

**МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ ВА ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017. В.38.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

ГАЙИБОВ УЛУГБЕК ГАШПАРЖАНОВИЧ

**ЕУРОПВА ЎСИМЛИКЛАРИ ПОЛИФЕНОЛЛАРИНИНГ
МИТОХОНДРИЯ ФУНКЦИОНАЛ ПАРАМЕТРЛАРИГА ТАЪСИРИ**

03.00.08 – Одам ва ҳайвонлар физиологияси

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ФАНЛАРИ ДОКТОРИ
(PhD) ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2018

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)
Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Гайибов Улугбек Гаппаржанович

Euphorbia ўсимликлари полифенолларининг митохондрия
функционал параметрларига таъсири 5

Гайибов Улугбек Гаппаржанович

Влияние полифенольных соединений растений Euphorbia на
функциональные параметры митохондрий 21

Gayibov Ulugbek Gapparjanovich

Influence of polyphenol compounds of Euphorbia plants on functional
parameters of mitochondria..... 39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works..... 45

**МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ ВА ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017. В.38.01 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

ГАЙИБОВ УЛУГБЕК ГАШПАРЖАНОВИЧ

**EURHOVIA ЎСИМЛИКЛАРИ ПОЛИФЕНОЛЛАРИНИНГ
МИТОХОНДРИЯ ФУНКЦИОНАЛ ПАРАМЕТРЛАРИГА ТАЪСИРИ**

03.00.08 – Одам ва ҳайвонлар физиологияси

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2018

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2018.4.PhD/В249 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертацияси Биоорганик кимё институтида бажарилган.

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

Илмий раҳбар:

Арипов Таҳир Фатихович

биология фанлари доктори, профессор, академик

Расмий оппонентлар:

Кучкарова Любовь Салижановна

биология фанлари доктори, профессор

Суяров Акрам Амиркулович

тиббиёт фанлари доктори

Етакчи ташкилот:

Андижон давлат университети

Диссертация ҳимояси Микробиология институти ва Ўзбекистон Миллий университети ҳузуридаги DSc.27.06.2017.B.38.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2018 йил «__» _____ соат ____даги мажлисида бўлади (Манзил: 100128, Тошкент ш., Шайхонтоҳур тумани, А Қодирий кўчаси 7 б-уй, Микробиология институти мажлислар залида. Тел.: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, факс: (+99871) 241-92-71, e-mail: microbio@academy.uz).

Диссертация билан Микробиология институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (___ рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100128, Тошкент ш., Шайхонтоҳур тумани, А.Қодирий кўчаси 7 б-уй, Микробиология институти маъмурий биноси, 5-қават, кутубхона. Тел.: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98.

Диссертация автореферати 2018 йил «__» _____ да тарқатилди.
(2018 йил _____даги ____ рақамли реестр баённомаси).

Джуманиязова Гульнара Исмаиловна

Илмий даражалар берувчи Илмий кенгаш
раисининг ўринбосари, б.ф.д., профессор

Жураева Рохила Назаровна

Илмий даражалар берувчи Илмий кенгаш
илмий котиби, б.ф.н.

Рахимова Турахон Узаковна

Илмий даражалар берувчи Илмий кенгаш
кошидаги илмий семинар раиси, б.ф.д., профессор

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертациясининг аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда замонавий тиббиёт ва фармакологияда маълум бир касалликларга қарши йўналтирилган ва салбий таъсирга эга бўлмаган энг самарали дори воситаларини аниқлашга алоҳида этибор қаратилмоқда. Таъкидлаш жоизки, кўплаб касалликларнинг келиб чиқиш ҳолатлари ёки уларни кечиши митохондрияларнинг функционал параметрларини бузилиши сабаб бўлади. Бу борада, организмни турли стресс ҳолатларга адаптация жараёнларини полифенол бирикмалар ёрдамида кучайтириш ва улар асосида терапевтик таъсирга эга рақобатбардош нейро- ва кардиопротектор ҳамда антигипоксанти дори воситаларини яратиш илмий ва амалий аҳамиятга эга.

Жаҳонда кўпгина мамлакатларда ўтказилаётган илмий тадқиқотларда митохондрия функционал параметрларига таъсир қиладиган ўсимлик биологик фаол моддалар, яъни полифенол бирикмаларни аниқлаш амалий жиҳатдан муҳим ҳисобланади. Жумладан, улар антиоксидант, мембранафаол ва мембрана потенциални камайтирувчи, митохондрия мегапорасини ингибирловчи, АТФга боғлиқ калий канални фаоллаштирувчи ва захарлилик даражаси кам бўлган биологик фаол бирикмалар бўлиб, улар асосида фармакологик препаратларни яратиш учун истиқболли манбалар ҳисобланади. Бу борада, полифенол бирикмалар асосида фармакологик препаратлар нишон факторларга енгил таъсир кўрсатиш ва юқори антиоксидантлик хусусиятига эга бўлиши, стресс ҳолатидаги организмда адаптация жараёнини кучайтиришига асосланган. Шу сабабли, митохондрия функционал параметрларига самарали таъсир этувчи биологик фаол моддаларни аниқлаш ва улар асосида терапевтик таъсирга эга дори воситаларини яратиш муҳим илмий ва амалий аҳамиятга эга.

Республикамызда турли касалликларга ташхис қўйиш ва даволаш, фармацевтик препаратлар билан таъминлаш ва моддий техник базани яхшилаш борасида кенг қамровли чора-тадбирлар ишлаб чиқиш ва амалиётга жорий қилишга алоҳида этибор қаратилмоқда. Бу борада, турли патологик ҳолатлардаги (гипоксия, ишемия/реперфузия) митохондриал дисфункцияни коррекция қилиш механизмлари аниқлаш борасида муайян натижаларга эришилди. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида «...фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларини арзон, сифатли дори воситалари билан таъминлаш»¹ вазифалари белгилаб берилган. Мазкур вазифаларини амалга оширишда, жумладан *Euphorbia* ўсимлигидан ажратиб олинган, полифенол бирикмаларни митохондрия функционал параметрларига таъсирини аниқлаш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 14 февралдаги ПҚ-3532-сон «Фармацевтика тармоғи жадал ривожлантириш бўйича қўшимча чора тадбирлар тўғрисида»

ги қарори, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 23 январдаги ПҚ-3489-сон «Дори воситалари ва тиббиёт буюмлари ишлаб чиқариш ҳамда олиб киришни янада тартибга солиш чора тадбирлари тўғрисида»ги қарориди ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

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

Мавзунинг ўрганилганлик даражаси. *In vitro* ва *in vivo* шароитларда организмдаги митохондрия ва уларнинг дисфункциясини ўрганиш йўналишида дунёдаги кўплаб илмий текшириш марказларида бир қатор олимлар, жумладан, М. Crompton (1999), К.Д. Garlid (2003), М.Р. Duchon, J.J. Lemaster (2010), R. Ferranti (2003), P. Bernardi (2007), О.И. Аكوпова, Л.Д. (2008), Лукьянова (2013) иш олиб боришган. Англиялик олим А.Р. Halestrap (2003) ишларида митохондриал мегаканал mPTP нинг тузилиши ва унинг регуляция механизми ёритилган. R. Ankur (2012) ишларида АТФ га боғлиқ калий канал ва унинг функцияси тўғрисида маълумотлар келтирилган. Г.Д. Миронова (2015) ишларида митохондриялардаги АТФ га боғлиқ калий канали ва mPTPга биологик фаол моддаларнинг таъсири ўрганилган.

МДХ мамлакатлари олимлари В.Е. Новиков ва унинг шогирдлари томонидан (2013) турли патологик ҳолатларда, масалан гипоксия, ишемия/реперфузия ҳолатларидаги митохондриал дисфункцияни регуляция қилиш механизми келтирилган.

Республикада микёсида баъзи бир полифенол бирикмаларнинг митохондрия функционал параметрларига таъсири М.И. Асраров (2015), К.Т. Алматов (2017) ва бошқалар томонидан илмий тадқиқотлар амалга оширилган. Шунингдек, 1990 йилларга келиб митохондрия дисфункцияси ва mPTP нинг турли патологик ҳолатларида муҳим аҳамият касб этишини систематик тарзда ўрганила бошланган. Мазкур диссертация ишининг аҳамиятли жиҳати шундан иборатки экспериментал-технология лабораторияси ходимлари томонидан *Euphorbia* ўсимлигидан ажратиб олинган, полифенол бирикмаларни митохондрия функционал параметрларига таъсирини ўрганишдан иборат. Мазкур йўналишдаги илмий изланишлар долзарб ҳисобланиб илмий-амалий аҳамиятга касб этади.

Тадқиқотининг диссертация бажарилган олий таълим ёки илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Биоорганик кимё институтининг илмий-тадқиқот ишлари режаси ПЗ 20170919129 «Маҳаллий хом-ашё асосида сироп кўринишдаги “Tinchitish-shifo” ва “Buyrak-shifo” биологик фаол кўшимчаларни олиниш технологиясини ишлаб чиқиш» (2017-2019 йй), ФА-АЁО11 «Лютеолин полифенолининг ҳамда унинг ҳосилаларини

(цинарзид) циклодекстринлар билан сувда эрийдиган комплексларини олиш усулларини ишлаб чиқиш ва уларни биологик фаолликларини ўрганиш» (2015-2017 йй), ВА-ФА-Ф-7-004 «Турли лигандли биофаол координацион бирикмалар тузилишини уларнинг ҳосил бўлишини ҳароратга боғлиқлигини тадқиқ қилиш» мавзуларидаги фундаментал ва амалий лойиҳалар доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади Euphorbia ўсимлигидан ажратиб олинган полифенол бирикмаларни митохондрия функционал параметрларига таъсирини ва улар асосида дори воситаларини яратиш имконини аниқлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

Euphorbia ўсимлигининг полифенол бирикмаларини антиоксидантлик хусусиятини турли усуллар билан аниқлаш ҳамда уларни турли эркин радикалларга нисбатан фаоллигини аниқлаш;

полифенол бирикмалар учун митохондрияларни потенциал нишон сифатидаги ролини аниқлаш ва асосий митохондрия функционал параметрларини коррекциялаш механизминини исботлаш;

Euphorbia ўсимлигининг полифенол бирикмаларини сичқон моделларида клиник олди синовларини ўтказиш, уларни специфик фаоллигини ва захарлилигини асослаш;

Полифенол бирикмаларни митохондрия функционал параметрларига таъсири билан уларнинг биологик фаолликлари ўртасидаги корреляция коэффициентини таҳлил қилиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида 1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза (ПС-1), 1-О-галлоил-2,3-гексагидроксидифеноил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза (ПС-1), 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкоза (ПС-3), антирадикал хусусияти, каламуш жигари митохондриялари, ЛПО, mPTR, mitoK_{ATP}-канал, оксидланиш-фосфорланиш жараёнлари танланган.

Тадқиқотнинг предмети Euphorbia ўсимликларидан ажратиб олинган янги полифенол бирикмаларини жигар митохондрияларининг функционал параметрларига таъсир механизминини тадқиқ қилиш учун физиологик ва биокимёвий кўрсаткичлар ҳисобланади.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқотлар бажарилишида замонавий дифференциал центрифугалаш, спектрофотометрия, полярография, ядро-магнит резонанси (ЯМР), электрон парамагнит резонанс (ЭПР) ва физиологик ҳамда биокимёвий услублардан фойдаланилган. Барча экспериментал маълумотлар Excel (Microsoft Office 2016) Origin 8.0 (OriginLab Corporation, АҚШ) ва Scilab 6.0.1. (Scilab Enterprises, Франция) математик-статистик таҳлил дастур пакетларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк бор *in vitro* ва *in vivo* шароитларда полифенол бирикмаларнинг антиоксидант/антирадикал фаолликлари аниқланган;

супероксидрадикал, гидроксилрадикал, пероксид водород, дифенилпикрилгидразил (ДФП) каби эркин радикалларга нисбатан фаолликлари асосланган;

полифенол бирикмаларни митохондрия мембраналаридаги липидларни перекисли оксидланиши маҳсулотларини камайтириш хусусиятлари аниқланган;

илк бор полифенолларни mPTP мегапорасига, $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ калий каналига, оксидланиш-фосфорланиш жараёнларига, митохондрия мембраналари орқали катионларни пассив транспортига таъсири биологик фаол моддаларнинг физиологик концентрацияларида исботланган;

олинган натижаларнинг таҳлили тадбиқ этилган бирикмалар митохондрияларнинг энергетик параметрларини тикланишига олиб келиши ва хужайра ҳамда тўқималарни гипоксик стресс ҳолатида барқарорлигини очиб берилган;

Euphorbia ўсимликларидан ажратиб олинган полифеноллар IV-V кам захарли бирикмалар синфига тегишли эканлиги экспериментал исботланган, ҳамда уларнинг LD_{50} қиймати исботланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

