xarakteristikasınıń analizi, tiykarınan Gibbs erkin energiyasınıń (ΔG) ózgeriw kórsetkishi, lagoxilin tuwındılarınıń izertlew ushın alınǵan eki valentli kationlar menen kompleks payda etiw processi energiya sarıplamastan, yaǵniy óz – ózinen júretuǵınlıǵın kórsetti.

Membranaaktiv diterpenoidlardın dimiristoilfosfatidilxolinnen quralğan multilamellyar qosqatamlar menen tásin differential skanirlewshi kalorimetriya usılı menen úyreniw arqalı lagoxilin tuwındılarınıń lipid qosqatamlarına jaylasıwınıń tuwrıdan – tuwrı dáliyili alındı. Lipid qosqatamlarınıń eriw processin bildiriwshi tiykargı termodinamikalıq parametrler anıqlandı: a) lipidtiń tiykargı “gel – suyıq kristall” fazalıq ótiw temperaturası (T_w) – bul eriw processiniń energetikalıq mánisin ańlatadı; b) eriw pikiniń yarımına teń keletuǵın eni ($1/2\Delta T$) – bul lipidtiń eriw processiniń kooperativligin belgileydi; c) ulıwma entalpiya mánisi ($\Delta H/\Delta H_0$) – bul eriw processiniń jıllılıq effekti menen baylanıslı boladı. Lipid sistemalarınń fazalıq ótiw processinde ádette membranaaktiv molekulalar qosqatlam menen tásirlesiw nátiyjesinde eriw processiniń ulıwma entalpiya mánisi kemeyiwı gúzetilse – bul, ótiw processinen lipidtiń ayırım bóleginiń shetletiliwı hám basqa molekulanıń lipid matriksine kiriwı sebepli qosqatlamnıń dáslepki dúzilisiniń buzılıwı menen túsindiriledi:



IPL (a) hám onıń Ca^{2+} ionı menen kompleksi (IPL: Ca^{2+} -1:1) (b) tásirinde lipidtiń eriw processiniń termogrammaları



EPL (a) hám onıń Ca^{2+} ionı menen kompleksi (EL: Ca^{2+} -2:1) (b) tásirinde lipidtiń eriw processiniń termogrammaları

Úyrenilgen diterpenoid molekularınıń pútkilley yaki bóleklenip fosfolipidtiń uglevodorodlı shınjırına kiriwi qosqatlamnıń dáslepki dúzilisiniń buzılıwına sebep bolıp, lipid sistemasınıń tiykarǵı fazalıq ótiw kooperativliginiń kemeyiwine alıp keledi.

Bul óz gezeginde lipidtiń gel – suyıq kristall tiykarǵı fazalıq ótiw temperaturası (T_w) mánisiniń kemeyiwi, eriw processiniń kooperativligi ($1/2\Delta T$) mánisiniń artıwı, sonday – aq ulıwma entalpiya ($\Delta H/\Delta H_0$) salıstırma mánisiniń kemeyiwine sebepshi boladı.

Solay etip, molekulasında gidrofob bólek yaki bólimler bar bolǵan diterpenoidlar lipid sistemalardıń dáslepki dúzilisin pútkilley ózgartip, olardıń fazalıq ótiw processiniń termodinamikalıq xarakteristikalarınıń mánislerinen úlken parq qılatuǵın nátiyjelerdi berdi.

Haqiqatanda, molekula gidrofobligi artqan sayın diterpenoidlardın lipid qosqatlamına jaylasıwı termodinamikalıq jaqtan salıstırmalı túrde ańsıraq ámelge asırılıp bardı.

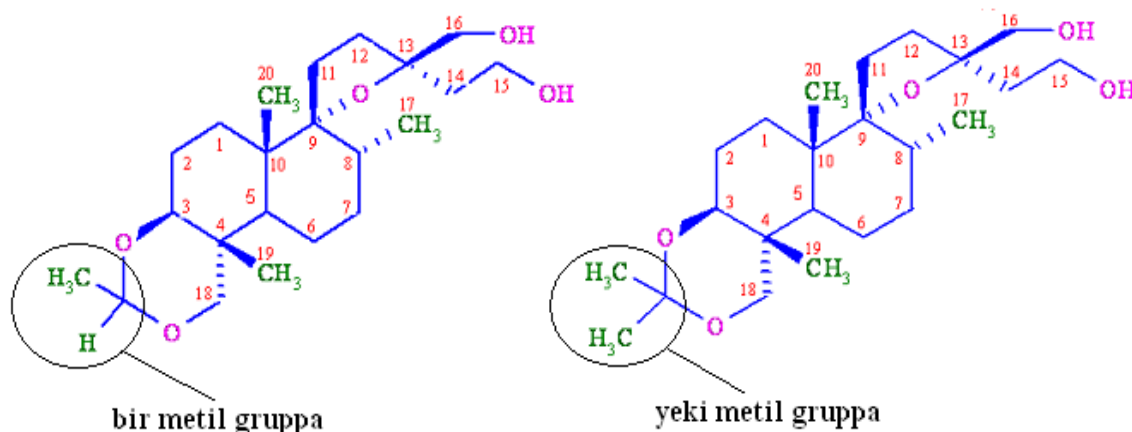
Lipid qosqatlamlarınń eriw processin bildiriwshi tiykarǵı termodinamikalıq parametrler tómendegi tablicada keltirilgen:

Tájiriybe jaǵdayı	$C_{\text{diterpenoid}}:C_{\text{lipid}}$	Lipidtiń eriw parametrleri		
		$T_w, ^\circ\text{S}$	$\frac{1}{2}\Delta T$	$\Delta H/\Delta H_0$
Úlgi	DMFX	24,3	0,6	1,00
IPL	1:50	23,9	1,4	0,97
IPL	1:25	23,4	1,6	0,88
IPL	1:20	22,6	1,8	0,41
IPL:Ca ²⁺ -1:1	1:50	23,8	1,4	0,96
IPL:Ca ²⁺ -1:1	1:25	23,1	1,6	0,85
IPL:Ca ²⁺ -1:1	1:20	22,7	1,8	0,84
EL	1:50	23,9	0,8	0,99
EL	1:25	23,7	1,4	0,95
EL	1:20	23,3	1,4	0,87
EL:Ca ²⁺ -2:1	1:50	24,0	1,0	0,89
EL:Ca ²⁺ -2:1	1:25	23,5	1,2	0,76
EL:Ca ²⁺ -2:1	1:20	22,9	1,4	0,75

Bunıń dáliyili sıpatında tómendegilerdi aytıp ótiw múmkin: 3,18 – O – etilidenlagoxilin molekulasında gidrofoblıq tek ǵana bir metil struktura esabınan júzege kelip, onıń qosqatlamǵa jaylasıwı 3,18 – O – izopropilidenlagoxilin molekulasına salıstırǵanda bir qansha tóménirek aktivlikke iye boldı.

Izertlew ushın alınǵan diterpenoidlar dúzilisindegi tiykarǵı parq olardıń molekulasındaǵı C₃ hám C₁₈ jaǵdaylardaǵı funkcionál gruppalar hámde orınbasarlar tábiyatınan ibarat hám usıǵan qarap úyrenilgen zatlardı shártli túrde ajratıw múmkin: molekulasında tek ǵana C₃ hám C₁₈ jaǵdaylarda gidroksil

gruppa bloklangan zatlar (3,18 – O – izopropilidenlagoxilin hám 3,18 – O – etilidenlagoxilin) membranotrop qasiyet kórsetti.

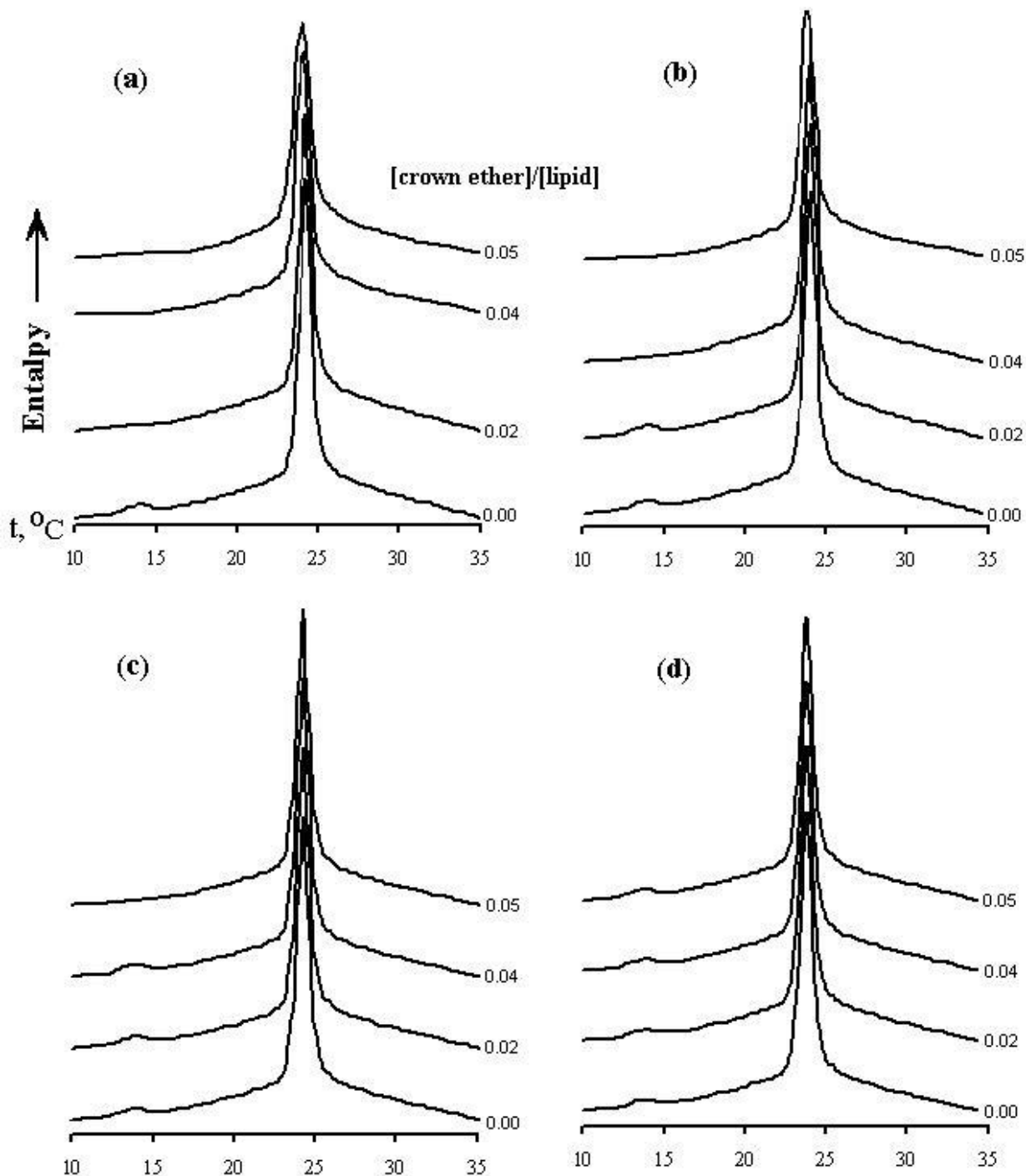


3,18 – O – izopropilidenlagoxilin hám 3,18 – O – etilidenlagoxilin hámde olardıń eki valentli kationlar menen kompleksleriniń membranaaktiv qasiyetleri diterpenoid molekulasındaǵı gidrofob bólimler esabınan ámelge asırılıwı, membrana arqalı alıp ótiletuǵın kationlar bolsa gidroksil gruppalar járdeminde fiksaciyalanıwı anıqlandı. Sebebi, 3,18 – O – izopropilidenlagoxilin hám 3,18 – O – etilidenlagoxilin molekulalarında jeterli dárejedegi (C_3 hám C_{18} jaǵdaydaǵı gidroksil gruppa bloklangan) metil strukturanıń bolıwı bul diterpenoidlardıń qosqatlamnıń lipid matriksine jaylasıwı ushın kerek bolǵan lipofillikti keltirip shıǵarsa, gidroksil gruppanıń C_{15} hám C_{16} jaǵdayda bolıwı bul birikpeniń qosqatlam arqalı alıp ótiletuǵın ion menen kompleksti payda etiw processin optimallastıradı.

3.1.2. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń kanaloform effekti

Suwda eriwshi DB18K6 – sulfokislota tuwındıları: 4 – *tret* – butyl – 4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota, 4 – acetil – 4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota, 4 – DB18K6 – sulfokislota hám 4, 4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota K^+ ionlarına salıstırılmalı túrde kanaloformerlik qasiyetlerdi kórsetedi. Bul birikpelerdiń membranaktiv qasiyetleri olardıń lipofilligine baylanıslı boldı. Olardıń molekulasında gidrofob bólek yaki bólimler bar bolǵan kraun – efirler lipid sistemalardıń dáslepki dúzilisin pútkilley ózgertip, olardıń fazalıq ótiw

processiniń termodinamikalıq xarakteristikalarınıń mánislerinen úlken parq qılatuǵın nátiyjelerdi júzege keltirdi. Úyrenilgen kraun – efirler olardıń amfifilliginiń kemeyip barıw tártibine qaray tómendegishe qatarǵa jaylastı: $7 > 8 > 9 > 10$.