полифенол бирикмаларни митохондрия функционал параметрларига таъсири бўйича олинган илмий натижалар антигипоксик дори воситаларини яратиш мақсадида полифенол бирикмалар ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 мембранафаол хоссалари аниқланган;

митохондрия функционал параметрларига коррекцияловчи таъсир кўрсатган полифенол бирикмалар янги антиоксидант воситалари яратилган;

митохондрия Ca^{2+} га боғлиқ ЦсА-сезгир пораси ва АТФ га боғлиқ K^{+} -каналли модуляторлари сифатида физиология ва фармакологияда тадқиқот инструментлари сифатида қўллаш мумкин.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги тадқиқотларни замонавий физиологик усуллар ва аппаратлар, дастурий таъминотлар, шунингдек уларнинг замонавий биофизикавий-биокимёвий тадқиқот усулларини қўллаш орқали олинганлиги билан тасдиқланади. Ҳар бир тадқиқот натижаси энг камида 4-6 марта такрорланган. Олинган маълумотларни қайта ишлаш Стьюдент критерийси ёрдамида ўртача қийматнинг ишончлилиги интервали оралиқ қийматларини ҳисоблаган ҳолда Origin 8.0 (OriginLab Corporation, АҚШ) ва Scilab 6.0.1 (Scilab enterprises, Франция) компьютар дастурларида статистик таҳлил қилинди.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти *Euphorbia* ўсимлигидан ажратиб олинган бирикмалар *in vitro* шароитда митохондрия функционал параметрларига модулятор сифатида таъсир этиб, антиоксидантлик, антигипоксиклик ва мембранафаол хоссаларини намоён қилиб, бу биологик фаол моддалар ҳақидаги маълумотлар физиология ва фармакологиянинг назарий ва амалий қисмини тўлдириш билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, биологик фаол моддаларни митохондрия функционал параметрларига таъсирини скрининг сифатида қўлланилиб, янги ва самарали антигипоксанти дори воситаларини ишлаб чиқишга хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Полифенол моддаларни митохондрия функционал параметрларига таъсирини ўрганиш бўйича олинган натижалар асосида:

ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 ларнинг антиоксидантлик фаоллигини намоён қилиши ФА-А11-Т061 рақамли “Махаллий ўсимлик хомашёси полифеноллари асосида вирусга қарши дори воситалари яратиш” фундаментал лойиҳасида *in vitro* шароитда митохондрия мембраналарини Fe^{2+} /аскорбат билан индуцирланган пероксидли оксидланиш моделларида антиоксидант фаолликлари аниқлашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2017 йил 14 ноябрдаги 4/1255-3009-сон маълумотномаси). Натижада Fe^{2+} /аскорбат билан индуцирланган пероксидли оксидланиш моделларида антиоксидант фаолликлари ва уларнинг захарлилик даражасини аниқлаш имконини берган;

гипоксия ҳолатида ва ундан кейин кечадиган ҳолатларда митохондрияларни ҳимоялаб, организмдаги адаптация жараёнини кучайтириши Барселона Автоном университетининг мақсадли илмий тадқиқотида фойдаланилган (Universitat Autònoma de Barcelona (Испания) 2018 йил 12 июндаги маълумотномаси). Натижада организмдаги оксидатив стресс ва нейродегенератив ҳолатлар ўртасидаги боғлиқликни аниқлаш имконини берган;

полифенол бирикмаларни митохондрия функционал параметрларига таъсирини гипоксик стрессни коррекциялаш ва жигар митохондриялари энергетик параметрлари Лодз Университетининг мақсадли илмий тадқиқотида фойдаланилган (Wydział biologii i ochrony Środowiska (Польша) университетининг 2018 йил 22 июндаги маълумотномаси). Натижада митохондрия функционал параметрларига полифенол бирикмаларнинг таъсир механизмларини аниқланиши кўплаб касалликларни олдини олиб нейропротекторлик хоссаларини тавсифлаш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 8 та халқаро ва 3 республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши. Диссертация мавзуси бўйича жами 19 илмий иш чоп этилган, шулардан, Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий илмий натижалари чоп этишга тавсия этилган илмий журналларда 8 та мақола, шулардан 7 та республика ва 1 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, тўрта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 113 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

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

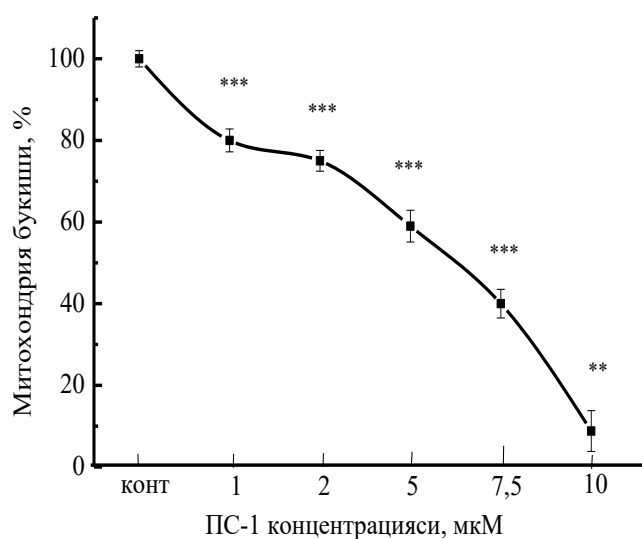
Диссертациянинг «**Митохондрияларнинг организмдаги физиологик ўрни ва патологик ҳолатларда уларни коррекция қилиш**» деб номланган биринчи бобда замонавий адабиётлар асосида митохондрия, mPTP, mitoK_{ATP}, антиоксидант тизим каби уларнинг функционал параметрлари ва мазкур параметрларни патологик ҳолатларда ўсимликлардан ажратиб олинган турли полифенол бирикмалар асосида уларни коррекция қилиш механизмлари ёритилган. Адабиётларда келтирилишича, митохондрия функционал параметрлари фармакологик агентлар (полифеноллар) учун специфик нишон сифатида хизмат қилиши мумкин. Бундан мақсад организмни турли стресс ҳолатларга адаптация жараёнларини регуляция қилишдан иборат ва улар асосида терапевтик таъсирга эга янги самарали дори воситаларини яратиш ҳамда маълум бўлган препаратларнинг таъсир қилиш механизмларини ёритиш имкониятлари ва тасаввурни кенгайтиришга имкон беради. Бироқ, полифенол бирикмалар асосида яратилган дори воситалари замонавий тиббиёт талабларига тўлиқ жавоб бермайди, уларнинг аксарияти эса «исботланмаган терапевтик таъсирга эга» категориясига тегишлидир.

Шу аснода самаралироқ таъсирга эга полифенол бирикмаларни излаб топиш янги дори воситаларини яратишда муҳим аҳамият касб этади.

Диссертациянинг «**Полифенол бирикмаларини митохондрия функционал параметрларига таъсирини ўрганиш материаллари ва услублари**» деб номланган иккинчи бобда тадқиқотларни ўтказиш босқичлари, стресс ҳолатларидаги митохондрия дисфункцияларини ўрганиш услублари ва материаллари, дифференциал центрифугалаш усули ёрдамида каламуш жигаридан митохондрияларни ажратиш, полифенол бирикмалари mPTP ни ингибирлаш хусусиятларини баҳолаш, полифенол бирикмаларни антиоксидант/прооксидант ва антирадикал фаолликларини аниқлаш, полифеноллар таъсирида mitoK_{ATP}-канални фаоллашишини баҳолаш усуллари, ўрганилган бирикмаларни антигипоксанти хусусиятларини аниқлаш, уларни захарлилигини баҳолаш ҳамда математик усуллар ёрдамида корреляция коэффициентини аниқлаш, натижаларни статистик қайта ишлаш услуби ёритилган.

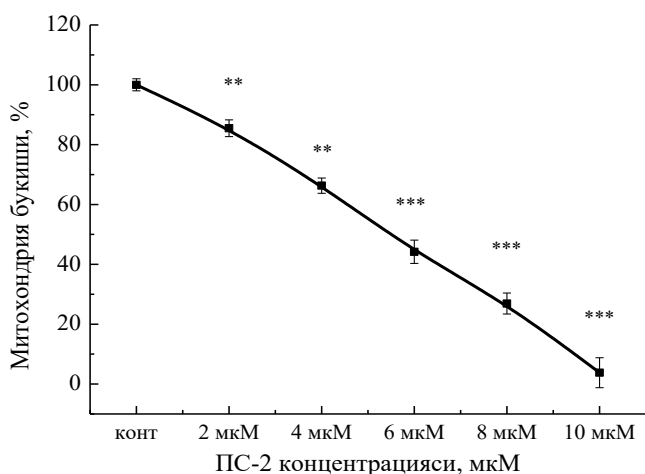
Диссертациянинг «**Euphorbia ўсимликлари полифенолларини биологик фаолликлари ва уларни митохондрия функционал параметрларига таъсири**» деб номланган учинчи бобда Euphorbia

ўсимлигидан ажратиб олинган 1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза, 1-О-галлоил-2,3-гексагидроксидифеноил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза ва 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкоза бирикмаларини шартли равишда ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 деб номлаб, уларини антиоксидант ва антирадикал хусусиятларини таҳлил қилиш тажрибалар натижалари келтирилган. Инкубация муҳитига Fe²⁺/аскорбат қўшилганда ЛПО жараёни бошланади, натижада митохондрия мембранасининг барьерлик хусусияти бузилиб, митохондрияларнинг бўқишига олиб келади (1 расм). ЛПО жараёнига 1 мкМ концентрацияда ПС-1 ни қўшганимизда митохондрияларнинг бўқиши ингибирланганини кузатамиз, бу ҳолат ПС-1 ни антиоксидантлик хусусияти намоён бўлишидан далолат беради. ПС-1 ни ЛПО жараёнига таъсири концентрацияга боғлиқ бўлиб, яъни ПС-1 ни концентрацияси ортгани сайин ЛПО жараёнининг ингибирланиши кучайиб боради. Жигар митохондрияларининг бўқишини тўлиқ ингибирланиши ПС-1 нинг 10 мкМ концентрациясида кузатилди. Ушбу ҳолатда ЛПО жараёнини ярим максимал ингибирловчи концентрация ПС-1 учун 6,08±0,06 мкМ ни ташкил қилди. Шундай қилиб, тажрибаларда ПС-1 ни антиоксидантлик хусусияти кўрсатилди.



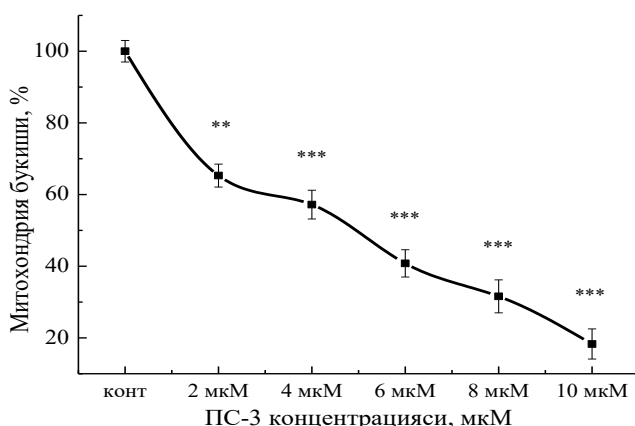
1-расм. Fe²⁺/аскорбат тизими ёрдамида индукцияланган жигар митохондрияларини бўқишига ПС-1 нинг таъсири.
 ИМ (мМ): KCl - 125, трис-HCl - 10, pH 7,4; FeSO₄ – 0,01, аскорбата – 0,6; белок митохондрий 0,3-0,4 мг/мл; (** - P<0,01, *** - P<0,001; n=4).

ЛПО жараёнини индукцияланган ҳолатда инкубация муҳитига ПС-2 2 мкМ концентрацияда қўшилганда митохондрияларнинг бўқиши қисман ингибирланиши кузатилди. ПС-2 концентрацияси оширилгани сайин ЛПО жараёнини ингибирланиш киймати ошиб, тўлиқ ингибирланиши кузатилди. Шундай қилиб, ПС-2 бирикмасининг антиоксидантлик хусусиятини намоён қилиши аниқланди. ЛПО жараёнини ярим максимал ингибирланиш концентрацияси (IC₅₀) ПС-2 учун 4,88±0,07 мкМ ташкил қилди (2-расм).



2-расм. Fe^{2+} /аскорбат тизими ёрдамида индукцияланган жигар митохондрияларини бўқишига ПС-2 ning таъсири.
 ИМ (мМ): КСl - 125, трис-НСl - 10, рН 7,4; $FeSO_4$ - 0,01, аскорбата - 0,6; белок митохондрий 0,3-0,4 мг/мл; (** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$; $n=4$).

ПС-3 ни Fe^{2+} /аскорбат тизими билан чақирилган ЛПО жараёнига таъсирини аниқлаш натижаларига асосан, бу полифенол бирикма инкубация муҳитига 2 мкМ қўшилганда митохондрияларни бўқишини 44 % камайтириши аниқланди. ПС-3 ни концентрацияси 10 мкМ га оширилганда ЛПО жараёни тўлиқ ингибирлангани кузатилди. Мазкур ҳолатда ЛПО жараёнини ярим максимал ингибирланиш концентрацияси (IC_{50}) ПС-3 учун $5,25 \pm 0,07$ мкМ ни ташкил қилди (3-расм).



3-расм. Fe^{2+} /аскорбат тизими ёрдамида индукцияланган жигар митохондрияларини бўқишига ПС-3 ning таъсири.
 ИМ (мМ): КСl - 125, трис-НСl - 10, рН 7,4; $FeSO_4$ - 0,01, аскорбата - 0,6; белок митохондрий 0,3-0,4 мг/мл; (** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$; $n=4$).

Олинган натижаларни таҳлиliga кўра тадқиқ қилинган бирикмалар Fe^{2+} /аскорбат тизими билан чақирилган ЛПО жараёнини ингибирлаши деярли бир хил концентрацияларда кузатилди.

Тадқиқотларимизни кейинги қисмида полифенол бирикмаларни митохондрия мембраналаридаги липидларни перекисли оксидланиши жараёнида малон диальдегиди (МДА) ҳосил бўлиши ўрганилди. Олиб борилган тадқиқотлар натижасига кўра, полифенол бирикмалар 25 мкМ концентрацияда жигар митохондрияларидаги ЛПО жараёнини чақирадиган индукторлар таъсирини тўлиқ ингибирлаши аниқланди. Бу ҳолатда ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 моддалар МДА ҳосил бўлишини мос равишда 92%, 90% ва 95% камайтиргани аниқланди.

Каламуш жигар митохондрияларида ЛПО маҳсулотини, яъни МДА ни ҳосил бўлишини 50% га камайтириш қиймати (IC_{50}) полифенол бирикмалар

учун куйидаги концентрацияларни ташкил қилди (мкМ модда/мг оксил): ПС-1 – 5,08 мкМ, ПС-2 – 5,05 мкМ, ПС-3 -5,02 мкМ.

Переокисли оксидланишни якуний махсулотларини МДА ни аниқлаш биологик фаол бирикмаларни антиоксидантлик хусусиятларини (АОХ) аниқлашнинг классик усули ҳисобланади. Адабиётларда полифенолларни АОХ турли металл ионлари билан хелатлар ҳосил қилиши ва бевосита O_2^\bullet , OH-радикал ва синглет кислород каби кислороднинг фаол шакиллари билан бирикиши орқали ифодаланади. Бундан ташқари, полифеноллар реакция муҳитни компонентлари билан бирикиши ҳам мумкин, бу ҳолда олинган натижалар аниқ чиқмаслиги мумкин. МДА ни аниқлаш ёки Fe^{2+} /аскорбат тизими билан чақирилган ЛПО усулларидадан фойдаланиш препаратларни умумий антиоксидантлик хусусиятини аниқлаш имконини бермайди.

Бу ҳолда барқарор органик радикаллар каби эркин валентликка эга бўлган бирикмалардан фойдаланиш керак. Олинган натижалар асосида хулоса қилиш мумкинки, ўрганилган полифеноллар эркин радикалларни қайтариш хусусиятига эга. Антирадикал фаолликни ифодалаш учун t_{50} параметридан, яъни барқарор радикалларни дастлабки концентрациясини (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) 50 % тушириш учун сарфланган вақтдан фойдаланилди. ДФПГ билан полифенолларни реакцияси учун t_{50} қиймати 17 °С ҳароратда ПС-1 препарати учун - 105 с, ПС-2 препарати учун – 9,6 с, ПС-3 препарати учун – 900 с. ни ташкил қилди. Шундай қилиб ПС-2 нинг реакция хусусияти бошқа препаратларга нисбатан юқори эканлиги аниқланди (1 жадвал).

1-жадвал

Реакция тезлигининг константаси, 50 % (IC_{50}) ингибирловчи концентрация ва ДФПГни 50 % қайтариш учун сарфланган вақт қийматлари (t_{50}).

$K \cdot 10^{-3}, c^{-1}$			$IC_{50}, \text{мкМ}$			$t_{50}, \text{сек}$ при 50 мкМ вещества		
ПС-1	ПС-2	ПС-3	ПС-1	ПС-2	ПС-3	ПС-1	ПС-2	ПС-3
1,2	5,3	0,4	14,3	7,2	8,6	105	9,6	900

Тадқиқ этилган бирикмалар жигар гомогенатида ЛПО махсулотларини олдини олиши ва юқори антирадикал хусусиятни намоён қилиши мазкур моддалар ҳақиқатдан ҳам антиоксидант эканлигидан далолат беради. Антиоксидантлик хоссаси полифенол бирикмалар молекулаларидаги ҳаракатчан водород атомини эркин радикалларга ўтиши билан ифодаланиб, ЛПО реакция занжирини тўхтади. Мазкур далил антиоксидантлик ва антирадикаллик хусусиятлар ўртасидаги корреляция коэффиценти $r=0.94$ га тенглиги билан ҳам тасдиқланди.

Тадқиқотлар давомида ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 полифенол бирикмаларини турли металл катионларининг митохондрия ички мембраналари ўтказувчанлигига таъсири ўрганилган бўлиб, олинган натижаларни таҳлили шуни кўрсатдики, изоосмотик муҳитда бир ва икки валентли катионлар иштирокида митохондрияларни бўқиш кинетикаси мазкур полифеноллар

ёрдамида фақат бир валентли катионларни пасив транспортига таъсир қилиши аниқланди. Полифенол бирикмалар таъсирида Мх ички мембраналарини ўтказувчанлиги 2 жадвалда келтирилган. Полифеноллар таъсирида Мх ички мембраналаридан K^+ катионларини ўтиши контролга нисбатан мос равишда 11, 10 ва 13 мартаба ошган. Na^+ катионларини ўтиши эса нисбатан камроқ кузатилди. Шунини таъкидлаш керакки, энг юқори ўтказувчанлик водород ионлари учун кузатилди.

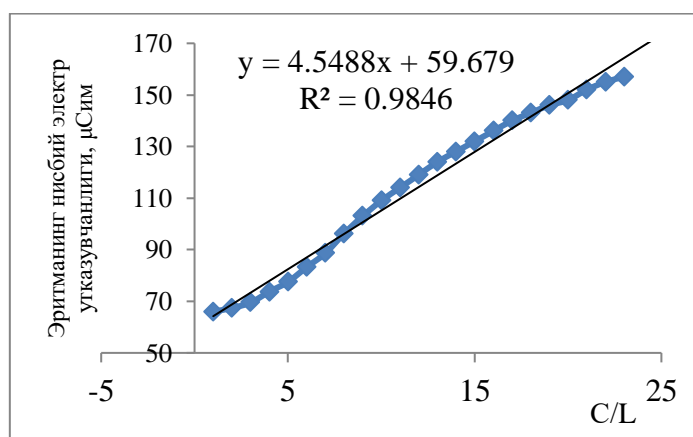
2 жадвал

ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 полифенол бирикмаларини катионларнинг митохондриал мембраналари орқали пасив транспортига таъсири

Модда номи	Концентрация мкМ.	*Ўтказувчанлик А/Ао					
		H^+	K^+	Na^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Ba^{2+}
Контроль	-	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
ПС-1	25	7,2±0,16	5,5±0,08	3,2±0,07	1,0	1,0	1,0
	50	11,3±0,17	9,8±0,15	5,6±0,08	1,0	1,0	1,0
	100	17,4±0,25	11,7±0,17	7,0±0,11	1,0	1,0	1,0
ПС-2	25	6,5±0,08	5,0±0,07	3,0±0,04	1,0	1,0	1,0
	50	10,8±0,15	9,1±0,13	5,5±0,08	1,0	1,0	1,0
	100	15,0±0,24	10,8±0,15	6,5±0,09	1,0	1,0	1,0
ПС-3	25	8,3±0,16	6,2±0,08	3,8±0,07	1,0	1,0	1,0
	50	12,8±0,17	10,8±0,15	6,8±0,08	1,0	1,0	1,0
	100	18,9±0,25	13,1±0,17	8,2±0,11	1,0	1,0	1,0

*Илова: А – полифенол бирикмалар таъсиридаги митохондрия ички мембранасининг ўтказувчанлиги, Ао – назоратда митохондрия ички мембранасининг ўтказувчанлиги.

Маълумки, ишқорий ер металл катионлари, маълум бир шароитларда, кислородли бирикмалар билан координацион боғлар ҳосил қилади. Merziak ва бошқалар томонидан полифенол бирикмалар ўзгарувчан металллар билан хелатлар ҳосил қилиши тўғрисида маълумотлар келтирилган. Тадқиқ қилинган полифенол моддаларни кальций, магний ва барий катионлари билан комплекс ҳосил қилиш хусусиятларини аниқлаш мақсадида кондуктометриқ титрлаш усулидан фойдаланилди (4-расм).

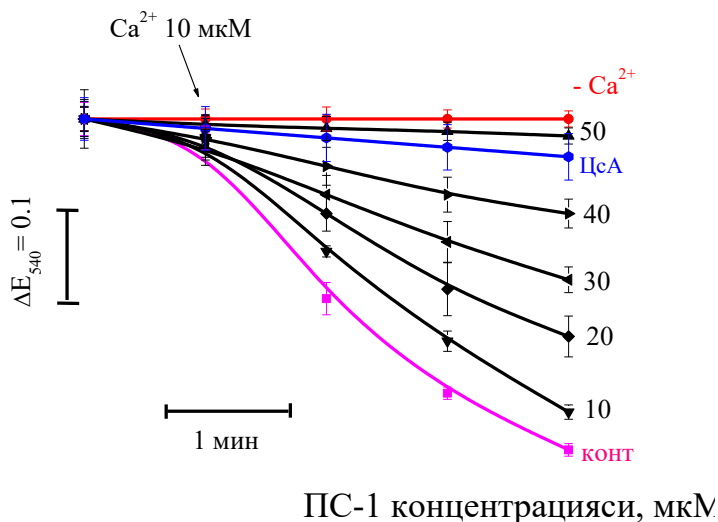


4-расм. Ca^{2+} эритмасида полифенолларни кондуктометриқ титрлашнинг типик эгри чизиғи (бу ерда С – туз концентрацияси, L – полифенол концентрацияси)

Экспериментал натижаларнинг таҳлили шуни кўрсатдики, эритмадаги полифенол ва катионларни (Ca^{2+} , Mg^{2+} ва Ba^{2+}) концентрациясини ортиши, эритмадаги электр ўтказувчанлигини ўзгартирмайди (5 расм) ва платога чикмайди. Шундай қилиб, хулоса қилиш мумкинки, икки валентли катионларни пасив транспорти амалга оширилмаслиги ўрганилган полифеноллар билан комплекс ҳосил қилишидан мустасно.

Митохондрия ички мембраналарининг ўтказувчанлигида Ca^{2+} га боғлиқ мегапора mPTP (*mitochondrial permeability transition pore*) асосий ўрин тутишини инобатга олган ҳолда, тадқиқотнинг кейинги босқичида полифенол бирикмаларни (ПС-1, ПС-2, ПС-3) mPTP фаоллигига таъсири ўрганилди. Антиоксидант фаолликка эга бўлган полифенол бирикмалар ЦсА-сезгир порани ёпиқ ҳолатга ўтказиши тўғрисида табиий савол туғилади.

Ca^{2+} ионлари Мх ички мембраналаридаги Ca^{2+} -боғлиқ мегаканални очик ҳолатга ўтказадиган классик индуктор ҳисобланади. Инкубацион муҳитга Ca^{2+} ионларини қўшилиши Мх бўқишига олиб келади (5 расм, контроль), бу ҳолат mPTP ни очик конформацион ҳолатга ўтишидан далолат беради.



5-расм. ПС-1 ни турли концентрацияларининг митохондрияларни бўқишига таъсири.

5 расмдан кўриниб турибдики, ПС-1 10 мкМ концентрациядан бошлаб mPTP ни очилишини ингибирлаш хусусиятини намоён қилади. Полифенолнинг концентрациясини 50 мкМ га ортиши mPTP ни деярли тўлиқ ингибирланишига олиб келди. mPTP ни ярим максимал ингибирлаш концентрацияси ПС-1 учун $\text{IC}_{50} = 23,7 \pm 1,6$ мкМ ташкил қилди.

Олинган натижалар ПС-1 ни Мх мембраналарига таъсири ЦсА-сезгир пора орқали таъсир қилиш мумкинлигини тахмин қилиш учун асос бўлиши мумкин. ПС-1 нинг mPTP га нисбатан таъсири mPTP даги оқсилларни функционал гуруҳлари билан водород боғлар орқали бирикиши туфайли амалга оширилиши мумкин, натижада поранинг конформацияси ўзгаради.