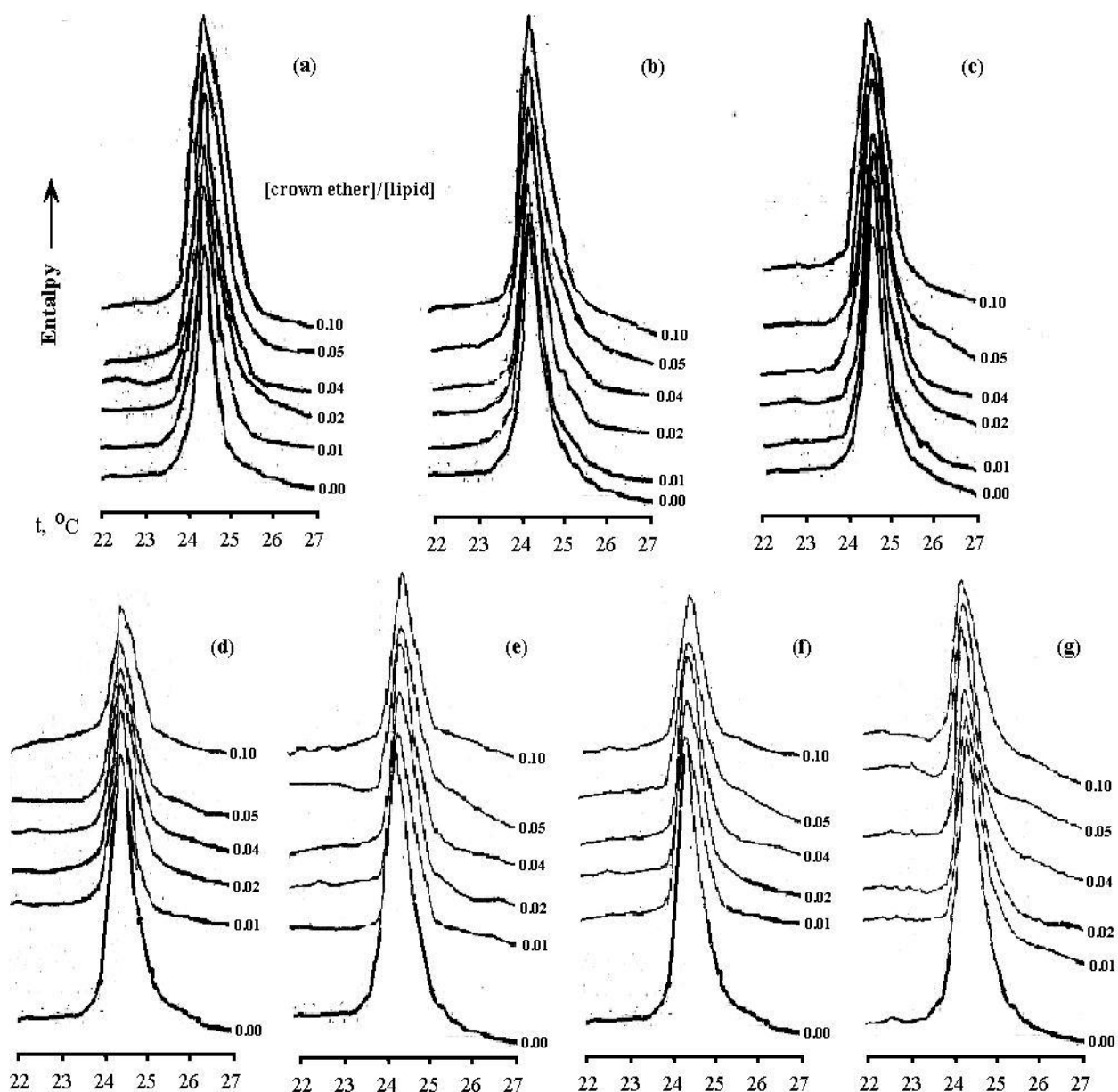
3 – Súwret. Úyrenilgen kraun – efirler tásirinde multilamellyar dispersiyalardıń termodinamikalıq parametrleriniń ózgeriw termogrammaları: a) 7, b) 8, c) 9, d) 10.

Sol sebepli, suwda eriwshi DB18K6 – sulfokislota tuwındılarının lipid matriksi menen olardıń lipofilligine baylanıslı tásirlesiwiniń eksperimentallıq dáliyilin alıw ushın differencial skanirlewshi kalorimetriya usılı qollanıldı. Mikrokalorimetriyalıq izertlewler nátiyjesinde suwda eriwshi DB18K6 – sulfokislota tuwındıları qatnasında DMFX lipid dispersiyaların eritiw ushın kerek bolǵan salıstırma energiyanıń kemeyetuǵınlıǵı kórsetildi (4a,b,c,d – súwret). Bunda berilgen parametrdiń kemeyiw dárejesi suwda eriwshi DB18K6 – sulfokislota tuwındılarının qosqatlamlı lipid membranalardaǵı kanaloformerlik aktivligine sáykes keldi. Kraun – efirlerdiń lipofilliginiń artıwı menen jıllılıq jutıw summalıq piki páseyetuǵınlıǵı, yaǵniy lipid sistemasınıń fazalıq ótiw processiniń entalpiyası kemeyetuǵınlıǵı gúzetildi. Sonday – aq, lipid dispersiyalarda kraun – efirler koncentraciyasınıń joqarılawı multilamelliya lipid qatlamlardıń eriw processiniń entalpiyasınıń tómendewine alıp kelip, bul dispersiyalardıń toyınıw shegi hám DB18K6 – sulfokislota tuwındılarının qosqatlamǵa jaylasıwı menen baylanıslı boldı.

DB18K6 – sulfokislota tuwındıları: 4 – *tret* – butyl – 4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota, 4 – acetyl – 4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota, 4 – DB18K6 – sulfokislota hám 4',4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota qatnasında alınǵan mikrokalorimetriyalıq maǵlıwmatlardıń salıstırmalı analizi olardıń multilamelliya dispersiyalar menen tásirlesiw xarakteri Ca^{2+} – kompleksonlar, Ca^{2+} – ionoforlar hám Ca^{2+} – kanaloformerlerdiń lipid dispersiyalar menen tásirlesiw xarakterinen sezilerli dárejede parq qılatuǵınlıǵın kórsetti.

Ca^{2+} – ionoforlar: 4',4''(5'') – dibutilil – DB18K6 hám 4',4''(5'') – divaleril – DB18K6, Ca^{2+} – kanaloformerler: 4',4''(5'') – dimetiletanolamin – DB18K6 hám bis – O – metoksi – fenoksi – dietil efir ushın kraun – efir/lipid – 0,01 hám 0,02 ge teń bolǵan qatnasta DMFX multilamelliya lipid dispersiyalarınıń eriw processiniń entalpiya mánisleri artıwı, al 0,04 hám onnan joqarı bolǵan qatnaslarda lipid sistemalarınıń eriw processiniń entalpiya mánisleri kemeyiwi gúzetilse, bul jaǵdayda K^+ – kanaloformerler: 4 – *tret* – butyl – 4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota, 4 – acetyl – 4''(5'') – DB18K6 –

sulfokislota, 4 – DB18K6 – sulfokislota hám 4',4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota ushın lipid dispersiyalarınıń eriw processiniń salıstırma entalpiya mánisleri tek ǵana tómenlep barıwı baqlanadı.



4 – Súwret. Úyrenilgen kraun – efirler tásirinde multilamellyar dispersiyalardıń termodinamikalıq paramerleriniń ózgeriw termogrammaları: a) 1, b) 2, c) 5; d) 3, e) 4; f) 6, g) 11.

Sonıń menen bir qatarda, Ca^{2+} – ionoforlar hám Ca^{2+} – kanaloformerlerden parqlı túrde, Ca^{2+} – kompleksonlar: 4',4''(5'') – diacetyl – DB18K6, 4',4''(5'') –

dipropionil – ДБ18 hám 4',4''(5'') – dioktanoil – DB18K6 barlıq úyrenilgen kraun – efir/lipid qatnaslarında lipidтіń eriw processiniń entalpiya mánisleri artıwına alıp keldi. Bul óz náwbetinde Ca^{2+} – kompleks ionlardıń membrana aktivlikke iye emes ekenligin kórsetedi. Ca^{2+} – ionoforlar hám Ca^{2+} – kanaloformerler ushın, K^{+} – kanaloformerlerden parqlı túrde kraun – efir/lipid – 0,01 hám 0,02 ge teń bolǵan qatnaslarda multilamelliya lipid dispersiyalarınıń eriw processiniń salıstırma entalpiya mánisleriniń artıwı, Ca^{2+} – ionoforlar hám Ca^{2+} – kanaloformerlerdiń qosqatlamlar betinde sorbcıyalanıwın ańlatadı.

Kraun – efir/lipid – 0,04 hám onnan joqarı bolǵan qatnaslarda Ca^{2+} – ionoforlar hám Ca^{2+} – kanaloformerlerdiń lipid molekulları menen tásirlesiw xarakteri olardıń membranaǵa tásir etiw mexanizmine baylanıslı halda ózgerip, lipid dispersiyalarınıń eriw processiniń salıstırma entalpiya mánisleriniń kemeyiwı gúzetiledi.

Makrociklik hám psevdociklik strukturalarǵa iye bolǵan Ca^{2+} – ionoforlar hám Ca^{2+} – kanaloformerlerdiń multilamelliya lipid molekulları menen tásirlesiwiniń bunday xarakteri olardıń lipid qosqatlamına ornalasıw processı uqsas ekenliginen derek beredi. K^{+} – kanaloformerler jaǵdayında bolsa lipid dispersiyalarınıń eriw processiniń salıstırma entalpiya mánisleri tek ǵana tómelenlep barıwı gúzetilip, bul kraun – efirlerdiń qosqatlamlar betine sorbcıyalanıwsız áste – aqırın kirip barıwın ańlatadı. Sonlıqtan – da, K^{+} – kanaloformerlerdiń qosqatlamlı strukturalar menen tásirlesiw mexanizmi Ca^{2+} – ionoforlar hám Ca^{2+} – kanaloformerlerdiń lipid sistemalarına ornalasıw xarakterine uqsas emes dep aytıw maqsetke muwapıq boladı.

Bul usıl menen alınǵan nátiyjeler izertlew ushın belgilengen kraun – efirlerdiń lipid qosqatlamı menen tásirlesiwı olardıń molekulasındaǵı gidrofob bólim yaki bólimler esabınan ámelge asıwı hám gidrofoblıq artqan sayın bul birikpelerdiń lipid qosqatlamına kirip barıwı salıstırma túrde ańsaraq keshiwı anıq kórsetip berildi.

Ádette lipid sistemalarınıń fazalıq ótiw processinde membranaaktiv molekullar qosqatlam menen tásirlesiwı nátiyjesinde eriw processiniń ulıwma

entalpiya mánisi kemeyiwi gúzetilse – bul, ótiw processinen lipidtiń ayırım bóleginiń shetletiliwi hám basqa molekulanıń lipid matriksine kiriwi sebepli qosqatlamnıń dáslepki dúzilisiniń buzılıwı menen túsindiriledi.