ПС-2 ва ПС-3 бирикмаларни тадқиқ қилиш натижалари шуни кўрсатдики мазкур полифеноллар ҳам ПС-1 каби mPTP ни ингибирлаш хусусиятига эга.

Ушбу полифенол бирикмаларнинг солиштирма ингибирлаш қийматлари 3 жадвалда келтирилган.

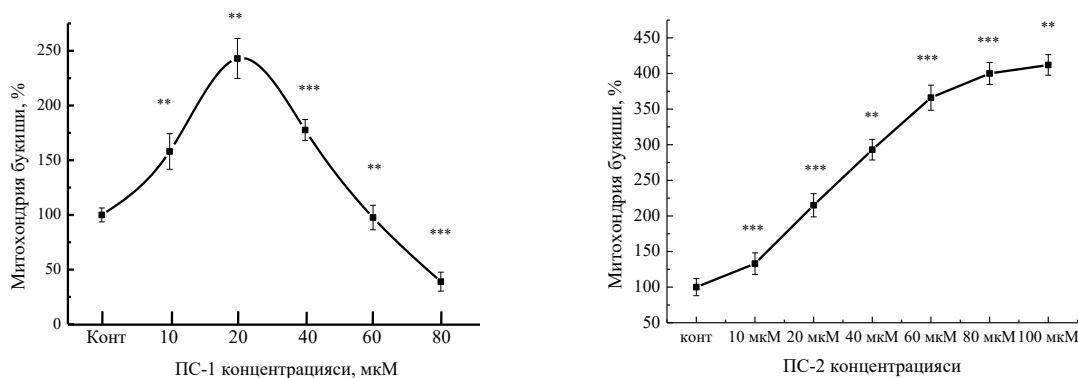
3-жадвал

ПС-1, ПС-2, ПС-3 полифеноллари таъсирида mPTP нинг очилишини ингибирланиш қийматлари (%).

Модда	Модда концентрацияси, мкМ								
	10	20	30	40	50	80	100	150	200
ПС-1	11,2%	35%	50,8%	71,5%	95,3%				
ПС-2	0%	0%	0%	0%	10,9%	22,9%	29%	50,4%	85,5%
ПС-3	10,3%	29,5%	42%	51,5%	61,8%	84,4%	94,7%		

Шундай қилиб, олинган натижалар асосида ўрганилган бирикмалар mPTP ни ингибирлаши ва Мх ЦсА-сезгир порасини самарали модулятори эканлигини таъкидлаш мумкин. Бундай химоявий таъсир полифенол моддаларни антиоксидантлик хусусияти билан боғлиқ бўлиши ҳам мумкин. Ўрганилган моддалар орасида ПС-1 кучлироқ ингибирловчи хусусиятга эга эканлиги аниқланди.

Тадқиқотлар давомида полифенол бирикмаларни АТФ га боғлиқ калий канал ($\text{mitoK}_{\text{ATP}}$) фаоллигига таъсири ўрганилди. Олинган натижалар ПС-1 10 ва 20 мкМ концентрацияда $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ -канални фаоллаштириши кўрсатган. Бирок, ўрганилган модданинг инкубацион мухитдаги концентрацияси 30 мкМ ва ундан юқори бўлганда эса канал фаоллигининг сусайишига олиб келганлиги аниқланди. Олинган натижалардан кўришиб турибдики ПС-1 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ - каналга дозага боғлиқ равишда таъсир қилиб, икки фазали (фаоллаштирувчи ва ингибирловчи) таъсир кўрсатди. Шунинг учун чизилган график дўмбаз кўринишга эга (6-расм).



6-расм. Жигар митохондриялари АТФ га боғлиқ K^+ -канални фаоллигига полифеноллари таъсири.

АТФ ли ИМ: 125 мМ КСl, 1 мМ MgSO_4 , 2,5 мМ K_2HPO_4 , 2,5 мМ KH_2PO_4 , 10 мМ Nepes , 5 мМ сукцинат, ротенон 5 мкг/мл, 1 мкг/мл олигомицин, pH 7,4.

(** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$; $n=4$)

ПС-2 полифенол бирикмаси 10 ва 20 мкМ концентрацияларда $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ канални фаоллаштириши аниқланди (6 расм). ПС-2 концентрацияси 80 мкМ гача ортгани сайин каналнинг фаоллиги ҳам мос равишда ортиб борди. 100

мкМ концентрацияда платога чиқиш кузатилди. Бу ҳолатда $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ - каналнинг фаоллиги 4 мартаба ортади.

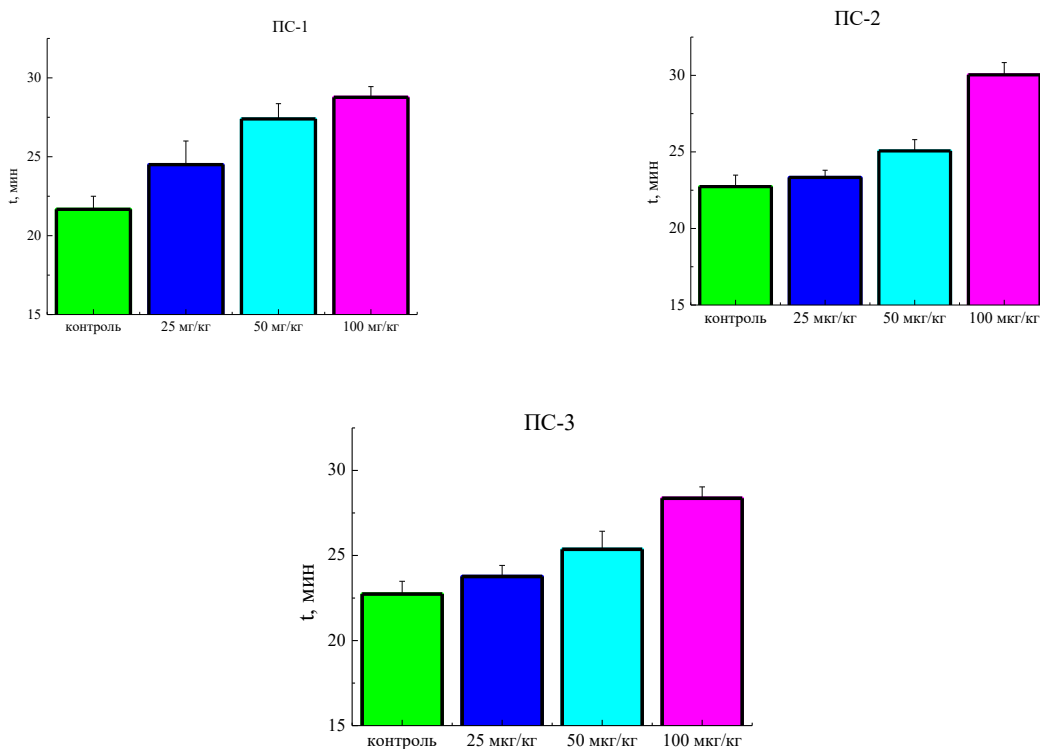
Олинган натижаларни таҳлил қилган ҳолда *Euphorbia* ўсимлигидан ажратиб олинган ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 полифенол бирикмалари орасида ПС-2 бирикмаси 80-100 мкМ концентрацияларда $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ -канални фаоллигини 4 мартабагача ошириб, энг юқори кўрсаткични ташкил қилди (4-жадвал).

4-жадвал

Полифенол бирикмаларининг $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ -канални фаоллашишига таъсир қилиш кўрсаткичлари

Модда	Модда концентрацияси, мкМ							
	5	10	20	30	40	50	80	100
ПС-1	120%	168,7%	243,7%	225%	175%	122,2%	44,3%	21,6%
ПС-2	114%	137%	215%	255%	285%	325%	405%	420%
ПС-3	122%	168%	204%	218%	229%	238%	265%	292%

Диссертациянинг «*Euphorbia* ўсимлиги полифенолларининг клиник олди синовлари» деб номланган тўртинчи бобида *Euphorbia* ўсимлигидан ажратиб олинган полифенол бирикмаларни антигипоксантик хусусиятларини аниқлаш натижалари келтирилган. Олинган натижаларга кўра, сичқонларга перорал йўли билан берилган бирикмалар ҳаво кирмайдиган идишларга жойлаштирилган сичқонларни ўртача яшаш даврини узайтиради ва натижада антигипоксик хусусиятини намоён қилади (7 расм).



7-расм. Ҳаво кирмайдиган идишларга жойлаштирилган сичқонларнинг препаратлар таъсирида ўртача яшаш давомийлиги (мин).

Тадқиқотларни давом эттирган ҳолда, ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 препаратларни NaNO_2 билан чақирилган гемик гипоксия моделида антигипоксантлик хусусиятлари ўрганилди.

Тажрибалар оғирлиги $25 \pm 2,0$ г. бўлган 60 та оқ сичқонларда ўтказилди. Ҳар бир гуруҳда 10 тадан сичқон олинди.

Цитотоксик гемик гипоксияни тери остига 400 мг/кг дозада NaNO_2 юбориб чақирилди. Натижада барча сичқонлар нобуд бўлди. Гемик гипоксия қон тизмидаги бузилишлар натижасида келиб чиқади, яъни ундаги кислород ҳажми камаяди. Мазкур жараёнлар натижасида қондаги кислороднинг транспорти бузилади ва гемик гипоксия келиб чиқади. Мазкур метод ёрдамида тадқиқ этилган моддаларни антигипоксантлик хусусияти ҳайвонларни контролга нисбатан яшаш давомийлиги ортиши билан баҳоланди.

Препаратларнинг антигипоксик фаоллиги натижалари 5-жадвалда келтирилган.

5-жадвал

Препарат ва уни юбориш йўли	Доза мг/кг	Текширув вақти, соат	Сичқонларни яшаш давомийлиги, минут	Антигипоксик эффекти, %
Контроль		1	19,0±2,3	-
ПС-1 перорал	0,05	1	25,3±4,5	33,2
	0,1	1	21,3±3,6	12,1
ПС-2 перорал	0,05	1	20±2,0	5,3
	0,1	1	27±3,5	42,1
ПС-3 перорал	0,05	1	20,3±2,1	6,8
	0,1	1	26±2,4	36,8
Витамин В₁₂ Мушак орасига	0,1	1	27,9±2,0	46,8

Контрольга нисбатан *P <0,05

ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 препаратлари 0,05 ва 0,1мг/кг дозада перорал усул билан сичқонларга берилди, солиштириш учун Витамин В₁₂ қўлланилди. Контроль гуруҳдаги сичқонларга биоэквивалент микдорда дистилланган сув юборилди.

5 жадвалда кўрсатилганидек контроль гуруҳдаги сичқонларнинг ўртача яшаш давомийлиги 19,0±2,3 минутни ташкил қилди.

ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 препаратларини сичқонларга 0,1 кг/кг дозада юборилганда уларнинг яшаш давомийлиги мос равишда 21,3±3,6 мин., 27±3,5мин., 26±2,4 мин. гача узайган, ва унинг антигипоксик фаоллиги 12,1, 42,1 ва 36,8 % ни ташкил қилди.

Тадқиқотларни давом эттирган ҳолда, *Euphorbia* ўсимлигидан ажратиб олинган полифенол бирикмаларни заҳарлилиги аниқланди. ПС-1 бирикмасини сичқонларга 2500 мг/кг дозада перорал юборилганда нафас олиш тезлашиши, кўзлар юмилиши ва сичқонларни букилиши кузатилди, бу ҳолатда сичқонларнинг нобуд бўлиш кузатилмади. 3200 мг/кг дозада эса сичқонларни бушашиши, букилиши ва кўзларни юмилиши кузатилди.

Сичқонлар 1-2 соатдан сўнг ўз ҳолатига қайтиши кузатилди. Препаратни 4000 ва 5000 мг/кг дозада юборилганда, 10 минутдан сўнг нафас олиш оғирлашиши, ланжлик, умуртқа поғонаси чўзилиши, дум юқорига кўтарилиши кузатилди. Бир сутка давомида сичқонларни нобуд бўлиши 3200 мг/кг дозада 2/6, 4000 мг/кг дозада 4/6 ва 5000 мг/кг дозада 6/6 кузатилди.

6-жадвал.

Сичқонларга ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 препаратларини перорал йўл билан берилганда ўткир захарланиш кўрсаткичлари

Препаратлар	Юбориш йўли	Доза мг/кг	Нобуд бўлган/ гуруҳдаги хайвонлар сони	LD ₁₆ мг/кг	LD ₅₀ мг/кг	LD ₈₄ мг/кг
ПС-1	перорал	2500	0/6	3100	3550	4000
		3200	2/6			
		4000	4/6			
		5000	6/6			
ПС-2	перорал	1600	0/6	2800	3250	3800
		2500	0/6			
		3200	4/6			
		4000	6/6			
ПС-3	перорал	4000	0/6		≥8000	
		5000	0/6			
		6000	0/6			
		8000	0/6			

ПС-2 препаратини сичқонларга 1600 ва 2500 мг/кг дозада юборилганда ювиниши, букилиши кузатилди. 2-3 соатдан сўнг хайвонлар ўз ҳолатига қайтди. Препаратни 3200 мг/кг дозада юборилганда, кўзлари юмилиши, ювиниши, юқори вертикал фаоллик ва нафас олиш тезлашиши кузатилди. 2-3 соатдан сўнг хайвонлар ўз ҳолатига қайтиши аниқланди. Ҳайвонларни нобуд бўлиши бир сутка давомида 3/6 ни ташкил қилди. 4000 мг/кг дозада 5-10 минутдан кейин ювиниши, ланжлик, чуқур нафас олиш, кўзлари юмилиши, сийдик чиқиши, бушаш ва букилиш аломатлари кузатилди. Бир сутка давомида (6/6) барча сичқонларни нобуд бўлиши аниқланди.

ПС-3 препаратини сичқонларга 4000, 5000, 6000 ва 8000 мг/кг дозада юборилганда 20-30 минутдан кейин букилиш, нафас олишини тезлашиши ва кўзлар юмилиши кузатилди. 5-6 соатдан сўнг хайвонлар ўз ҳолатига қайтган. Нобуд бўлиш кузатилмади.

Ўрганилган бошқа параметрлар асосида (14 кун давомида) тери қатламида, дум ҳолати, фекал массасини миқдори ва консистенцияси, оғирлик ўзгариши ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 препаратлар юборилганда норма ҳолатидан четланиши аниқланмади.

Шундай қилиб, ўткир захарлилигини ўрганиш натижасида ПС-1 ва ПС-2 бирикмалари IV кам захарли моддалар синфига кириши аниқланди. LD₅₀ қийматлари мос равишда 3550 (-630+650) мг/кг ва 3250 (-440+480) мг/кг ни ташкил қилди. ПС-3 препаратини ўткир захарлилиги ўрганилганда, мазкур бирикма V захарли бўлмаган бирикмалар синфига кириши аниқланди, LD₅₀ қиймати ≥8000мг/кг ни ташкил қилди.

ХУЛОСАЛАР

1. Euphorbia ўсимликларидан ажратиб олинган 1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза (ПС-1), 1-О-галлоил-2,3-гексагидроксидифеноил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза (ПС-2), 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкоза (ПС-3) полифенол бирикмалари *in vitro* шароитида юқори антиоксидантлик ва антирадикаллик хусусиятларни намоён қилади. Ушбу моддалар митохондрияларда мембранавий бузилишларни олдини олади ҳамда ЛПО жараёнларини ингибирланишига олиб келади.

2. ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 полифенол бирикмалар *in vitro* шароитида дозага боғлиқ равишда кальций билан чақирилган митохондрия бўқишини олдини олади, бу эса митохондриал мегапорани очилишини ингибирланишидан далолат беради.

3. Полифенол бирикмаларни концентрацияси ортагани сайин mitoK_{АТР} - канал фаоллашади ва ўз навбатида митохондрия матриксига калий ионларининг транспортини ошириб, митохондриал мембрана потенциалини камайишига олиб келишини билдиради.

4. ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 полифенол бирикмалар бир валентли катионларни митохондрия ички мембранаси пассив ўтказувчанлигини оширишини таъминлаган ҳолда, икки валентли катионларни ўтказувчанлигига таъсири кўрсатмайди.

5. Клиник олди синовларда ПС-1, ПС-2 ва ПС-3 полифенол бирикмалар антигипоксанти хусусиятни намоён қилиши аниқланган. Ушбу моддалар IV - V кам захарли ва захарли бўлмаган бирикмалар синфига кириши намоён қилинди.

6. Полифенол бирикмаларни антиоксидант/антирадикал ва антигипоксанти хусусиятлари ўртасида юқори боғлиқлик мавжудлиги аниқланган. Корреляция коэффиценти ўртача $R^2 = 0,9$ ташкил қилади.

7. Олинган натижалар Euphorbia ўсимликларидан ажратиб олинган моддалар асосида антигипоксанти фаолликка эга дори воситаларини яратиш имконини беради.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.27.06.2017 В.38.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ МИКРОБИОЛОГИИ И
НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ УЗБЕКИСТАНА**

ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

ГАЙИБОВ УЛУГБЕК ГАППАРЖАНОВИЧ

**ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТЕНИЙ
EURHORBIA НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ
МИТОХОНДРИЙ**

03.00.08 – Физиология человека и животных

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

Ташкент – 2018

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2018.4. PhD/B249

Диссертация выполнена в Институте биоорганической химии

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

Научный руководитель: **Арипов Тахир Фатихович**
доктор биологических наук, профессор, академик

Официальные оппоненты: **Кучкарова Любовь Салижановна**
доктор биологических наук, профессор

Суяров Акрам Амиркулович
доктор медицинских наук

Ведущая организация: Андижанский государственный университет

Защита диссертации состоится «__» декабря 2018 года в __ часов на заседании Научного совета DSc.27.06.2017 B.38.01 при Институте микробиологии и Национальном университете Узбекистана (Адрес: 100128, г. Ташкент, Шайхонтохурский район, ул.А. Кадырий, 7б, конференц-зал института Микробиологии. 5-й этаж. Тел.: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, факс: (+99871) 241-92-71, e-mail: microbio@academy.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института микробиологии (зарегистрирована под №__). Адрес: 100128, г. Ташкент, Шайхонтохурский район, ул.А. Кадырий, 7б, Административное здание Института микробиологии, 5-й этаж, библиотека Института микробиологии. Тел: (+99871) 241-92-28.

Автореферат диссертации разослан: «__» декабря 2018 г.
(реестр протокола рассылки № __ от «__» декабря 2018 г.)

Джуманиязова Гульнара Исмаиловна
Зам. председателя Научного совета по присуждению
ученых степеней, д.б.н., профессор

Жураева Рохила Назаровна
Ученый секретарь Научного совета по присуждению
ученых степеней к.б.н.

Рахимова Турахон Узаковна
Председатель научного семинара при Научном
совете по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. На сегодняшний день одной из актуальных задач современной медицины и фармакологии является создание эффективных лекарственных препаратов, обладающих направленным действием и минимальными противопоказаниями. Следует отметить, что причиной многих заболеваний является нарушение функций митохондрий, которое в той или иной мере инициирует патологический процесс и сопутствует его течению. В этом отношении, повышение процессов адаптации организма при различных стресс-факторах с помощью полифенольных соединений и создание на их основе конкурентоспособных терапевтических препаратов направленного действия (нейро- и кардио-протекторов, антигипоксантов) имеет научное и практическое значение.

В исследованиях многих стран мира, особое внимание уделяется биологически активным соединениям, а именно полифенолам, воздействующих на функциональные параметры митохондрий. Полифенольные соединения обладают широким спектром биологической активности – антиоксидантной и мембраноактивной, способностями снижать мембранный потенциал, ингибировать митохондриальную мегапору (mPTP), активировать АТФ-зависимый калиевый канал (mitoK_{ATP}), а также низкой токсичностью. Таким образом, полифенолы являются ценным источником для создания на их основе перспективных лекарственных препаратов. При этом создание фармакологических препаратов на основе полифенольных соединений основано на том, что полифенолы легко воздействуют на факторы-«мишени», проявляют высокую антиоксидантную активность, усиливают процесс адаптации организма к различным стресс-факторам. Исследования, направленные на поиск перспективных лекарственных препаратов на основе полифенольных соединений и определение их влияния на функциональные параметры митохондрий, дают важную информацию, необходимую для разработки новых лекарственных препаратов терапевтического действия.

В настоящее время в нашей стране проведены масштабные реформы по улучшению материально-технической базы диагностики и лечения различных заболеваний, и обеспеченности фармацевтическими препаратами. Тем не менее, современные методы диагностики и лечения заболеваний, в основе которых лежат митохондриальные дисфункции, имеют недостаточную научную базу. Проведение научных исследований в этом направлении позволит разработать новые методики лечения и создание эффективных, доступных для населения и поставщиков медицинских услуг лекарственных препаратов, перечисленных в Стратегии действия для дальнейшего развития Республики Узбекистан. В этом отношении, важную роль играет создание нейро- и кардио-протекторных, и антигипоксантных препаратов на основе местного сырья, конкурентоспособных на мировом рынке, чему и посвящена данная диссертационная работа.

Диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных Указом Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» № УП-4947, Постановлением Президента Республики Узбекистан от 14 февраля 2018 года «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли» ПП-3532, Постановлением Президента Республики Узбекистан от 23 января 2018 года «О мерах по дальнейшему упорядочению производства и ввоза лекарственных средств и изделий медицинского назначения» № ПП-3489, а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

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

Степень изученности проблемы. Ведущими учеными крупнейших научно-исследовательских центров мира М. Crompton (1999), K.D. Garlid (2003), M.R. Duchon (2010), J.J. Lemaster (1997), R. Ferranti (2003), P. Bernardi (2007), О.И. Аكوпова (2008), Л.Д. Лукьянова (2013) проведены многочисленные исследования роли митохондрий и их дисфункций в организме в условиях *in vitro* и *in vivo*. В трудах английского ученого А.Р. Halestrap (2003) описаны структура и механизм регуляции митохондриального мегаканала mPTP. В работах R. Ankur (2012) подробно описаны составляющие компоненты канала и его функции. В работах Г.Д. Мироновой исследовано влияние биологически активных соединений на функционирование mitoK_{ATP} канал и mPTP.

В странах СНГ исследователи В.Е. Новиков (2013) и его ученики подробно изучили механизмы регуляции митохондриальных дисфункций в различных патологических состояниях, таких как гипоксия, ишемия/реперфузия.

В нашей республике М.И. Асаровым (2015), К.Т. Алматовым (2017) и др. проведены исследования и получены важные результаты о влиянии различных полифенольных соединений на функциональные параметры митохондрий. В 1990-х годах были начаты систематические исследования митохондриальных дисфункций, в частности важной роли mPTP в качестве протекторного агента митохондрий при различных патологических состояниях. Особенность настоящей работы заключается в исследовании влияния ранее не изученных полифенольных соединений растений *Euphorbia*, выделенных сотрудниками Экспериментально-технологической лаборатории под руководством проф. С.М. Мавлянова, на функциональные параметры митохондрий. Исследования в этом направлении актуальны и имеют научно-практическое значение.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами института, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательских работ фундаментальных и прикладных проектов Института биоорганической

химии АН РУз: ПЗ 20170919129 «Разработка биологически активных добавок «Tinchitish-Shifo» и «Buyrak-shifo» в виде сиропа на основе местного сырья» (2017-2019), ФА-АЁО-11 «Разработка оптимального метода получения водорастворимых комплексов включения лютеолина и его производного цинарозида с циклодекстринами и изучение их биологической активности» (2015-2017), ВА-ФА-Ф-7-004 «Исследование строения координационных биоактивных лигандов и их образования в зависимости от температуры».

Целью исследования являлось определение влияния новых полифенольных соединений, выделенных из растений *Euphorbia*, на функциональные параметры митохондрий и возможности создания на их основе лекарственных препаратов.

Задачи исследования:

определить антиоксидантную активность полифенольных соединений растений *Euphorbia* различными методами, а также их антирадикальной активности по отношению к различным свободным радикалам;

установить роль митохондрий как потенциальной мишени действия полифенольных соединений с последующим изучением механизмов их корригирующей активности по отношению к основным функциональным параметрам митохондрий;

обосновать специфические свойства и токсичность, проведение доклинических испытаний полифенольных соединений растений *Euphorbia* на моделях мышей;

выявить коэффициент корреляции между влиянием полифенольных соединений на функциональные параметры митохондрий и их биологическим действием.

Объектом исследования являлись 1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкоза (ПС-1), 1-О-галлоил-2,3-гексагидроксидифеноил-4,6-валонеил-β-D-глюкоза (ПС-2), 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкоза (ПС-3), митохондрии печени крыс, mPTR, mitoK_{ATP}-канал, ПОЛ, окислительное-фосфорилирование.

Предметом исследования являлись механизмы действия некоторых полифенольных соединений на функциональные параметры митохондрий.

Методы исследования. В ходе исследования использованы методы дифференциального центрифугирования, спектрофотометрии, полярографии, ядерно-магнитный резонанс (ЯМР), электронный парамагнитный резонанс (ЭПР). Статистическая обработка полученных результатов проводилась при помощи пакета программ Excel (Microsoft Office, 2016), Origin 8.0 (OriginLab Corporation, США) и Scilab 6.0.1. (Scilab Enterprises, Франция).