2 – Tablica

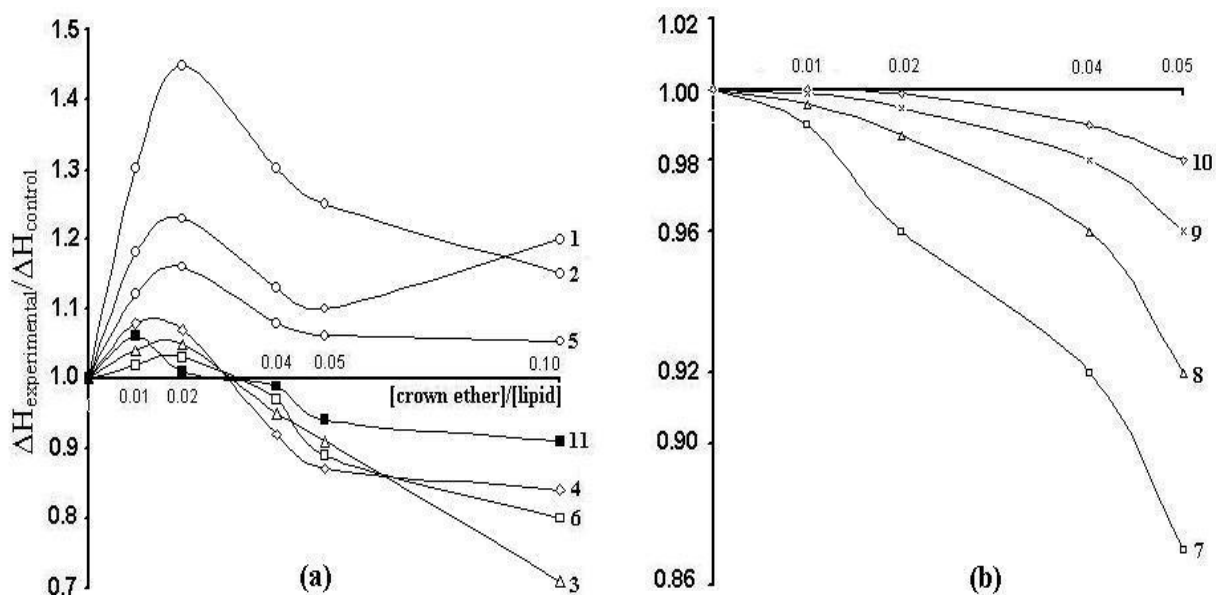
Úyrenilgen kraun – efirler (K^+ – kanaloformerler) tásirinde multilamellyar dispersiyalardıń eriw processiniń termodinamikalıq xarakteristikalarınıń ózgeriwi

Kraun-efir	[kraun-efir]/[lipid]	T_w (°C)	$1/2\Delta T_w$ (cm)	$\Delta H_{\text{kraun-efir}}/\Delta H_{\text{lipid}}$
Lipid	0,00	24,2	0,8	1,00
7	0,01	24,2	1,0	1,00
	0,02	24,1	1,2	0,96
	0,04	24,0	1,4	0,92
	0,05	23,9	1,6	0,87
8	0,01	24,2	0,8	1,00
	0,02	24,2	0,9	0,99
	0,04	24,1	1,1	0,96
	0,05	24,0	1,3	0,92
9	0,01	24,2	0,8	1,00
	0,02	24,2	0,9	1,00
	0,04	24,2	1,0	0,98
	0,05	24,1	1,2	0,96
10	0,01	24,2	0,8	1,00
	0,02	24,2	0,8	1,00
	0,04	24,2	0,9	0,99
	0,05	24,2	1,0	0,98

Úyrenilgen kraun – efirler molekulalarınıń pútkilley yaki bóleklenip fosfolipidtiń uglevodorodlı shınjırına kiriwi qosqatlamnıń dáslepki dúzilisiniń buzılıwına sebep bolıp, lipid sistemasınıń tiykargı fazalıq ótiw kooperativliginiń

kemeyiwine alıp keledi. Bul óz gezeginde lipidtiń gel – suyıq kristall tiykargı fazalıq ótiw temperaturası (T_w) nıń kemeyiwi, eriw processiniń kooperativligi ($\frac{1}{2}\Delta T_w$) nıń artıwı, sonday – aq ulıwma entalpiya mánisi ($\Delta H_{\text{kraun-efir}}/\Delta H_{\text{lipid}}$) nıń kemeyiwine sebepshi boladı.

2 – Tablicada úyrenilgen K^+ – kanaloformerler tásirinde lipid dispersiyalarınń eriw processin xarakterlewshi tiykargı termodinamikalıq parametrler keltirilgen: eriw processiniń energetikalıq bahasın ańlatatuǵın T_w – lipidtiń “gel – suyıq kristall” tiykargı fazalıq ótiw temperaturası; eriw processiniń kooperativligin xarakterleytuǵın $\frac{1}{2}\Delta T_w$ – pik eniniń yarımı; sonday – aq, lipid sistemasınıń fazalıq ótiw processinde dáslepki entalpiya mánisine salıstırǵanda membranaaktiv molekulalar menen tásirlesiwi nátiyjesinde ulıwma entalpiya mánisin bildiretuǵın $\Delta H_{\text{kraun-efir}}/\Delta H_{\text{lipid}}$ – salıstırma entalpiyanıń ózgeriwi; $[\text{kraun} - \text{efir}]/[\text{lipid}]$ – kraun – efir molyar koncentraciyasınıń lipid molyar koncentraciyasına qatnası.



4 – Súwret. Úyrenilgen kraun – efirler (a) Ca^{2+} – kompleksonlar (1,2,5), Ca^{2+} – ionoforlar (3,4) hám Ca^{2+} – kanaloformerler (6,11); (b) K^+ – kanaloformerler (7,8,9,10) tásirinde multilamellyar dispersiyalardıń eriw processiniń salıstırma entalpiyasınıń ózgeriwi.

Ca^{2+} – kompleksonlar, Ca^{2+} – ionoforlar hám Ca^{2+} – kanaloformerlerden parqlı túrde, barlıq úyrenilgen kraun – efir/lipid qatnaslarında lipidтіń eriw processiniń entalpiya mánisleri artıwına alıp keldi. Bunday lipid sistemasiniń tiykarǵı fazalıq ótiw pikiniń artıwı Ca^{2+} – kompleksonlardıń membrana aktivlikke iye emes ekenligin kórsetip berdi, sebebi olardıń fragmentleriniń yamasa pútkil molekulalarınıń lipid qosqatlamına ornalasıwında qosqatlamnıń dáslepki dúzilisi buzılıwı esabınan lipid sistemasın eritiw ushın kerek bolǵan salıstırma energiya tómenlewi zárúr.

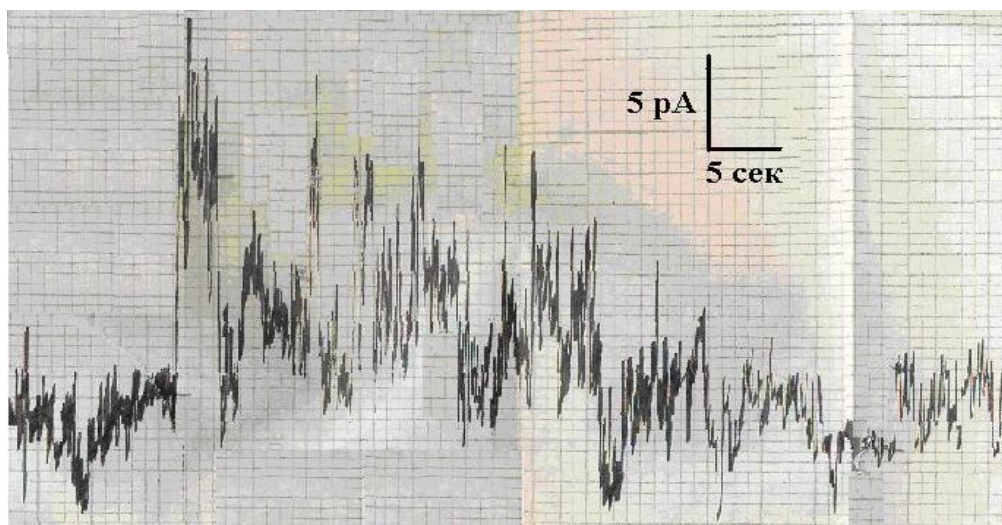
4 – *Tret* – butyl – 4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota, 4 – acetyl – 4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota, 4 – DB18K6 – sulfokislota hám 4',4''(5'') – DB18K6 – sulfokislota sıyaqlı K^{+} – kanaloformerlerdiń multilamelliyar dispersiyalar menen tásirlesiw xarakteri Ca^{2+} – ionoforlar hám Ca^{2+} – kanaloformerlerdiń lipid qosqatlamlar menen tásirlesiw xarakterinen parq qılatuǵın bolsa da, úyrenilgen barlıq membranaaktiv kraun – efirler olardıń membranaǵa tásir etiw mexanizmine baylanıslı halda lipid dispersiyalarınıń eriw processiniń salıstırma entalpiya mánisleriniń tómenlewine alıp keldi. Demek, úyrenilgen Ca^{2+} – ionoforlar, Ca^{2+} – kanaloformerler hám K^{+} – kanaloformerlerdiń multilamelliyar lipid dispersiyalar menen tásirlesiw xarakteri bul kraun – efirlerdiń qosqatlamlarǵa ornalasıwın hám lipid molekulalarınıń dáslepki dúzilisiniń buzılıwına alıp keletuǵınlıǵın kórsetedi.

Ulıwmalastırıp aytqanda, kraun – efirlerdiń qosqatlamlı lipid membranalarǵa salıstırma túrde membranaaktivlik qasıyetti kórsetiw bul birikpelerdiń ximiyalıq dúzilislerindegi ózgesheliklerge tuwrıdan – tuwrı baylanıslı ekenligi kórsetip berildi. Molekulasında gidrofob bólimlerge iye bolǵan kraun – efirler lipid sistemalardıń dáslepki dúzilis pútkilley ózgertip, olardıń fazalıq ótiw processiniń termodinamikalıq parametrlerinen sezilerli parq qılatuǵın nátiyjelerdi júzege keltirdi. Solay etip, úyrenilgen kraun – efirlerdiń membranaaktiv qasıyetti kórsetiw olardıń ximiyalıq dúzilisine baylanıslı bolıp, alıp barılǵan tájiriybelerimizden bul birikpeler ushın «dúzilis – aktivlik» tipindegi nızamlılıq júzege keldi.

Tioninler wákilleriniń bir qatarınıń antimikrob aktivligi kletka membranasına ósimlik peptidleri tásirinde onıń ótkiziwshiliginiń artıwı menen ámelge asadı [19, 20]. Kópshilik izertlewlerde bunday biologiyalıq effektlerdiń payda bolıwı tioninlerdiń kletka membranasına kiriwiniń nátiyjesinde ámelge asadı dep túsindiriledi [23]. Tioninlerdiń plazmatikalıq hám model membranalar menen tásirlesiw mexanizmi [40, 42] jumislarda tereń úyrenilgen. Bunda qaralıp atırǵan tásirlesiw elektrostatikalıq bolıp, ol oń zaryadlangan tionin molekulları hám membrananiń teris zaryadlangan fosfolipidleri arasında payda bolatuǵınlıǵı kórsetilgen. Tásirlesiw nátiyjesinde membrana betinde tesik payda bolıwı baqlanadı. Bıraq bunday tásirlesiw tipi membrananiń túrine joqarı dárejede baylanıslı ekenligi belgilep berilgen [42].

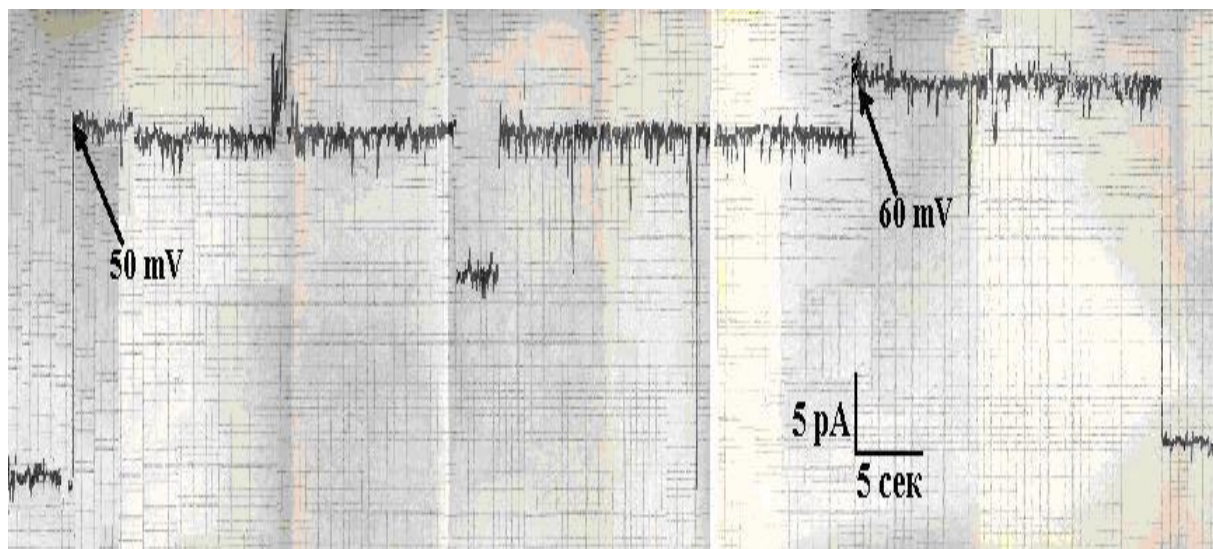
Tájiriybede túrli qos qatlamlı lipid membranalar qollanılıp, olardıń óz ótkiziwshiligi $7,5 \pm 0,5$ pS ti quradı ($n=10$). Dáslepki koncentraciyaları $0,05 \mu\text{M}$ bolǵan tioninler 10 – 20 minut periodlılıqta $5 \mu\text{l}$ kólemde effekt payda bolǵansha membranaǵa applikaciyalandı.

Izertlenip atırǵan birikpelerdiń jasalma qos qatlamlı lipid membranalarǵa tásirin anıqlaw boyınsha ótkerilgen skriningi AFP – S1, AFP – V1, AFP – D1 dep belgilep alınǵan biocid peptidler úsh tiptegi tok – ótkeriwshi strukturalardı payda etiwı esabınan membrana ótkiziwshiliginiń artıwın inducirlewin kórsetti (5, 6, 7 – súwretler).

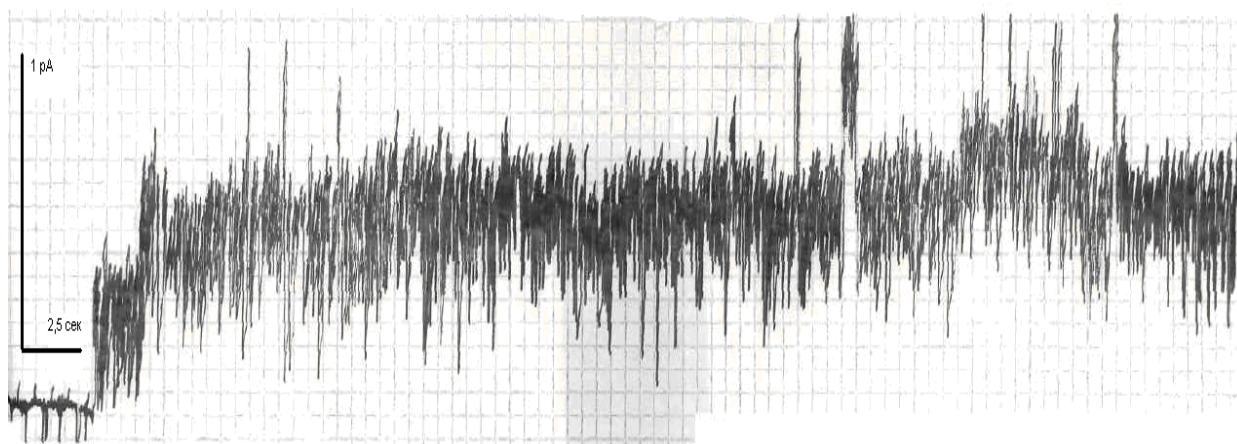


5 – Súwret. AFP – C1 biocid peptidte payda etken ótkiziwshiliktiń hár qıylı fluktuaciyalardaǵı birinshi tiptegi ion ótkeriwshi strukturalar registraciyası

Birinshi tiptegi ion – ótkeriwshi strukturalar úyrenilgen zatlardı qos qatlamlı lipid membranaǵa jaylastırıwda payda boldı, al ekinshi tiptegi tok – ótkeriwshi strukturalar kópshilik jaǵdaylarda membrananı lipid eritpesine dáslepki koncentraciyası 0,05 mM bolǵan izertlengen birikpeni qosıp payda etiwde gúzetildi.



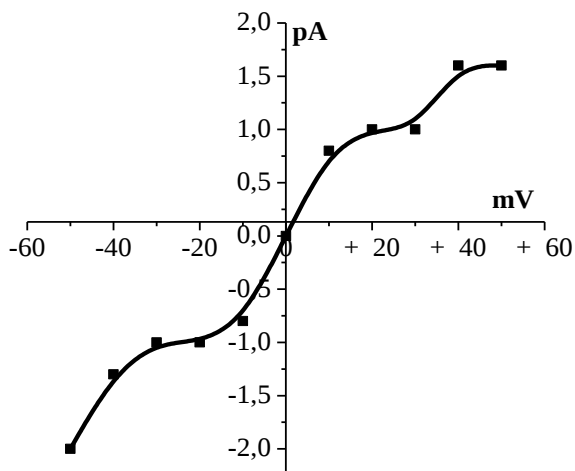
6 – Súwret. AFP – B1 biocid peptidte payda etken ótkiziwshiliktiń belgili amplitudadaǵı ekinshi tiptegi ion ótkeriwshi strukturalar registraciyası



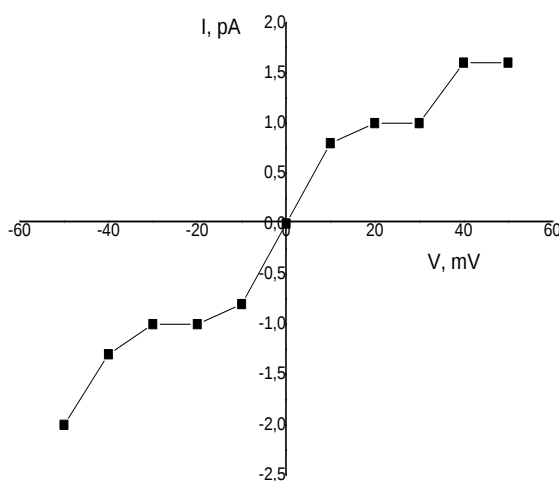
7 – Súwret. AFP – D1 biocid peptidti payda etken ótkiziwshiliktiń belgili amplitudadaǵı úshinshi tiptegi ion – ótkeriwshi strukturalar registraciyası

Bunda AFP – S1 peptidti payda etken birinshi tiptegi ion – ótkeriwshi strukturalar olardıń júdá tez ashılıwı hámde jabılıwı nátiyjesinde payda bolatuǵın shum aralasqan tok túrinde baqlandı (5 – súwret). Biocid peptidler

tásirinde payda bolǵan birinshi tiptegi ion – ótkeriwshi strukturalar ótkiziwshiligi artıwınıń ortasha amplitudası $101,2 \pm 1,53$ pS ke teń boldı (n=5).



8 – Súwret. AFP – C1 biocid peptidi menen modifikaciyalanǵan qosqatlamlı lipid membrananıń volt – amper xarakteristikası



9 – Súwret. AFP – B1 biocid peptidi menen modifikaciyalanǵan qosqatlamlı lipid membrananıń volt – amper xarakteristikası

Ekinshi tiptegi tok – ótkeriwshi strukturalar funkciyasın analizlew arqalı olardıń halatlarınıń kóp bolıwı kórsetildi. 6 – Súwrette kórsetilgenindey, ekinshi tiptegi ion – ótkeriwshi strukturalar ótkiziwshiliktiń túrli halatlarına iye: olardıń biriniń gúzetiliw waqtı bir neshe onlaǵan sekundtı qurasa, basqasında sekundtıń bir bólegine tuwrı keledi. Biocid peptidler tásirinde payda bolǵan ekinshi tiptegi

tok – ótkeriwshi strukturalar ótkiziwshiligi artıwınıń ortasha amplitudası 137,4 $\pm$ 3,82 pS ke teń boldı (n=5).

Úshinshi tiptegi tok – ótkeriwshi strukturalardıń tiykarınan tek ǵana bir halatı bolıwı anıqlandı (7 – súwret). Sebebi, AFP – D1 peptidi menen ótkerilgen qatar tájiriybelerde membrana ótkiziwshiligi 0,72 $\pm$ 0,07 pS ke teń bolǵan (n=5, P $\leq$ 0,01) jeke ion kanalı ǵana baqlandı.

Stacionar volt – amper xarakteristikalar tómendegishe tárizde úyrenildi. Izertlenip atırǵan zat tásirinde ótkiziwshiligi stacionar dárejege jetken membranaǵa oń hám teris polyarlıqtaǵı (0 mV-V_t-0 mV) tuwrı múyeshli kernew impulsleri (V_t) berildi, olardıń dawamlılıǵı (0,1 – 1,0 min) transmembranalıq toktıń jańa stacionar mánisiniń qaliplesiwi ushın jeterli edi.

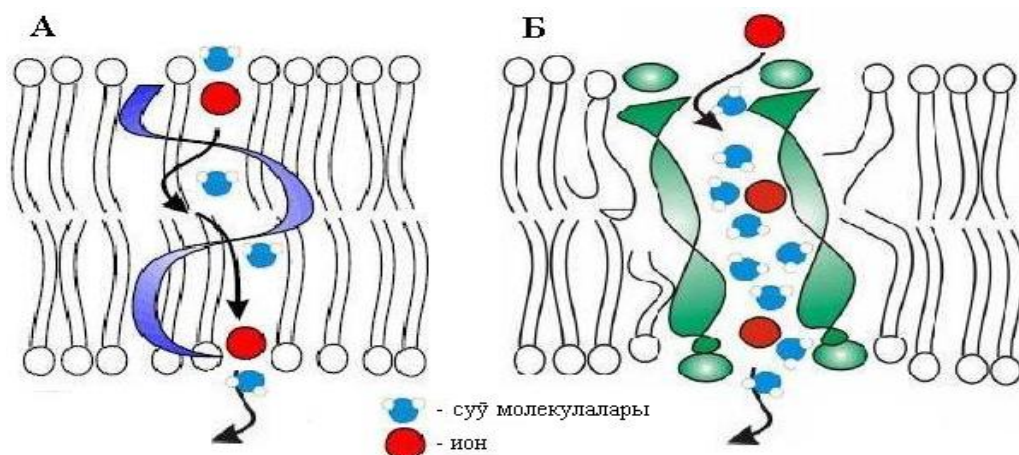
AFP – B1, AFP – S1 hám AFP – D1 biocid peptidler menen modifikaciyalangan qos qatlamlı lipid membranalarardıń volt – amper xarakteristikaları – 50 mV tan $\pm$ 50 mV ǵa shekemgi potenciallarda nolge salıstırmalı túrde sıızıqlı hám simmetriyalı boldı (8, 9 – súwretler).

Bul kórinis izertlenip atırǵan zatlar payda etken ion – ótkeriwshi strukturalardıń potencialǵa baylanıslı funkciyasınan, kanal orayına salıstırmalı túrde bir tekliliginen hám simmetriyalı energetikalıq profilinnen, sonday – aq qosqatlamda tesik payda bolǵanınan derek beredi.

3.1.3. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń destrukciyalawshı effekti

Úyrenilgen peptidler strukturalanbaǵan ion – ótkeriwshi dúzilisti payda etiw arqalı ótkiziwshiliktiń artıwın inducirlew qábiliyetine iye boldı. Izertlengen birikpelerdiń qosqatlamlı lipid membranalar ótkiziwshiligine tásin salıstırıw arqalı *Daucus carota sativa* tuqımınan ajratıp alınǵan biocid peptidler qaysı frakciyalardan ajratıp alınǵanlıǵına qaramastan belgili bir aktivlikke iye bolıwı kórsetildi. *Anethum graveolens* tuqımınan ajratıp alınǵan biocid peptidler arasında tek ǵana úshinshi frakciyalardan ajratıp alınǵan úlgi joqarı membranaaktiv qasiyetke iye ekenligi anıqlandı. Bunday peptidler belgili dárejedegi potencialǵa baylanıslı tok – ótkeriwshi strukturalardı payda etiwge

uqıplı ekenligi kórsetildi, al qalğan úlgiler tek ğana membrana ótkiziwshiligin arttırıwdı inducirlep, sezilerli dárejedege kanal tipindegi ion – tasıwshı konstrukciyanı payda etpedi. Alınğan nátiyjeler anıqlanğan qosqatlamnıń buzılıwı esabınan payda bolatuǵın tok – ótkeriwshi strukturalardıń lipid – belok tábiyatına iye ekenliginen derek beredi.

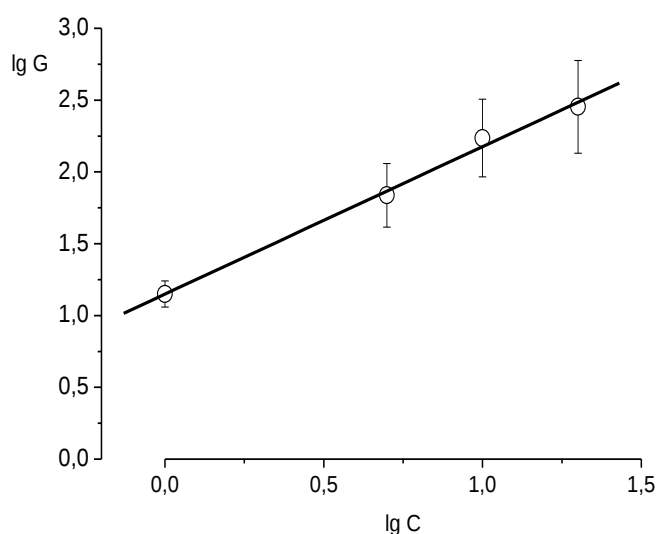


10 – Súwret. Membrana lipid matriksine destruktiv tásir etiw arqalı biocid peptidler payda etken ion – ótkeriwshi klasterdiń bir molekulasınıń (A) hám molekula agregatlarınıń (B) strukturaları

Izertlengen birikpeler qosqatlamlı lipid membranalar ótkiziwshiligin membranaǵa sırtqı agenttiń tuwrıdan – tuwrı destruktiv tásiiri nátiyjesinde transmembranalıq tok – ótkeriwdiń eki usılında arttıradı. Buǵan ápiwayı misalı retinde 10 A, 10-súwretlerde kórsetilgen membrana lipid matriksine destruktiv tásir etiw arqalı biocid peptidler payda etken ion – ótkeriwshi klasterdiń bir molekulasınıń (A) hám molekula agregatlarınıń (B) strukturaları arqalı ámelge asırılatuǵın mexanizmdi keltiriw múmkin.

Bunday molekula yamasa agregatlı struktura amfifil peptid spiralların payda etetuǵın transmembranalıq klasterler ushın boljanğan strukturaǵa uqsaydı [55], bunda ion diffuziyası suw menen aralasqan halda agregat ishinde ámelge asadı. Sonday – aq, lipidlerdiń qosqatlamlı upakovkasında deffektitiń payda bolıwı nátiyjesinde kanal sıyaqlı aktivlik gúzetiliwi múmkin bolǵanlıǵı sebepli [56], úyrenilgen biocid peptidler lipid matriksine destruktiv tásiiri arqalı tok – ótkeriwshi strukturanı júzege keltirip, amfifil peptid spiralları sıyaqlı

funkciyanı tolıq atqarıwı múmkin. Bunday jaǵdayda peptidlerdiń roli membrana arqalı tasılatuǵın ionnıń erkin diffuziyası ushın barerdi páseytiriwge yamasa tolıq saplastırıwǵa jeterli bolǵan qosqatlamnıń dáslepki dúzilisiniń buzılıwı menen túsindiriledi. Bul halat detergentler jaǵdayındaǵı sıyaqlı membrananıń tolıq buzılıwına alıp kelmeydi. Membrananıń strukturası hám onıń morfologiyası úlken masshtabta saqlanıp qaladı, lekin bul barer izertlengen peptidler tásirinde belgili bir deffektke ushıraǵan orınlarda buzılıwı múmkin.