Научная новизна диссертационного исследования состоит в следующем:

впервые установлена высокая антиоксидантная/антирадикальная активность полифенольных соединений в условиях *in vitro* и *in vivo*;

доказана активность по отношению к свободным радикалам как супероксидрадикал, гидроксилрадикал, пероксид водорода,

дифенилпикрилгидразил (ДФПГ);

определена способность полифенольных соединений уменьшать накопление продуктов перекисного окисления липидов мембран митохондрий;

впервые доказана активность полифенолов по отношению к мегапоре mPTP, калиевого канала $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$, окислительного фосфорилирования митохондрий, на пассивный транспорт катионов металлов через мембраны митохондрий, а также определены оптимальные концентрации биологически активных соединений, варьирующие в физиологических пределах;

анализ полученных данных указывает на высокую способность исследованных соединений восстанавливать энергетические параметры митохондрий, приводящих к повышению устойчивости клеток и тканей к гипоксическим стрессам;

экспериментально показано, что изученные полифенольные соединения относятся к IV-V классу малотоксичных препаратов при максимальных концентрациях и показано их LD_{50} при внутрижелудочном введении мышам;

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

установлены мембраноактивные свойства ПС-1, ПС-2 и ПС-3 в целях создания лекарственного препарата с антигипоксическим действием на основе полученных результатов по влиянию полифенольных соединений на функциональные параметры митохондрий;

разработаны новые антиоксидантные средства на основе полифенольных соединений коррегирующие митохондриальные функциональные параметры;

обосновано использование полифенолов в качестве модуляторов митохондриальной мегапоры и АТФ-зависимого калиевого канала в физиологии и фармакологии.

Достоверность результатов исследования подтверждается тем, что они получены с применением современных биофизических методов и приборов, а также программных продуктов. Каждый эксперимент проводился как минимум в 6 кратном повторении. Для статистической обработки достоверности различий в сравниваемых показателях использовали коэффициент Стьюдента, компьютерные программы Origin 8.0 (OriginLab Corporation, США) и Scilab 6.0.1. (Scilab Enterprises, Франция).

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования обусловлена тем, что исследование регуляторных эффектов полифенольных соединений на уровне митохондрий и циклоспоринА-чувствительной поры позволят существенно расширить имеющиеся представления о механизмах действия биоактивных соединений на мембраны митохондрий. Результаты настоящей работы могут найти применение в медицине при изучении изменений в организме, вызванных различными нарушениями функциональных параметров митохондрий.

Практическое значение результатов исследования состоит в том, что

результаты, полученные при изучении механизма действия полифенольных соединений на функциональные параметры митохондрий, могут служить для фармакологической коррекции и лечения различных заболеваний, в частности, состояния хронической гипоксии и ишемических заболеваний сердца, и могут использоваться в разработке новых эффективных препаратов.

Внедрение результатов исследования. На основании полученных данных по изучению действия полифенольных соединений на функциональные параметры митохондрий:

результаты антиоксидантной активности ПС-1, ПС-2 и ПС-3, исследованные Fe^{2+} /аскорбат индуцированным методом перекисного окисления мембран митохондрий, использованы в рамках проекта ФА-А11-Т061 «Разработка противовирусного препарата на основе полифенолов местного растительного сырья» (справка ФТА-4/1255-802 от 14 ноября 2018 года Академии наук Республики Узбекистан). В результате установлены высокая антиоксидантная активность и низкая токсичность полифенольных соединений.

результаты исследования механизмов развития гипоксии на митохондриальном уровне и их коррекции при помощи полифенольных соединений используются в Автономном Университете Барселоны, Испания (письмо поддержки от 12 июня, 2018 года) в исследованиях их взаимосвязи с окислительным стрессом и нейродегенеративными заболеваниями;

исследование влияние полифенольных соединений на функциональные параметры митохондрий используются также в рамках научного направления Лодзинского Университета, Польша (письмо поддержки от 22 июня, 2018 года). Исследования влияния полифенольных соединений дают потенциальную возможность фармакологической коррекции различных неврологических заболеваний.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований были обсуждены на 5 международных и 3 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов. По теме диссертации опубликовано 19 печатных работ, из них 8 научных статей, в том числе 7 в республиканских и 1 в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертации.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, выводов, списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 113 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновываются актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, характеризуются объект и предмет исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан, излагаются научная новизна и практические результаты

исследования, научно-практическая значимость полученных результатов, внедрение результатов исследования в практику, приведены сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Физиологическая роль митохондрий в организме и их коррекция полифенольными соединениями в патологических условиях»** на основе анализа современной литературы приводятся сведения о митохондриях, их функциональных параметрах, таких как mPTP, mitoK_{ATP}, антиоксидантной системе и механизмах корригирования данных параметров при патологических нарушениях различными полифенольными соединениями растительного происхождения. Согласно литературным данным, функциональные параметры митохондрий могут выступать специфическими мишенями воздействия фармакологических агентов (полифенолов) в процессе адаптации организма к стресс-факторам, что открывает перспективы поиска и разработки на их основе новых эффективных лекарственных средств с направленным действием, а также возможности уточнения и расширения представлений о механизмах действия известных препаратов. Однако имеющийся арсенал лекарственных средств на основе полифенольных соединений не отвечает в полной мере современным требованиям медицины, а большинство применяемых препаратов относятся к категории “с недоказанной терапевтической эффективностью”.

В этой связи поиск полифенольных соединений с более эффективными свойствами представляет большой интерес при создании нового лекарственного препарата.

Во второй главе диссертации **«Материалы, условия и современные методы исследования влияния полифенольных соединений на функциональные параметры митохондрий»** приведены этапы проведения исследований, используемые материалы и методы, методы выделения митохондрий из печени крыс методом дифференциального центрифугирования, оценка ингибирования mPTP полифенольными соединениями, определение антиоксидантной/прооксидантной и антирадикальной активностей полифенольных соединений, методы оценки активации mitoK_{ATP}-канала под воздействием полифенольных соединений, оценка антигипоксических свойств исследуемых соединений, результаты изучения токсичности полифенольных соединений, а также математические методы определения коэффициента корреляции и статистической обработки полученных результатов.

В третьей главе диссертации **«Влияние новых полифенольных соединений растений Euphorbia на функциональные параметры митохондрий»** приведены результаты исследований по изучению антиоксидантных и антирадикальных свойств полифенольных соединений 1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил-β-D-глюкозы, 1-О-галлоил-2,3-гексагидроксифеноил-4,6-валонеил-β-D-глюкозы и 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкозы, выделенных из растений рода Euphorbia и условно обозначенных ПС-1, ПС-2 и ПС-3, соответственно. Внесение в

инкубационную среду системы Fe^{2+} /аскорбат индуцирует процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ), в результате чего нарушается барьерная функция митохондриальных мембран и органеллы резко набухают, по сравнению с контролем (Fe^{2+} /аскорбат) (рис. 1). В условиях индукции ПОЛ, внесение в инкубационную среду ПС-1, начиная с концентрации 1 мкМ, ингибирует набухание митохондрий, что свидетельствует об его антиоксидантных свойствах. Эффект ПС-1 на ПОЛ в мембранах митохондрий имеет концентрационную зависимость, т.е. с увеличением в инкубационной среде полифенолов процент ингибирования ПОЛ становился более выраженным. Полное ингибирование набухания митохондрий печени, т.е. процесса ПОЛ, отмечалось при концентрации ПС-1 равной 10 мкМ. При этом значение концентрации, вызывающей полумаксимальное ингибирование процесса ПОЛ (IC_{50}), для ПС-1 составило $6,08 \pm 0,06$ мкМ. Таким образом, в опытах показано, что ПС-1 обладает антиоксидантными свойствами.

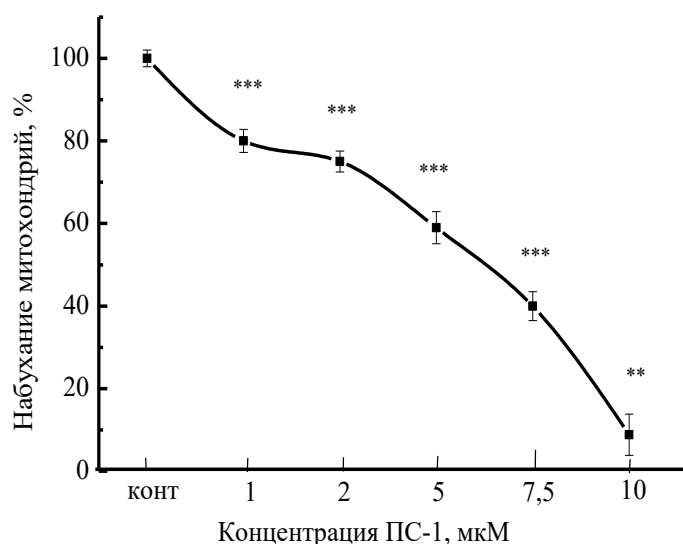


Рис. 1. Действие ПС-1 на Fe^{2+} /аскорбат-индуцированное набухание митохондрий печени крыс. СИ (мМ): КСI - 125, трис-НСI - 10, рН 7,4; FeSO_4 – 0,01, аскорбат – 0,6; белок митохондрий 0,3-0,4 мг/мл; (** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$; $n=6$).

В условиях индукции ПОЛ, внесение в инкубационную среду ПС-2, при концентрации 2 мкМ вызывало незначительное ингибирование набухания митохондрий. Постепенное увеличение концентрации ПС-2 в инкубационной среде приводило к полному ингибированию процесса ПОЛ, что свидетельствовало об его антиоксидантных свойствах. При этом значение концентрации, вызывающей полумаксимальное ингибирование процесса ПОЛ (IC_{50}), для ПС-2 составило $4,88 \pm 0,07$ мкМ.

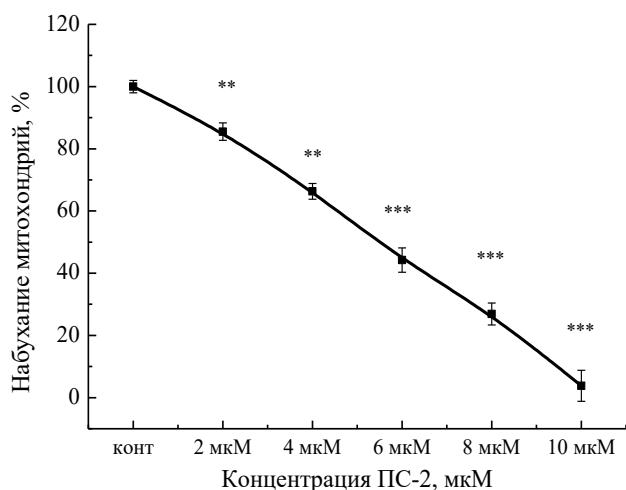


Рис. 2. Действие ПС-2 на Fe^{2+} /аскорбат-индуцированное набухание митохондрий печени крыс. СИ (мМ): KCl - 125, трис-HCl - 10, pH 7,4; $FeSO_4$ – 0,01, аскорбат – 0,6; белок митохондрий 0,3-0,4 мг/мл; (** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$; n=6).

Результаты по определению ингибирующего свойства ПС-3 на процесс ПОЛ, индуцированного системой Fe^{2+} /аскорбат, показали, что внесение в инкубационную среду ПС-3 при концентрации 2 мкМ приводит к ингибированию набухания митохондрий печени крыс на 44 %. Увеличение концентрации ПС-3 до 10 мкМ и более приводит к полному ингибированию процесса ПОЛ мембран митохондрий. В данном случае полумаксимальная концентрация ингибирования процесса ПОЛ (IC_{50}) для ПС-3 составила $5,25 \pm 0,06$ мкМ.

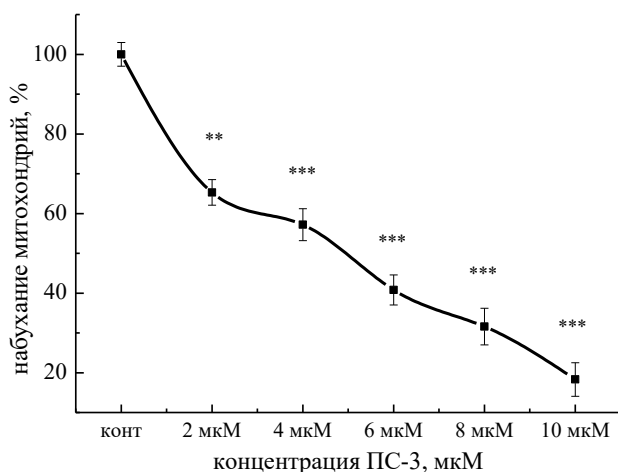


Рис. 3. Действие ПС-3 на Fe^{2+} /аскорбат-индуцированное набухание митохондрий печени крыс. СИ (мМ): KCl - 125, трис-HCl - 10, pH 7,4; $FeSO_4$ – 0,01, аскорбат – 0,6; белок митохондрий 0,3-0,4 мг/мл; (** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$; n=6).

Анализ полученных результатов позволяет заключить, что исследуемые соединения обладают общим свойством ингибировать процесс перекисного окисления липидов, индуцированный системой Fe^{2+} /аскорбат.

Далее в работе изучалось действие полифенольных соединений на накопление конечного продукта ПОЛ - малонового диальдегида (МДА), который образуется при взаимодействии с тиобарбитуровой кислотой, при процессе ПОЛ мембран митохондрий. В результате проведенных исследований установлено, что исследуемые полифенольные соединения в концентрации 25 мкМ предотвращали эффект индукторов ПОЛ на уровень МДА в изолированных Мх печени. При этом уменьшение накопления МДА составляло 92%, 90% и 95%, соответственно, относительно контроля.

В случае гомогената печени крыс 50% (IC₅₀) ингибирование накопления продуктов ПОЛ малонового диальдегида наблюдается при следующих концентрациях полифенолов (мкМ вещества/мг белка): ПС-1 – 5,08 мкМ, ПС-2 – 5,05 мкМ, ПС-3 – 5,02 мкМ.

Определение конечных продуктов перекисного окисления является классическим методом изучения антиоксидантной активности (АОА) биологически активных соединений. В литературе АОА полифенолов связывают как с их способностью хелатировать различные ионы металлов, так и непосредственно взаимодействовать с активными формами кислорода: O₂[•], OH-радикалами и синглетным кислородом. Кроме того, полифенолы могут взаимодействовать и/или связывать компоненты реакционной среды, что может приводить к искажению результатов. Применение метода МДА или Fe²⁺/аскорбат индуцированного ПОЛ не позволяет непосредственно оценить вклад каждого из этих эффектов в общую антиоксидантную активность препаратов.

В этом отношении полезно использовать соединения, несущие свободную валентность, каковым является стабильные органические радикалы. Из экспериментальных данных следует, что изучаемые соединения обладают высокой способностью к тушению свободных радикалов. Для количественной оценки антирадикальной активности использовали стабильный радикал 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (ДФПГ), а также параметр *t*₅₀ – время, необходимое изучаемым препаратам для снижения исходной концентрации радикала на 50%. В реакции ДФПГ с полифенолами *t*₅₀ при 17 °С составляет для препарата ПС-1 – 105 с, препарата ПС-2 – 9,6 с, для препарата ПС-3 – 900 с., следовательно, по реакционной способности препарат ПС-2 превосходил остальные препараты (таблица 1).

Таблица 1

Значения константы скорости реакции, концентрация, ингибирующая на 50 % (IC₅₀) и время необходимое для снижения концентрации ДФПГ на 50 % (*t*₅₀) при реакции с исследуемыми полифенолами

<i>K</i> 10 ⁻³ , с ⁻¹			IC ₅₀ , мкМ			<i>t</i> ₅₀ , сек при 50 мкМ вещества		
ПС-1	ПС-2	ПС-3	ПС-1	ПС-2	ПС-3	ПС-1	ПС-2	ПС-3
1,2	5,3	0,4	14,3	7,2	8,6	105	9,6	900

Тот факт, что исследуемые соединения ингибируют накопление продуктов ПОЛ в гомогенате печени и проявляют высокую антирадикальную активность свидетельствует о том, что данные соединения являются истинными антиоксидантами, механизм действия которых заключается в отдаче подвижного водорода свободному радикалу, в результате чего происходит обрыв цепи реакции ПОЛ. Данный факт также подтверждается коэффициентом корреляции **r²=0.94** между проявлением антиоксидантных и антирадикальных свойств.

Было исследовано влияние полифенольных соединений ПС-1, ПС-2 и ПС-3 на пассивный транспорт различных катионов металлов. Анализ результатов, полученных при изучении влияния полифенолов на кинетику набухания митохондрий в изотонических средах с различными одно- и двухвалентными катионами, позволяет заключить, что данные полифенольные соединения влияют на пассивный транспорт одновалентных катионов. Индуцированное полифенольными соединениями изменение проницаемости внутренней мембраны митохондрий при относительно высокой дозе (100 мкМ) представлено в таблице 1. При действии трех исследуемых соединений, пассивная проницаемость мембран митохондрий для ионов K^+ увеличивается в 11, 10 и 13 раз соответственно по сравнению с контролем и с ионами Na^+ . Необходимо отметить, что в экспериментах наибольшая селективность наблюдалась для ионов водорода.

Таблица 2.

Действие полифенольных соединений ПС-1, ПС-2 и ПС-3 на пассивную проницаемость мембран митохондрий печени крыс

Наименование вещества	Концентрация мкМ.	*Проницаемость A/Ao					
		H^+	K^+	Na^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Ba^{2+}
Контроль	-	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
ПС-1	25	7,2±0,16	5,5±0,08	3,2±0,07	1,0	1,0	1,0
	50	11,3±0,17	9,8±0,15	5,6±0,08	1,0	1,0	1,0
	100	17,4±0,25	11,7±0,17	7,0±0,11	1,0	1,0	1,0
ПС-2	25	6,5±0,08	5,0±0,07	3,0±0,04	1,0	1,0	1,0
	50	10,8±0,15	9,1±0,13	5,5±0,08	1,0	1,0	1,0
	100	15,0±0,24	10,8±0,15	6,5±0,09	1,0	1,0	1,0
ПС-3	25	8,3±0,16	6,2±0,08	3,8±0,07	1,0	1,0	1,0
	50	12,8±0,17	10,8±0,15	6,8±0,08	1,0	1,0	1,0
	100	18,9±0,25	13,1±0,17	8,2±0,11	1,0	1,0	1,0

*Примечание: A - проницаемость мембран в присутствии препаратов, Ao - в контроле.

Известно, что катионы щелочноземельных металлов способны, в определенных условиях, образовывать с кислородсодержащими молекулами связи типа координационных. Авторами Merziak и др. также приводятся данные, что полифенольные соединения могут хелатировать катионы различных переходных металлов. Для получения экспериментальных доказательств о комплексообразующих свойствах исследуемых полифенолов с катионами кальция, магния и бария был использован метод кондуктометрии.

Анализ экспериментальных данных показывает, что увеличение концентрации полифенолов и ионов двухвалентных металлов (Ca^{2+} , Mg^{2+} и Ba^{2+}) не приводят к изменению электропроводности раствора, профилт графика кривой не изменяется и не выходит на плато (рис.5). Таким образом, можно заключить, что отсутствие пассивного транспорта двухвалентных катионов через митохондриальные мембраны не связано с хелатированием двухвалентных катионов исследованными полифенолами.

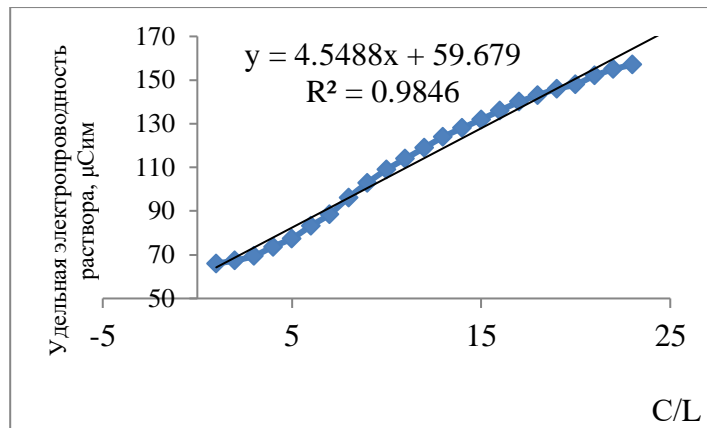


Рис.5. Типичная кривая кондуктометрического титрования полифенолов раствором Ca^{2+} (где С – концентрация соли, L – концентрация полифенола)

Исходя из того, что в обеспечении проницаемости мембран митохондрий ключевую роль играет Ca^{2+} -зависимая митохондриальная мегапора mPTP (mitochondrial permeability transition pore), далее в работе изучалось влияние полифенольных соединений (ПС-1, ПС-2, ПС-3) на активность mPTP. Возникает закономерный вопрос, обладают ли исследуемые полифенольные соединения, проявляющие антиоксидантные свойства, способностью переводить ЦсА-чувствительную пору в закрытую конфигурацию.

Ионы Ca^{2+} являются классическими индукторами Ca^{2+} -зависимого мегаканала мембран Мх. Добавление ионов Ca^{2+} (рис. 6.) в инкубационную среду вызывают набухание Мх, что в свою очередь свидетельствует о переходе mPTP в открытое конформационное состояние.

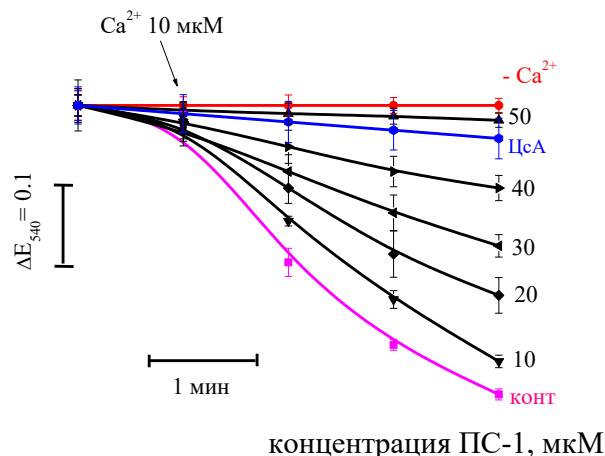


Рис. 6. Действие различных концентраций ПС-1 на набухание митохондрий печени.

СИ (мМ): сахароза - 200, KH_2PO_4 - 1, сукцинат - 5, Ca^{2+} -ЭГТА-буфер 0,02, Нерес – 20, трис-НС1 - 20, ротенон – 0,002, рН 7,2; белок митохондрий 0,3- 0,4 мг/мл; (** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$; n=3-5).

Как видно из рис. 6 ПС-1, начиная с концентрации 20 мкМ, оказывает ингибирующее действие на открытие mPTP. С увеличением концентрации

полифенола до 50 мкМ степень ингибирования mPTP составляла практически 100 %. Полумаксимальная ингибирующая концентрация mPTP ПС-1 составляла $IC_{50}=23,7\pm 1,6$ мкМ.

Полученные результаты позволяют предположить, что влияние ПС-1 на проницаемость Мх мембран опосредовано через регуляцию состояния ЦсА-чувствительной поры. Такое проявление активности ПС-1 по отношению к mPTP, возможно, связано с взаимодействием молекулы полифенола с функциональными группами белковых структур Ca^{2+} -зависимой mPTP, образуя водородные связи, в результате чего меняется их конформация.

Исследования полифенольных соединений ПС-2 и ПС-3 показали, что данные соединения также обладают свойствами ингибирования mPTP. Сравнительные показатели свойств ингибирования соединений представлены в таблице 2.

Таблица 3

Сравнительные показатели ингибирования открытия mPTP (в %) полифенольными соединениями ПС-1, ПС-2, ПС-3

Вещество	Концентрация вещества, мкМ								
	10	20	30	40	50	80	100	150	200
ПС-1	11,2%	35%	50,8%	71,5%	95,3%				
ПС-2	0%	0%	0%	0%	10,9%	22,9%	29%	50,4%	85,5%
ПС-3	10,3%	29,5%	42%	51,5%	61,8%	84,4%	94,7%		

Таким образом, на основании полученных результатов можно отметить, что исследуемые соединения ингибируют открытие mPTP и являются эффективными регуляторами и модификаторами ЦсА-чувствительной поры Мх. По всей вероятности, такой защитный эффект связан с проявлением антиоксидантных свойств исследованных соединений. Наиболее выраженная активность среди исследованных полифенольных соединений наблюдалась у ПС-1.

В следующих сериях исследований было изучено действие полифенольных соединений на активность $mitoK_{ATP}$. Полученные результаты свидетельствуют о том, что концентрация 10 и 20 мкМ ПС-1 активирует $mitoK_{ATP}$. Однако, при увеличении концентрации исследуемого соединения в инкубационной среде до 30 мкМ и выше наблюдается снижение активности канала. Следовательно, эффект ПС-1 на активность $mitoK_{ATP}$ имеет дозозависимое влияние на митохондриальный АТФ-зависимый калиевый канал, оказывая двухфазное (активирующее и ингибирующее) воздействие.

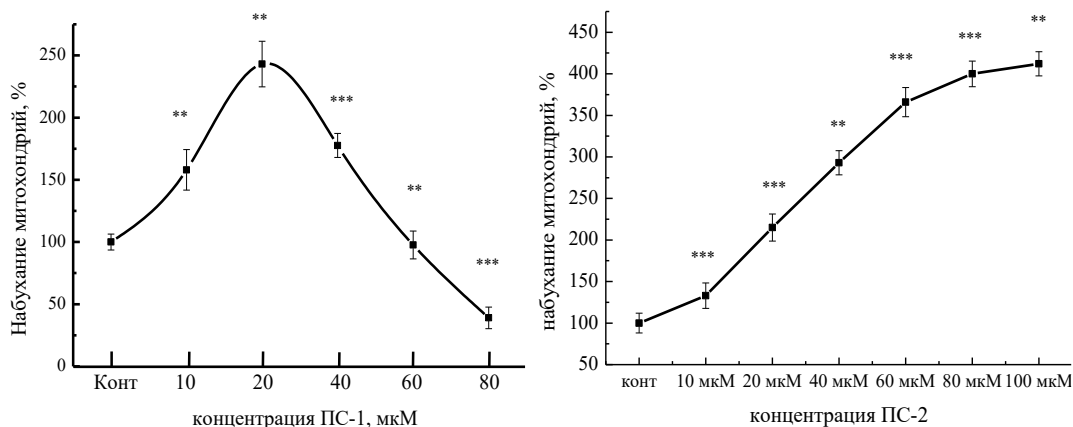


Рис. 7. Влияние полифенольных соединений на активность АТФ-зависимого K^+ -канала митохондрий.