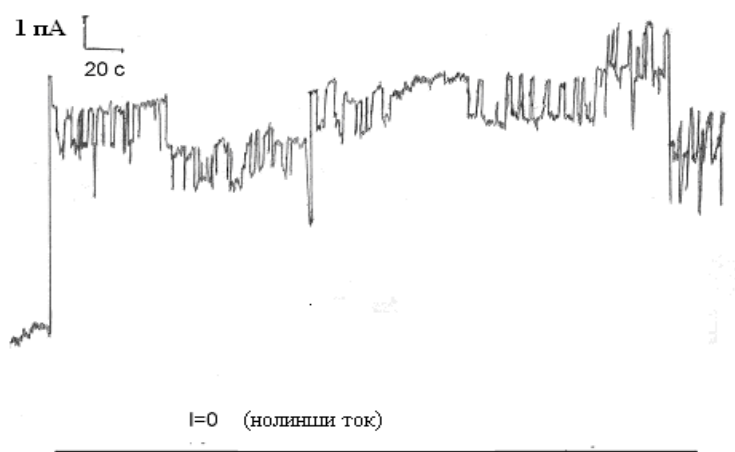


11 – Súwret. Potencial ± 50 mV bolǵanda ekilik logarifmlik koordinatada AFP – V1 biocid peptidi menen modifikaciyalanǵan qosqatlamlı lipid membrana ótkiziwshiligi (G) artıwınıń tioninniń cis – ocektegi koncentraciyasına (C) baylanıslılıǵı

Biocid peptidler menen modicikaciyalanǵan qosqatlamlı lipid membranalar ortasha ótkiziwshiliginiń tioninler koncentraciyalarına baylanıslılıǵı ekilik logarifmlik koordinatada sıızıqlı (11 – súwret) bolıp, múyesh tangensi $1,03 \pm 0,18$ mánisindegi iymekke teń. Bul mánis tok – ótkiziwshi struktura payda bolǵanda membranada suwlı fazada erigen strukturalardıń agregaciya dárejesi artıwı júzege kelmeytuǵınlıǵın dáliyillewshi birlikke jaqın.

Biocid peptidlerdiń tómén koncentraciyasında (5%) kópshilik jaǵdaylarda ótkiziwshiliktiń strukturalanbaǵan ósiwi baqladı. Joqarı koncentraciyalarda bolsa, jeke ion kanallarınıń payda bolıwı gúzetildi (12 – súwret). Bul jaǵday membrana tioninniń 10% hám 20% – li koncentraciyadaǵı eritpeleri menen

modifikatsiyalangannda xarakterli boldi. 10% – li koncentraciyada ortasha otkizivshiligi 275 ± 16 pS ke ten bolgan ($n=5$) kanallar payda boldi. Biocid peptidlerin 20% – li koncentraciyadagi eritpeleri menen modifikatsiyalangan qosqatlamli lipid membranalarin ortasha otkizivshiligini artiri strukturalanbağan ion – otkerivshi strukturalar payda boldi, biraq tajiriybe natijelerindegi magliwmatlarda membrananiñ ayırım bólimlerinde ortasha 2000 ± 85 pS ke ten ($n=5$) manistegi juda joqari otkizivshilikke iye jeke ion kanallari juzege kelgenligi (13 – súwret) anıqladı.



12 – Súwret. Fiksatsiyalangan potencial ± 50 mV bolganda 10% – li AFP – S1 biocid peptidi menen modifikatsiyalangan qosqatlamli lipid membrana otkizivshiligini artiri baqlangan fragmenti



13 – Súwret. Fiksatsiyalangan potencial ± 50 mV bolganda 10% – li AFP – D1 biocid peptidi menen modifikatsiyalangan qosqatlamli lipid membrana otkizivshiligini artiri baqlangan fragmenti

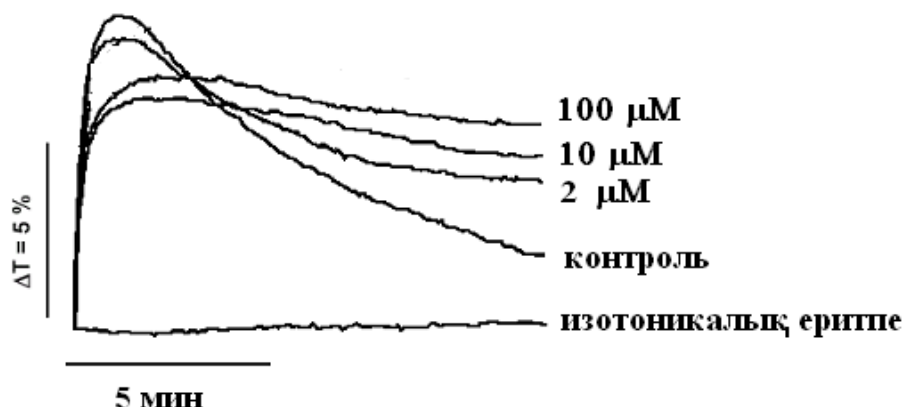
Biocid peptidleriń joqarı koncentraciyalarında qosqatlam turaqlılıǵı membrananıń buzılıwına shekemgi aralıqta páseyip bardı, al tómén koncentraciyalarında bunday effekt gúzetilmedi.

Anethum graveolens hám *Daucus carota sativa* tuqımınlarınıń frakciyalarınan ajratıp alınǵan biocid peptidler membrana fosfolipid qosqatlamında jeke ion kanalların hám strukturalanbaǵan ion – ótkeriwshi dúzilisti payda etiwı arqalı ótkiziwshiliktiń artıwın inducirlew qábiliyetine hámde membranaaktivlikke iye bolıwı anıqlandı. Peptidler yáki belgili dárejedege potencialǵa baylanıslı tok – ótkeriwshi kanallıq strukturalardı payda etiwı, yáki tek ǵana membrana ótkiziwshiligin arttırıwı esabınan tásir etetuǵınlıǵı kórsetip berildi. Alınǵan nátiyjeler izertlengen tioninler tásirinde membranada payda bolatuǵın tok – ótkeriwshi strukturalar ion kanalları hámde “gilem” zonası’ payda bolıw modellerine boysınǵan eki mexanizm boyınsha payda bolıp, olar lipid – belok tábiyatına iye ekenligin kórsetedi. Birinshi mexanizm boyınsha bul peptidler membranaǵa jaylasıp, ion kanalların payda etedi. Ekinshi mexanizm boyınsha bul tioninler ayırım klasterlerdi payda etip membrananı modifikaciyalaydı.

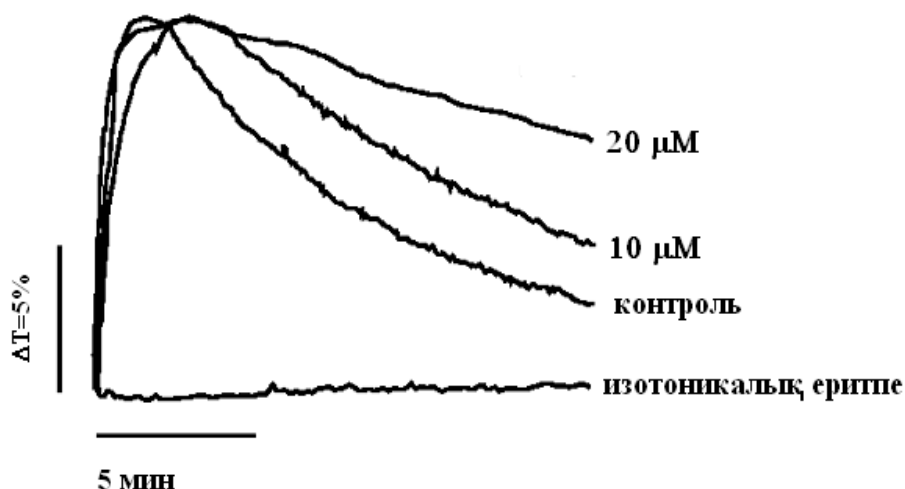
3.2. Fiziologiyalıq aktiv zatlardıń biologiyalıq membranalardıǵa tásiiri

Barlıq kletkalar ómir súriwi dawamında osmotikalıq basım fluktuaciyasına ushıraydı. Sebebi, kletka ishindegi metabolizmdegi sıyaqlı membranalıq transportta da kletka ishindegi hám sırtındaǵı osmotikalıq aktiv komponentler koncentraciyaları ózgeriske ushıraydı. Kólemniń ózgeriwı tek ǵana kletkanıń izotonikalıq ortalıǵın hám formasın uslap turıw ushın emes, sonıń menen bir qatarda fiziologiyalıq juwap qaytarıwdıń etaplarınan biri bolıp esaplanadı. Kletka isingeninde yamasa qısılǵanında kletkanıń plazmatikalıq membranası arqalı suwdıń belgili bir muǵdarınıń transportı ámelge asıwı kerek. Biocid peptidleriń biologiyalıq membranaǵa tásin úyreniw boyınsha alıp barılǵan tájiriybelerde jasalma membranalarda potencial kanaloformer

funkciyasın kórsetken tioninlerdiń gipotonikalıq stimulyaciyalarda kletka kólemin regulyaciyalawǵa effektivligi úyrenildi.



14 – Súwret. Túrli koncentraciyalardıǵı AFP – S1 biocid peptidiniń timocitler kólemin regulyaciyları processine tási. Kletkalar suspenziyalarınıń nur ótkeriwi osmoslıǵı 300 mOsm (izotonikalıq) hám 186 mOsm (gipotonikalıq) bolǵan NaCl – tutqan Ringer eritpesinde $25 \pm 1^\circ\text{C}$ temperaturada registraciyalandı



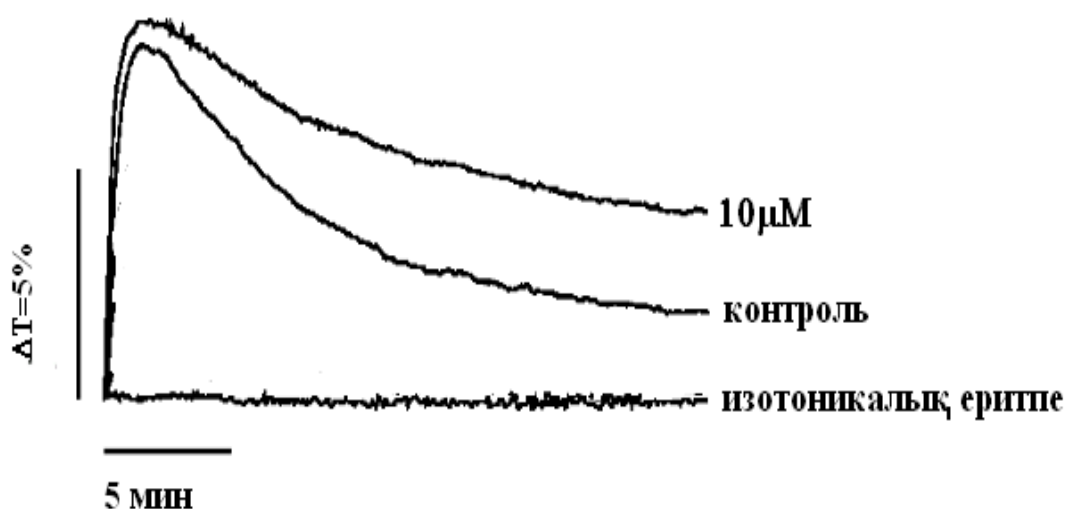
15 – Súwret. Túrli koncentraciyalardıǵı AFP – V1 biocid peptidiniń timocitler kólemin regulyaciyları processine tási. Kletkalar suspenziyalarınıń nur ótkeriwi osmoslıǵı 300 mOsm (izotonikalıq) hám 186 mOsm (gipotonikalıq) bolǵan NaCl – tutqan Ringer eritpesinde $25 \pm 1^\circ\text{C}$ temperaturada registraciyalandı

Izotonikalıq eritpede timocitler suspenziyalarınıń nur ótkeriwi 20 – 30 minut dawamında turaqlı bolıp qaldı. Bul jaǵday kletkalardıń shıǵıw tezligi sezilersiz hám tájiriybelerdegi registraciyalanatuǵın nur ótkeriw ólshemine úles qospaytuǵınlıǵın kórsetedi. Sebebi, kletkalardıń osmotikalıq isiniwi nátiyjesinde

olardıń kóleminiń kishireyiwiniń regulyaciyası usı waqıt intervalında ólshenedi. Basqa tárepten, kletkalardıń texnikalıq zıyanlanıwına hámde mexanikalıq sebeplerge baylanıslı kletka ishindegi ATF, glutation hám t.b. sıyaqlı metabolitlerdiń shıǵıp ketiwi menen sadır bolatuǵın artefaktlerge alıp kelmewi ushın kletka suspenziyaları aralastırılıp barılmadı.

Tájiriybeler dawamında úyrenilgen biocid peptidler timocitler kóleminiń regulyaciyasına túrlishe tásir etetuǵınlıǵı anıqlandı. AFP – S1, AFP – V1, AFP – D1 biocid peptidlerdiń hár túrli koncentraciyalarında timocitler kólemin regulyaciyalaw processine táhiri 14,15,16 – súwretlerde kórsetilgen.

100 μ M, 10 μ M, 2 μ M koncentraciyalardaǵı AFP – S1 biocid peptid tásirinde timocitler kóleminiń regulyaciyası artıp bardı, bunda kletkalardıń qısılıw fazası kontrolǵa (izertleniwshi úlgi qosılmaǵan gipotonikalıq eritpege) salıstırǵanda joqarıdaǵı koncentraciyalarǵa sáykes túrde $27\pm1,1\%$, $38\pm1,3\%$ $40\pm1,8\%$ ke teń boldı (18 – súwret).



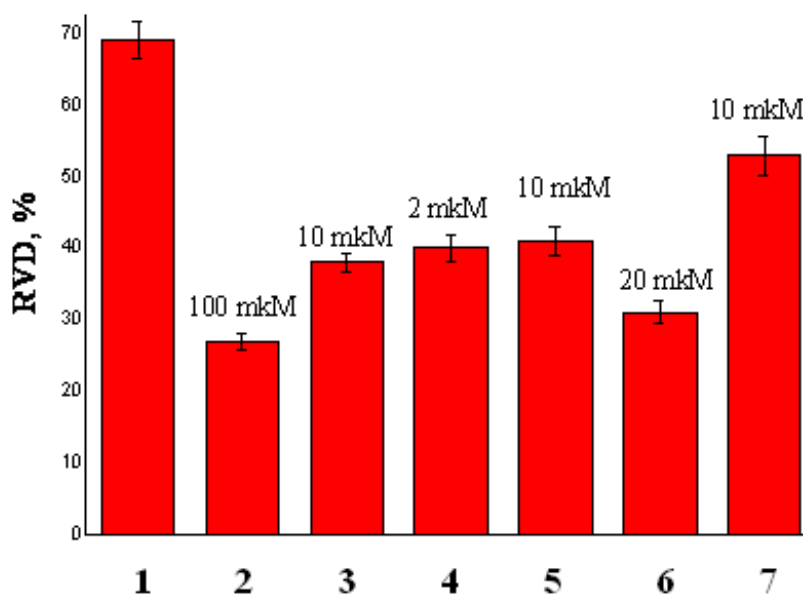
16 – Súwret. 10 μ M koncentraciyadaǵı AFP – D1 biocid peptidiniń timocitler kólemin regulyaciyaları processine táhiri. Kletkalar suspenziyalarınń nur ótkeriwi osmoslılıǵı 300 mOsm (izotonikalıq) hám 186 mOsm (gipotonikalıq) bolǵan NaCl – tutqan Ringer eritpesinde $25\pm1^{\circ}\text{C}$ temperaturada registraciyalandı

20 μ M hám 10 μ M koncentraciyalardaǵı AFP – V1 biocid peptid tásirinde de timocitler kóleminiń regulyaciyası artıp bardı. Bul birikpeniń tómén

koncentraciyasında ($10\mu\text{M}$) kletka kóleminiń regulyaciyası kontrolğa salıstırǵanda $41,4\pm 2\%$ ke teń boldı. Koncentraciya $20\mu\text{M}$ ge shekem arttırılǵanda bul ólshem $31\%\pm 1,6\%$ ti quradı (16 – súwret).

$10\mu\text{M}$ koncentraciyadaǵı AFP – D1 biocid peptid tásirinde timocitler kóleminiń regulyaciyası kontrolğa salıstırǵanda $53\pm 2,7\%$ ke teń boldı (17 – súwret).

Timocit kletkaları kóleminiń regulyaciyası tek ǵana osmotikalıq aktiv eritpeler: organikalıq emes bolǵan natriy, kaliy, xlor hám t.b. elektrolitleri yamasa kishi organikalıq osmolit molekulalarınń kletkaǵa kiriwi yamasa shıǵıwı esabınan ámelge asıwı múmkin.



17 – súwret. Úyrenilgen tionin sıyaqlı ósimlik peptidleriniń túrli koncentraciyaları tásirinde timocit kletkaları kóleminiń regulyaciyası (RVD) processiniń ózgeriwi. 1 – kontrol; 2 – 4 – AFP – S1, 5 – 6 – AFP – S1, 7 – AFP – S1 dep belgilengen peptidlerdiń sáykes túrdegi koncentraciyaları ($M\pm m$, $n=5$, $p<0,05$)

Kópshilik kletkalar kóleminiń kishireyiwi natriy xloridiniń shıǵıp ketiwi, al artıwı bolsa natriy yamasa kaliy xloridleriniń kiriwi nátiyjesinde sadır boladı. Gipotonikalıq yamasa gipertonikalıq shok jaǵdaylarında baqlanatuǵın kólem regulyaciyası kóp muǵdardaǵı membranalıq transport processleriniń aktivleniwi

arqalı júzege keletuǵın osmotikalıq disbalanstı teńsalmaqlılıqqa keltiriwge qaratılǵan fiziologiyalıq funkciya nátiyjesi bolıp esaplanadı.

Alınǵan nátiyjeler AFP – S1, AFP – V1, AFP – D1 biocid peptidlerdiń timocit kletkaları kóleminiń regulyaciyasına dozaǵa baylanıslı túrde tásir etetuǵınlıǵın kórsetti (17 – súwret).

Izertlengen biocid peptidler jasalma membranalar ótkiziwshiligin strukturalanbaǵan, jeke hám hár qıylı jaǵdaylardaǵı ion kanalların payda etip, úsh tipte arttırıwı anıqlanǵan edi. Biocid peptidlerdiń biologiyalıq mebranaǵa tásinin úyreniw boyınsha alıp barılǵan tájiriybelerde jasalma membranalarda aktivlik kórsetken tioninlerdiń gipotonikalıq stimulyaciya jaǵdaylarında kletka kólemin regulyaciyalawǵa tásir etetuǵınlıǵı dáliyillep berildi. Tionin sıyaqlı peptidler dozaǵa baylanıslı timocitler kólemin regulyaciyalawı olardıń biologiyalıq membranalarǵa destrukciyalawshı tásir etetuǵınlıǵı kórsetdi. Jasalma hám biologiyalıq membranalarda ótkizilgen tájiriybeler nátiyjelerine tiykarlanıp, *Anethum graveolens* (ukrop) hám *Daucus carota sativa* (geshir) ósimlikleri tuqımlarınan ajratıp alınǵan biocid peptidlerdiń patogenler lipid matriksine destruktiv tásiriniń molekulyar mexanizmi hámde toksik effektiniń ayırım aspektleri anıqlandı. Alıp barılǵan ilimiy – izertlew jumısındaǵı alınǵan nátiyjeler úyrenilgen peptidlerdiń patogenlerge qarsı fungicid effektiniń molekulyar mexanizmlerinen biri – tioninlerdiń fosfolipid qosqatlamda ion – ótkeriwshi strukturalardı payda etip, kletka membranasındaǵı lipid matriksiniń dáslepki upakovkasında deffektlerdi keltirip shıǵarıwı menen baylanıslı ekenligin kórsetedi. *Anethum graveolens* hám *Daucus carota sativa* tuqımınlarınan frakciyalarınan ajratıp alınǵan biocid peptidler arasında membrana lipid qosqatlamında strukturalanbaǵan ion – ótkeriwshi dúzilisti payda etiw arqalı ótkiziwshiliktiń artıwın inducirlew hám dozaǵa baylanıslı timocitler kólemin regulyacıyaları uqıplılıǵına iye bolıwınıń anıqlanıwı ósimlik biocid peptidleriniń yamasa tioninler klassınıń toksik tásiriniń molekulyar mexanizmleri haqqındaǵı zamanagóy kóz – qaraslardı tolıqtıradı, sonday – aq hár túrli toksinlerdiń patogenler kletkalarınıń membranaları menen óz – ara lipid

– belok tásirlesiw xarakteri haqqındaǵı túsiniklerdi keńeytiredi. Bul, óz nábwetinde, úyrenilgen ob'ektlar tiykarında jańa preparatlardı maqsetli túrde jaratıwdadı teoriyalıq kórsetpelerdi keltirip shıǵarıwǵa imkaniyat beredi.

JUWMAQ

Joqarıdağılardan kelip shıǵıp, *Anethum graveolens* hám *Daucus carota sativa* tuqımalarınan ajıratıp alınǵan peptidlerdiń kation frakciyalarınıń jasalma hám biologiyalıq membranalarǵa tásiiri úyrenildi.

Tioninler wákılleriniń bir qatarınıń antimikrob aktivligi kletka membranasına ósimlik peptidleri tásirinde onıń ótkiziwshiliginiń artıwı menen ámelge asadı. Bunda qaralıp atırǵan tásirlesiw elektrostatalıq bolıp, ol onıń zaryadlangan tionin molekulaları hám membrananıń teris zaryadlangan fosfolipidleri arasında payda bolatuǵınlıǵı kórsetilgen. Tásirlesiw nátiyjesinde membrana betinde tesik payda bolıwı baqlanadı. Bıraq bunday tásirlesiw tipi membrananıń túrine joqarı dárejede baylanıslı ekenligi belgilep berilgen.

Birinshi tiptegi ion – ótkeriwshi strukturalar úyrenilgen zatlardı qos qatlamlı lipid membranaǵa jaylastırıwda payda boldı, al ekinshi tiptegi tok – ótkeriwshi strukturalar kópshilik jaǵdaylarda membrananı lipid eritpesine dáslepki koncentraciyası 0,05 mM bolǵan izertlengen birikpeni qosıp payda etiwde gúzetildi.

Ekinshi tiptegi tok – ótkeriwshi strukturalar funkciyasın analizlew arqalı olardıń halatlarınıń kóp bolıwı kórsetildi.

Úshinshi tiptegi tok – ótkeriwshi strukturalardıń tiykarınan tek ǵana bir halatı bolıwı anıqlandı. Bul kórinis izertlenip atırǵan zatlar payda etken ion – ótkeriwshi strukturalardıń potencialǵa baylanıslı funkciyasınan, kanal orayına salıstırmalı túrde bir tekliliginen hám simmetriyalı energetikalıq profilinnen, sonday – aq qosqatlamda tesik payda bolǵanınan derek beredi.

Úyrenilgen peptidler strukturalanbaǵan ion – ótkeriwshi dúzilisti payda etiw arqalı ótkiziwshiliktiń artıwın inducirlew qábiliyetine iye boldı. Izertlengen birikpelerdiń qosqatlamlı lipid membranalar ótkiziwshiligine tásin salıstırıw arqalı *Daucus carota sativa* tuqımınan ajıratıp alınǵan biocid peptidler qaysı frakciyalardan ajıratıp alınǵanlıǵına qaramastan belgili bir aktivlikke iye bolıwı kórsetildi. *Anethum graveolens* tuqımınan ajıratıp alınǵan biocid peptidler

arasında tek ғана úshinshi frakciyalardan ajıratıp alınған úlgi joqarı membranaaktiv qásiyetke iye ekenligi anıqlandı. Bunday peptidler belgili dárejedegi potencialǵa baylanıslı tok – ótkeriwshi strukturalardı payda etiwge uqıplı ekenligi kórsetildi, al qalğan úlgiler tek ғana membrana ótkiziwshiligin arttırıwdı inducirlep, sezilerli dárejedegi kanal tipindegi ion – tasıwshı konstrukciyanı payda etpedi. Alınған nátiyjeler anıqlanған qosqatlamnıń buzılıwı esabınan payda bolatuǵın tok – ótkeriwshi strukturalardıń lipid – belok tábiyatına iye ekenliginen derek beredi. Bunday molekualı yamasa agregatlı struktura amfifil peptid spiralları payda etetuǵın transmembranalıq klasterler ushın boljanған strukturaǵa uqsaydı, bunda ion diffuziyası suw menen aralasqan halda agregat ishinde ámelge asadı. Sonday – aq, lipidlerdiń qosqatlamlı upakovkasında deffektin payda bolıwı nátiyjesinde kanal sıyaqlı aktivlik gúzetiliwi múmkin bolǵanlıǵı sebepli, úyrenilgen biocid peptidler lipid matriksine destruktiv tásir etiwı arqalı tok – ótkeriwshi strukturanı júzege keltirip, amfifil peptid spiralları sıyaqlı funkciyanı tolıq atqarıwı múmkin. Bunday jaǵdayda peptidlerdiń roli membrana arqalı tasılatuǵın ionnıń erkin diffuziyası ushın barerdi páseytiriwge yamasa tolıq saplastırıwǵa jeterli bolған qosqatlamnıń dáslepki dúzilisiniń buzılıwı menen túsindiriledi. Bul halat detergentler jaǵdayındaǵı sıyaqlı membrananiń tolıq buzılıwına alıp kelmeydi. Membrananiń strukturası hám onıń morfologiyası úlken masshtabta saqlanıp qaladı, lekin bul barer izertlengen peptidler tásirinde belgili bir deffektke ushırağan orınlarda buzılıwı múmkin.

Anethum graveolens hám *Daucus carota sativa* tuqımlarınıń frakciyalarınan ajıratıp alınған biocid peptidler membrana fosfolipid qosqatlamında jeke ion kanalların hám strukturalanbağan ion – ótkeriwshi dúzilisti payda etiwı arqalı ótkiziwshiliktiń artıwın inducirlew qábiliyetine hámde membranaaktivlikke iye bolıwı anıqlandı. Peptidler yáki belgili dárejedegi potencialǵa baylanıslı tok – ótkeriwshi kanallıq strukturalardı payda etiwı, yáki tek ғana membrana ótkiziwshiligin arttırıwı esabınan tásir etetuǵınlıǵı kórsetip berildi. Alınған nátiyjeler izertlengen tioninler tásirinde

membranada payda bolatuǵın tok – ótkeriwshi strukturalar ion kanalları hámde “gilem” zonası payda bolıw modellerine boysınǵan eki mexanizm boyınsha payda bolıp, olar lipid – belok tábiyatına iye ekenligin kórsetedi. Birinshi mexanizm boyınsha bul peptidler membranaǵa jaylasıp, ion kanalların payda etedi. Ekinshi mexanizm boyınsha bul tioninler ayırım klasterlerdi payda etip membrananı modifikaciyalaydı.

Timocit kletkaları kóleminiń regulyaciyası tek ǵana osmotikalıq aktiv eritpeler: organikalıq emes bolǵan natriy, kaliy, xlor hám t.b. elektrolitleri yamasa kishi organikalıq osmolit molekulalarınıń kletkaǵa kiriwi yamasa shıǵıwı esabınan ámelge asıwı múmkin. Kópshilik kletkalar kóleminiń kishireyiwi natriy xloridiniń shıǵıp ketiwi, al artıwı bolsa natriy yamasa kaliy xloridleriniń kiriwi nátiyjesinde sadır boladı. Gipotonikalıq yamasa gipertonikalıq shok jaǵdaylarında baqlanatuǵın kólem regulyaciyası kóp muǵdardaǵı membranalıq transport processleriniń aktivleniwi arqalı júzege keletuǵın osmotikalıq disbalanstı teńsalmaqlılıqqa keltiriwge qaratılǵan fiziologiyalıq funkciya nátiyjesi bolıp esaplanadı.

Izertlengen biocid peptidler jasalma membranalar ótkiziwshiligin strukturalanbaǵan, jeke hám hár qıylı jaǵdaylardaǵı ion kanalların payda etip, úsh tipte arttırıwı anıqlanǵan edi. Biocid peptidlerdiń biologiyalıq mebranaǵa tásirin úyreniw boyınsha alıp barılǵan tájiriybelerde jasalma membranalarda aktivlik kórsetken tioninlerdiń gipotonikalıq stimulyaciya jaǵdaylarında kletka kólemin regulyaciyalawǵa tásir etetuǵınlıǵı dáliyillep berildi. Tionin sıyaqlı peptidler dozaǵa baylanıslı timocitler kólemin regulyaciyalawı olardıń biologiyalıq membranalarǵa destrukciyalawshı tásir etetuǵınlıǵın kórsetdi.

Jasalma hám biologiyalıq membranalarda ótkizilgen tájiriybeler nátiyjelerine tiykarlanıp, *Anethum graveolens* (ukrop) hám *Daucus carota sativa* (geshir) ósimlikleri tuqımlarınan ajratıp alınǵan biocid peptidlerdiń patogenler lipid matriksine destruktiv tásiriniń molekulyar mexanizmi hámde toksik effektiniń ayırım aspektleri anıqlandı. Alıp barılǵan ilimiy – izertlew jumısındaǵı alınǵan nátiyjeler úyrenilgen peptidlerdiń patogenlerge qarsı

fungicid effektiniń molekulyar mexanizmlerinen biri – tioninlerdiń fosfolipid qosqatlamda ion – ótkeriwshi strukturalardı payda etip, kletka membranasındaǵı lipid matriksiniń dáslepki upakovkasında deffektlerdi keltirip shıǵarıwı menen baylanıslı ekenligin kórsetedi.

1. *Anethum graveolens* hám *Daucus carota sativa* tuqımınan poliakrilamid gelde elektroforez usılında peptid frakciyaları ajratıp alındı.
2. Ajratıp alınǵan biocid peptidler jasalma membranalar ótkiziwshiligin úsh tipte arttırıwı (strukturalanbaǵan, jeke hám hár qıylı jaǵdaylardaǵı ion kanalların payda etiwı) anıqlandı.
3. Tionin sıyaqlı peptidler biologiyalıq membranalarǵa (timocitler kólemin regulyaciyaları processine) destrukciyalawshı tásir etetuǵınlıǵı kórsetildi.
4. Úyrenilgen peptidlerdiń patogenlerge qarsı toksik effektiniń molekulyar mexanizmlerinen biri – tioninlerdiń fosfolipid qosqatlamda ion – ótkeriwshi strukturalardı payda etip, kletka membranasındaǵı lipid matriksiniń dáslepki upakovkasında deffektlerdi keltirip shıǵarıwı menen túsindiriledi.

PAYDALANILGAN ÁDEBIYATLAR DIZIMI

I. Normativ hújjetler:

1. Ўзбекистон Республикаси Конституцияси. – Т.: Ўзбекистон, 2014.
2. Ózbekistan Respublikasınıń “Bilimlendiriw haqqındaǵı” nızamı. Т., 1998 j.
3. Ózbekistan Respublikasınıń “Kadrlar tayarlaw milliy dástu’ri”. Т. 1998 j.
4. “Магистратура тўғрисидаги” низоми. Т. 2015.

II. Ózbekistan Respublikası birinshi Prezidenti I.A.Karimovtiń

shıǵarmaları:

1. Karimov I.A. Ózbekistan keleshegi ullı mámleket. Т.: “Ózbekistan”, 1992 j.
2. Каримов И.А. Юксак маънавият – енгилмас куч. –Т.: «Маънавият», 2008.
3. Каримов И.А. Ўзбекистон мустақилликка эришиш остонасида. – Т.: Ўзбекистон, 2011
4. Каримов И.А. Ўзбекистон халқига тинчлик ва омонлик керак. Т.21. – Т.: Ўзбекистон, 2013.
5. Каримов И.А. Ўзбекистон эришган ютуқ ва марралар – биз танлаган ислохотлар йўлининг тасдиғидир. Т.22. – Т.: Ўзбекистон, 2014.
6. Каримов И.А. Она юртимиз бахту иқболи ва буюк келажаги йўлида хизмат қилиш – энг олий саодатдир. – Т.: Ўзбекистон, 2015

III. Tiykargı ádebiyatlar

1. Баженов Л.Г. Новые технологии в медицине. Санкт-Петербург, 2005, стр. 111.
2. Ковалевская (Андреева) Ж.И. Выделение и характеристика гемолизина II *Bacillus cereus*: Дисс. канд. биол. наук. М.: ФГУП, 2007, 156 с.
3. Якубовская Р. И. *Рос. биотерапев. журн.* 2007, №3, С.5-14.
4. Andreeva, Zh.I., Nesterenko, V.F., Yurkov, I.V., Budarina, Z.I., Sineva, E.V., Solonin, A.S. *Protein Expr. Purif.* (2006) **47**, 186–193.

5. Andreeva, Zh.I., Nesterenko, V.F., Fomkina, M.G., Ternovsky, V.I., Suzina, N.E., Bakulina, A.Y., Solonin, A.S., Sineva, E.V. *Biochim. Biophys. Acta*, (2007) **1768**, 253–263.
6. Bohlmann H., Vignutelli A., Hilpert B., Miersch O., Wasternack C., Apel K. Wounding and chemicals induce expression of the *Arabidopsis thaliana* gene Thi2.1, encoding a fungal defense thionin, via the octadecanoid pathway. // *FEBS Lett.*, 1998, N.437, P.281-286.
7. Bruix M., Jimenez M. A., *Biochemistry* (2005), **32**: 715–724.
8. Brummer J. *et al. J. Biochem.* 2004. N.219. P.425-433.
9. Cammue B.P., De Bolle M.C. *et al.* Isolation and characterization of a novel class of plant antimicrobial peptides from *Mirabilis jalapa* L. seeds. // *J.Biochem.* 1997. N.267. P.2228-2233.
10. Castro M.S., Fontes W. Plant defence and antimicrobial peptides. // *Protein Pept. Lett.* 2005, N.25, P.24-29.
11. Coulon A., Berkane E., Sautereau A. M., Urech K., Rouge P. and Lopez A. Modes of membrane interaction of a natural cysteine-rich peptide: viscotoxin A3. // *Biochim. Biophys. Acta* (2002) **1559**: 145–159.
12. Cowan M.M. Plant products as antimicrobial agents. // *Clin. Microbial. Rev.* 1999. **2**: 75–77.
13. Desamblanx G. W. and Osborn R. W. Antimicrobial peptides from plants. // *Crit. Rev. Plant Sci.* 1997. **3**: 15–20.
14. Caaveiro J.M., Molina A. *et al.* Differential effects of five types of antipathogenic plant peptides on model membranes. // *FEBS Lett.* 1997. N.410. P.338-342.
15. Diversity of wheat anti-microbial peptides. /Egorov T.A., Odincova T.I. *et al.* // *Peptides*. 2005. N.15. P.162–172.
16. Egorov T. A., Odinstova T. I., Pukhalsky U. A. and Griskin E. V. Diversity of wheat antimicrobial peptides. *Peptides*. 2005. N.26: 2064–2073.
17. Fyles T.M., Van Staaten-Nijenhuis W.F. Ion Channel Models. *In: Comprehensive Supramolecular Chemistry.* // Ed. Reinhoudt D. /Elsevier, Amsterdam, 1996. V.10, Ch.3, P.255.

18. Garcia-Olmedo F., Molina A., Alamillo J. M. and Rodriguez-Palenzuela P. Plant defense peptides. // *Biopolymers*. 1998. N.3, P.55.
19. Garcia-Olmedo F., Rodriguez-Palenzuela P. et al. Antibiotic activities of peptides, hydrogen peroxide and peroxynitrite in plant defence. // *FEBS Lett*. 2001. N.10. P.270.
20. Giudici M., Pascual R., de la Canal L., Pfaffner K., Pfaffner U. and Villalain J. (2003) Interaction of viscotoxins A3 and B with membrane model systems: implications to their mechanism of action. *Biophys. J.* 85: 971–981.
21. Gonzalez, M.R., Bischofberger, M., Pernot, L., van der Goot, F.G., Freche, B. *Cell. Mol. Life Sci.*, (2008) **65**, 493–507.
22. Hopton Cann S.A., van Netten J.P., van Netten C. Dr William Coley and tumor regression: a place in history in the future. // *Postgrad. Med. J.*, 2003, **79**, p.672-680.
23. Hughes P., Dennis E., Whitecross M. et al. The cytotoxic plant protein, β -purothionin, forms ion channels in lipid membranes. // *J.Biochem*. 2000. N.275. P.823-827.
24. Hughes P., Dennis E., Whitecross M., Llewellyn D. and Gage P. The cytotoxic plant protein, beta-purothionin, forms ion channels in lipidmembranes. // *J. Biol. Chem.* (2000) **275**: 823– 827.
25. Janssen B. J., Schirra H. J., Lay F. T. anderson M. A. and Craik D. J. Structure of *Petunia hybrida* defensin 1, a novel plant defensin with five disulfide bonds. // *Biochemistry* (2003) **42**: 8214–8222.
26. Jayasunria N., Bosak S., Regen S.L. Channel-like defect-formation in bilayer membranes // *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, N.112, P.5844.
27. Johansson S., Gullbo J. et al. Small, novel proteins from the mistletoe *Phoradendron tomentosum* exhibit highly selective cytotoxicity to human breast cancer cells. // *Cell. Mol. Life Sci.* 2003. N.60. P.165-175.
28. Lay F. T., Schirra H. J., Scanlon M. J. anderson M. A. and Craik D. J. The three-dimensional solution structure of NaD1, a new floral defensin from

- Nicotiana glauca* and its application to a homology model of the crop defense protein alfAFP. // *J. Mol. Biol.* (2003) **325**: 175–188.
29. Li S. S., Gullbo J., Lindholm P., Larsson R., Thunberg E., Samuelsson G. and et al. Ligatoxin B, a new cytotoxic protein with a novel helix-turn-helix DNA-binding domain from the mistletoe *Phoradendron lig.* // *Biochem. J.* (2002) **366**: 405– 13.
 30. Liu Y., Luo J. et al. Purification, characterization and molecular cloning of the gene of a seed-specific antimicrobial protein from pokeweed. // *Plant Physiol.* 2000. N.122. P.1015-1029.
 31. Llanos P, Henriquez M., Minic J., Elmorjani K., Marion D., Riquelme G. and et al. Neuronal and muscular alterations caused by two wheat endosperm proteins, puroindoline and alpha1-purothionin, are due to ion pore formation. *Eur. Biophys. J.* (2004) **33**: 283–287.
 32. Luo P., Wang Y.W. et al Molecular cloning and functional identification of (+)-delta-cadinene-8-hydroxylase, a cytochrome P450 mono-oxygenase (CYP706B1) of cotton sesquiterpene biosynthesis. // *Plant Journal.* 2001. N.28. P.95-104.
 33. McAuslane H.J., Alborn H.T. Influence of previous herbivory on behavior and development of *Spodoptera exigua* larvae on glanded and glandless cotton. // *Entomologia Experimentalis et Applicata.* 2000. N97. P.283-291.
 34. Milbradt A. G., Kerek F., Moroder L. and Renner C. Structural characterization of hellethionins from *Helleborus purpurascens*. // *Biochemistry* (2003) **42**: 2404–2411.
 35. Montal M., Mueller P. Formation of bimolecular membranes from lipid monolayers and a study of their electrical properties // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1972, V.69. P.3561-3566.
 36. Papo N. and Shai Y. Exploring peptide membrane interaction using surface plasmon resonance: differentiation between pore formation versus membrane disruption by lytic peptides. // *Biochemistry* (2003) **42**: 458–466.

37. Puckhaber L.S., Stipanovic R. D. Revised Structure for a Sesquiterpene Lactone from *Bombax malbarica*. // *J. Nat. Prod.* 2001. N.64. P.260-261.
38. Richard J. A., Kelly I., Marion D., Auger M. and Pezolet M. Structure of beta-purothionin in membranes: a two-dimensional infrared correlation spectroscopy study. // *Biochemistry* (2005) **44**: 52–61.
39. Segura A., Moreno M. et al. Novel defensin subfamily from spinach. // *FEBS Lett.* 1998. N.435. P.159-162.
40. Sitaram N. and Nagaraj R. Interaction of antimicrobialpeptides with biological and model membranes: structural and charge requiremenc for activity. // *Biochim. Biophys. Acta* (1999) **1462**: 29–54.
41. Song P., Heinen J.L. et al. Expression of two tissue-specific promoters in transgenic cotton. // *The Journal of Cotton Science*, 2000, **4**, 217-223.
42. Stec B., Markman O., Rao U., Heffron G., Henderson S., Vernon L. P. et al. Proposal for molecular mechanism of thionins deduced from physico-chemical studies of plant toxins. // *J. Pept. Res.* (2004) **64**: 210–224.
43. Stein G. M., Pfuller U., Schietzel M. and Bussing A. Toxic proteins from European mistletoe (*Viscum album* L.): increase of intracellular IL-4 but decrease of IFN-gamma in apoptotic cells. // *Anticancer Res.* (2000) **20**: 1673–1678.
44. Tabiasco J., Pont F., Fournie J. J. and Vercellone A. Mistletoe viscotoxins increase natural killer cell-mediated cytotoxicity. // *Eur. J. Biochem.* (2002) **269**: 2591–2600.
45. Terras F.R.G., Torrekens S. et al. A new family of basic cystein-rich plant antifungal proteins from *Brassicaceae* species // *FEBS Lett.*, 1998, N.316, P.233-240.
46. Thevissen K., Ghazi A. et al. Fungal membrane responses induced by plant defensins and thionins. // *J.Biochem.* 1996. N.271. P.15018-15025.
47. Thevissen K., Osborn R.W. et al. Specific binding sites for an antifungal plant defensins from dahlia. // *Mol. Plant Microbe Interact.* 2000. N.13. P.54-61.

48. Thevissen K., Osborn R.W. et al. Specific, high affinity binding sites for an antifungal plant defensins on *Neurospora crassa* hyphae and microsomal membranes. // *J.Biochem.* 1997. N.272. P.32176-32189.
49. Thevissen K. et al. Permeabilization of fungal membranes by plant defensins inhibits fungal growth. // *Appl.Environ.Microbiol.* 1999. N.65. P.5451-5458.
50. Vignutelli A., Wasternack C., Apel K. and Bohlmann H. Systemic and local induction of an *Arabidopsis* thionin gene by wounding and pathogens. // *Plant J.* (1998) **14**: 285–295.
51. Wagner M. et al. Induction of mitochondrial Apo2.7 molecules and generation of reactive oxygen-intermediates in cultured lymphocytes by the toxic proteins from *Viscum album* L. // *Cancer Lett.* 1999. N.139. P.79-88.
52. Yili A., Aisa H.A., Maksimov V.V., Veshkurova O.N., Arzanova I.A., Salikhov Sh. I. Isolation of biocidal peptides from *Daucus carota* seeds // *Chem. Nat. Comp.*, 2006, V.42, N.2, P.201-203.
53. Yili A., Maksimov V.V., Imamu H., Zyavitdinov J.F., Veshkurova O.N., Aisa H.A., Salikhov Sh.I. Isolation of biocidal peptides from *Anethum graveolens* seed // *Chem. Nat. Comp.*, 2006, V.42, N.5, P.588-591.
54. Zhang Y., Lewis K. Fabatins: new antimicrobial plant peptides. // *FEMS Microbiol. Lett.* 1997. N.149. P.59-64.
55. Сонькина С.Н., Косымбетов П.Г., Пшеничников Е.А., Вешкурова О.Н., Салахутдинов Б.А. Исследование мембраноактивных свойств биоцидных пептидов. «Новые достижения в получении, изучении и применении лекарственных средств на основе природного сырья», Ташкент, 9-10 Октября, 2006, стр. 225-226.
56. Сонькина С.Н., Косымбетов П.Г., Салахутдинов Б.А., Вешкурова О.Н., Сабилов Р.З. Изучение электрических характеристик липидных бислоев, модифицированных тионинподобными пептидами. «Актуальные проблемы биологии, экологии и почвоведения», Ташкент, 17-18 Ноября, 2006, стр. 111-112.

57. Сонькина С.Н., Йили А., Косымбетов П.Г., Салахутдинов Б.А., Вешкурова О.Н. Исследование влияния биоцидных пептидов на проводимость бислойных липидных мембран. *«Ўзбекистонда табиий бирикмалар кимёсининг ривожига келажак»*, Тошкент, 27-28 апрель, 2007, стр. 56-57.
58. Косымбетов П.Г., Сонькина С.Н., Йили А., Максимов В.В., Вешкурова О.Н., Алламуратов Ш.И., Салахутдинов Б.А., Арипов Т.Ф. Исследование влияния пептидов из семян *Anethum graveolens* и *Daucus carota sativa* на проводимость бислойных липидных мембран. *Узбекский биологический журнал*, 2008, №3, стр. 10-15.
59. П.Г.Косымбетов, Г.Н.Бабаниязова, С.Н.Сонькина, Б.А.Салахутдинов. Исследование катионных фракций некоторых биоцидных пептидов. *«Актуальные проблемы развития химической науки, технологии и образования в Республике Каракалпакстан»*, Нукус, 16-17 марта 2011, стр. 33.
60. П.Г.Косымбетов, Г.Н.Бабаниязова, С.Н.Сонькина, Б.А.Салахутдинов. Влияние некоторых биоцидных пептидов на проводимость бислойных липидных мембран. *«Актуальные проблемы развития химической науки, технологии и образования в Республике Каракалпакстан»*, Нукус, 16-17 марта 2011 г., стр. 33-34.
61. Косымбетов П.Г., Алламбергенова К.Р., Бекполатова Б.М., Утениязов К.К. Теоретические и практические предпосылки для целенаправленного создания новых биодоступных гемостатических средств на основе лагохилина. Материалы республиканской научно-практической конференции «Рациональное использование природных ресурсов Южного Приаралья», Нукус, Республика Каракалпакстан, 2013, С.99
62. Косымбетов П.Г., Алламбергенова К.Р., Бекполатова Б.М., Утениязов К.К. Исследование комплексообразующих свойств производных лагохилина методом кондуктометрии. Материалы республиканской научно-практической конференции «Рациональное использование

природных ресурсов Южного Приаралья», Нукус, Республика Каракалпакстан, 2013, С.135-136

63. Косымбетов П.Г., Алламбергенова К.Р., Бекполатова Б.М., Утениязов К.К. Исследование состояния тромбоцитарного гемостаза под действием лагохилина и его некоторых производных. Материалы XIII Республиканской научной конференции молодых ученых Каракалпакстана, Нукус, 20 декабря 2013 года, С.32.
64. Косымбетов П.Г., Хажигаев К.Г., Алламбергенова К.Р., Утениязов К.К. Поиск возможного молекулярного механизма действия биоцидных пептидов на биологические мембраны. *Вестник Каракалпакского государственного университета им. Бердаха*, Нукус, 2016, №1, стр. 17-19.
65. Косымбетов П.Г., Оспанова З.С., Алламбергенова К.Р., Бекполатова Б.М., Утениязов К.К. Определение термодинамических параметров фазовых превращений липидов под влиянием производных лагохилина. *Вестник Каракалпакского отделения Академии наук Республики Узбекистан*, Нукус, 2016, №1, стр. 42-45.
66. Косымбетов П.Г., Алламбергенова К.Р., Зайнутдинов У.Н. Исследование времени реакции гемокоагуляции под действием лагохилина и его производных. «Ўзбекистонда табиий бирикмалар кимёсининг ривожига келажак» илмий-амалий конференцияси материаллари тоълами, Тошкент, 2016 йил, 18-19 май, 192 б.
67. Косымбетов П.Г., Алламбергенова К.Р. Физиологиялық актив бирикпелердин жасалма ҳәм биологиялық мембраналардың тәсир механизми. Магистрантлардың илимий мийнетлериниң топламы, Нөкис, ҚМУ, 2016 жыл, 38-40 б.
68. Косымбетов П.Г., Оспанова З.С., Алламбергенова К.Р., Торамбетов Б.С. Лагохилин ҳәм оның айырым туъындыларының комплекс пайда этиў қәсийетлерин үйрениў. Магистрантлардың илимий мийнетлериниң топламы, Нөкис, ҚМУ, 2016 жыл, 48-51 б.

69. Косымбетов П.Г., Хажибаев К.Г., Алламбергенова К.Р. *Areaceae* семействосы айрым өсимликлери тионинлериниң мембранатроп механизмин үйрениў. Магистрантлардың илимий мийнетлериниң топламы, Нөкис, ҚМУ, 2016 жыл, 52-55 б.
70. Косымбетов П.Г., Джуманова З.К., Бекполатова Б.М., Алламбергенова К.Р. Влияние дитерпеноидов растений рода *Lagochilus* на фазовые превращения липидов. Материалы V республиканской научно-практической конференции «Рациональное использование природных ресурсов Южного Приаралья», Нукус, 2016, С.54-55.
71. P.G.Kosimbetov, K.R.Allambergenova, A.P.Matekeeva. Selderey o'simliginen membranaaktiv peptidlerdi aji'rati'p ali'w. Материалы республиканской научно-теоретической конференции «Вопросы сохранения, восстановления и охраны биологического разнообразия», Нукус, 2016, стр. 99
72. Косымбетов П.Г., Алламбергенова К.Р. Исследование влияния тионинподобных белков на модельные бислойные липидные мембраны. Материалы республиканской научно-теоретической и практической конференции «Наука, образование и воспитание – интеллектуальное зеркало общества», Нукус, 22-23 декабря, 2016 г., стр. 43-44.
73. П.Г.Косымбетов, Б.С.Торамбетов, А.Д.Кудиярова, К.Р.Алламбергенова. *Lagochilus* туркуми ўсимликларининг мембранаактив дитерпеноидлари. ТМАУ
74. Косымбетов П.Г., Джуманова З.К., Алламбергенова К.Р., Матекеева А.П. Мембранатроп механизмлери ҳәр қыйлы болған краун-эфирлердиң термодинамикалық өзгешеликлери. *Вестник Каракалпакского государственного университета им. Бердаха*, Нукус, 2017, №1, стр.
75. Косымбетов П.Г., З.К.Джуманова, К.Р.Алламбергенова, А.П.Матекеева. Изучение катион-анионой избирательности

бислойных липидных мембран, модифицированных производными лагохилина. *Вестник Каракалпакского отделения Академии наук Республики Узбекистан*, Нукус, 2017, №1, стр.

76. П.Г.Косымбетов, К.Р.Алламбергенова. Тионинлердин жасалма хэм биологиялык мембраналарға тәсир механизлерин үйрениў. Магистрантлардың илимий мийнетлериниң топламы, Нөкис, ҚМУ, 2017 жыл
77. П.Г.Косымбетов, К.Р.Алламбергенова. Дитерпеноидлардың жасалма хэм биологиялык мембраналарға тәсир механизлерин үйрениў. Магистрантлардың илимий мийнетлериниң топламы, Нөкис, ҚМУ, 2017 жыл.

Internet maǵlıwmatları:

1. <http://www.gov.uz//>
2. <http://www.uz//>
3. <http://www.infocom.uz//>
4. <http://www.ziyonet.uz//>
5. <http://www.edu.uz//>
6. <http://www.nuu.uz//>
7. <http://www.karsu.uz//>