СИ при содержании АТФ: 125 мМ КСl, 1 мМ MgSO₄, 2,5 мМ K₂HPO₄, 2,5 мМ KN₂PO₄, 10 мМ Нерес, 5 мМ сукцинат, ротенон 5 мкг/мл, 1 мкг/мл олигомицин, pH 7,4. (** - P<0,01, *** - P<0,001; n=4)

Полифенольное соединение PS-2, начиная с концентрации 10 и 20 мкМ активирует mitoK_{АТР} -канал (рис. 7). Постепенное увеличение концентрации PS-2 до 80 мкМ приводит к дальнейшему увеличению активности канала. При концентрации 100 мкМ наблюдается выход на плато. При этом активность mitoK_{АТР} -канала увеличивается в 4 раза по сравнению с контролем.

Исследование влияния различных концентраций PS-3 на активность mitoK_{АТР} Мх показали, что PS-3 в концентрации 5 мкМ проявляет незначительное активирующее действие данного канала. При увеличении концентрации PS-3 до 20 и более мкМ в среде инкубации активность mitoK_{АТР} увеличивается в 2-2,5 раза по сравнению с контролем.

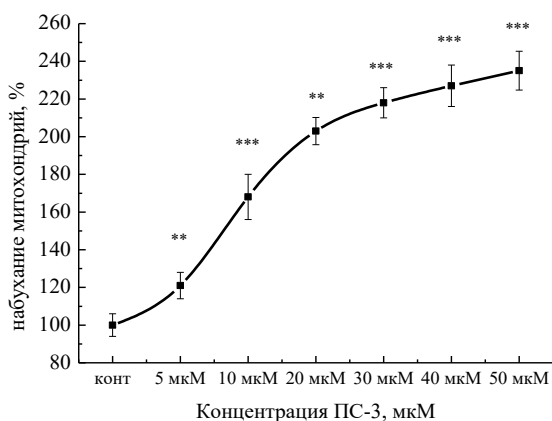


Рис. 8. Влияние PS-3 на активность АТФ-зависимого K^+ -канала митохондрий.

СИ при содержании АТФ: 125 мМ КСl, 1 мМ MgSO₄, 2,5 мМ K₂HPO₄, 2,5 мМ KN₂PO₄, 10 мМ Нерес, 5 мМ сукцинат, ротенон 5 мкг/мл, 1 мкг/мл олигомицин, pH 7,4. (** - P<0,01, *** - P<0,001; n=4)

Анализируя полученные данные по исследованию полифенольных соединений растений Euphorbia PS-1, PS-2 и PS-3 можно заключить, что

наибольшей активностью обладает соединение ПС-2, увеличивая активность mitoK_{ATP}-канала в 4 раза при концентрациях 80-100 мкМ (таблица 3.).

Таблица 4

Вещество	Концентрация вещества, мкМ							
	5	10	20	30	40	50	80	100
ПС-1	120%	168,7%	243,7%	225%	175%	122,2%	44,3%	21,6%
ПС-2	114%	137%	215%	255%	285%	325%	405%	420%
ПС-3	122%	168%	204%	218%	229%	238%	265%	292%

В четвертой главе диссертации «Доклинические испытания полифенольных соединений растений *Euphorbia*» приведены результаты исследований по определению антигипоксических свойств полифенольных соединений, выделенных из растений *Euphorbia*. По полученным результатам было установлено, что при пероральном введении препаратов мышам, данные полифенольные соединения, продлевают среднюю продолжительность жизни мышей в изолированном от воздуха помещении, по сравнению с контролем, проявляя тем самым антигипоксические свойства (рис. 9).

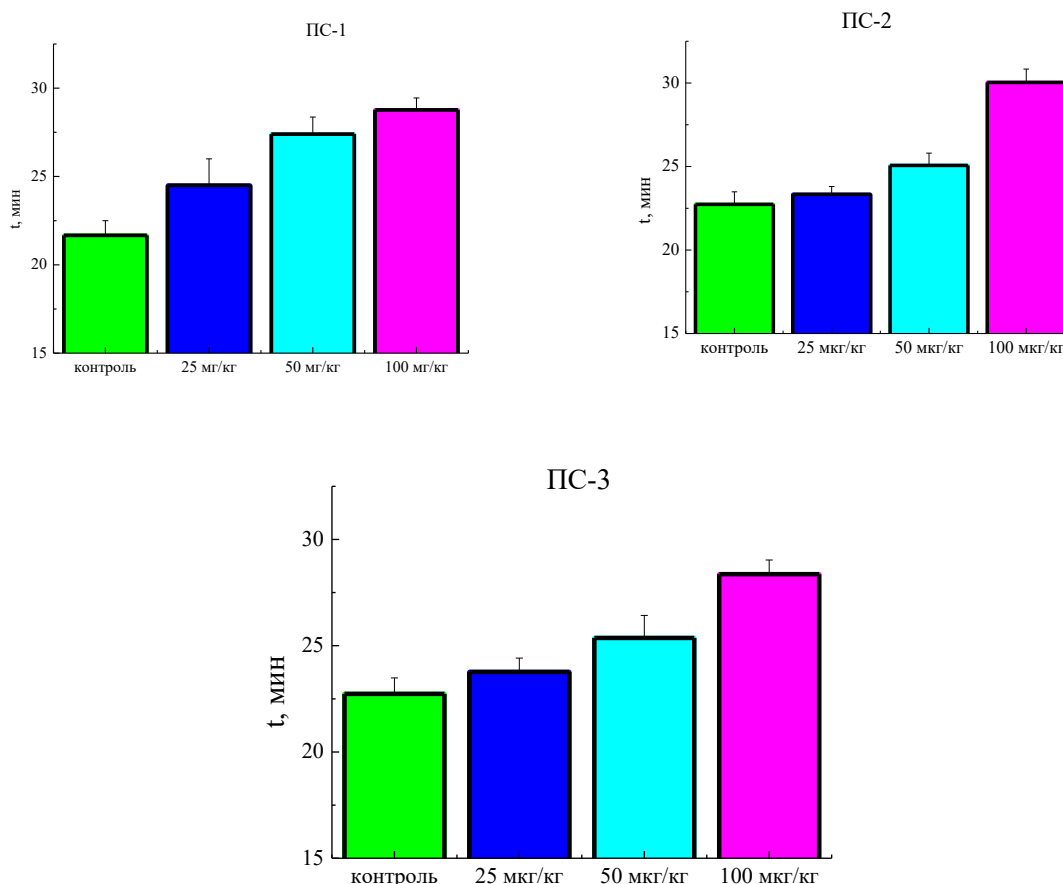


Рис. 9. Средняя продолжительность жизни мышей в изолированном от воздуха помещении (мин) после перорального введения препаратов

Дальнейшие исследования заключались в изучении антигипоксического действия препаратов ПС-1, ПС-2 и ПС-3 на моделях гемической гипоксии, вызванной подкожным введением NaNO_2 мышам.

Опыты были проведены на 60 белых беспородных мышах обоего пола массой тела $25 \pm 2,0$ г. по 10 животных в группе.

Цитотоксическую гемическую гипоксию вызывали подкожным введением нитрита натрия NaNO_2 в дозе 400 мг/кг массы тела, от которой погибали 100% животных. Гемическая гипоксия возникает вследствие нарушений в системе крови, а именно – уменьшения её кислородной емкости. В организме образуется патологическая форма гемоглобина, называемая карбоксигемоглобином - соединения гемоглобина с окисью углерода. Нитрит натрия, являясь производным азотной кислоты, в организме превращается в нитрат натрия, который окисляет двухвалентное железо гемоглобина до трехвалентного железа, что приводит к образованию метгемоглобина, не способного обратимо связывать кислород. В результате этих процессов нарушается транспорт кислорода кровью и возникает гемическая гипоксия. Критерием оценки антигипоксического действия исследуемых веществ по данной методике, является продление времени наступления первых судорог и продолжительности жизни животного по сравнению с контролем.

Раствор препаратов ПС-1, ПС-2 и ПС-3 вводили перорально с помощью шприца в дозах 0,05 и 0,1мг/кг. Препарат сравнения Витамин B_{12} вводили внутримышечно в дозе 0,09мг/кг за 1 час до начала моделирования гипоксии. Контрольной группе животных вводили дистиллированную воду перорально в биоэквивалентном объеме.

Результаты по исследованию антигипоксической активности препаратов приведены в таблицах 5.

Таблица 5.

Влияние препаратов ПС-1, ПС-2 и ПС-3 на устойчивость мышей к цитотоксической гемической гипоксии ($M \pm m$; n=10)

Препарат, путь введения	Доза мг/кг	Время исследования, часы	Продолжительность жизни, мин	Антигипоксический эффект, %
Контроль		1	$19,0 \pm 2,3$	-
ПС-1 перорально	0,05	1	$25,3 \pm 4,5$	33,2
	0,1	1	$21,3 \pm 3,6$	12,1
ПС-2 перорально	0,05	1	$20 \pm 2,0$	5,3
	0,1	1	$27 \pm 3,5$	42,1
ПС-3 перорально	0,05	1	$20,3 \pm 2,1$	6,8
	0,1	1	$26 \pm 2,4$	36,8
Витамин B_{12} внутримышечно	0,1	1	$27,9 \pm 2,0$	46,8

*P <0,05 по отношению к контролю

Как видно из данных, приведенных в таблице 5, через 1 час продолжительность жизни в контрольной группе животных составляла $19,0 \pm 2,3$ минут.

При введении препаратов ПС-1, ПС-2 и ПС-3 в дозе 0,1 кг/кг мышам, продолжительность жизни увеличивалась до $21,3 \pm 3,6$ мин., $27 \pm 3,5$ мин. и $26 \pm 2,4$ мин., а антигипоксический эффект соответственно составлял 12,1%, 42,1 % и 36,8 %.

В дальнейших экспериментах выявлена токсичность полифенольных соединений растений *Euphorbia*. При пероральном введении ПС-1 мышам в дозе 2500 мг/кг наблюдалась вялость, учащение дыхания, сужение глаз и кучкование, гибель не зафиксирована. При введении препарата в дозах 3200 мг/кг, наблюдалось расслабление, кучкование и сужение глаз. Поведение животных приходило к норме через 1-2 часа. После введение препарата в дозах 4000 и 5000 мг/кг через 10 минут наблюдалось угнетение дыхания, вялость, влажность шерстного покрова, вытягивание спины, приподнятия хвоста. Гибель животных наступала в течение суток при дозе 3200 мг/кг -2/6, при дозе 4000 мг/кг -4/6, при дозе 5000 мг/кг – 6/6.

Пероральное введение препарата ПС-2 мышам в дозах 1600 и 2500-мг/кг через 5-10 минут вызывало умывание, кучкование, через 2-3 часа состояние животных приходило в норму, гибель не отмечена. При введении препарата в дозе 3200 мг/кг наблюдалось сужение глаз, умывание, повышение вертикальной активности и учащение дыхания. Поведение животных приходило к норме через 2-3 часа. Гибель животных наступала в течение суток (3/6). В дозе 4000 мг/кг в течение 5-10 минут – умывание, вялость, глубокое дыхание, сужение глаз, мочеиспускание, расслабление и кучкование. В течение суток погибли все животные (6/6).

Таблица 6.

Результаты показателей острой токсичности при пероральном введении препаратов ПС-1, ПС-2 и ПС-3 мышам

Препараты	Вид животных, путь введения	Дозы мг/кг	Число погибших/число животных в групп	ЛД ₁₆ мг/кг	ЛД ₅₀ мг/кг	ЛД ₈₄ мг/кг
ПС-1	Мыши, перорально	2500	0/6	3100	3550	4000
		3200	2/6			
		4000	4/6			
		5000	6/6			
ПС-2	Мыши, перорально	1600	0/6	2800	3250	3800
		2500	0/6			
		3200	4/6			
		4000	6/6			
ПС-3	Мыши, перорально	4000	0/6		≥8000	
		5000	0/6			
		6000	0/6			
		8000	0/6			

При пероральном введении препарата ПС-3 мышам в дозах 4000, 5000, 6000 и 8000 мг/кг через 20-30 минут вызывало умывание, кучкование, учащение дыхания и сужение глаз. Через 5-6 часов состояние животных приходило в норму, гибель не отмечена.

По другим изученным показателям на протяжении всего срока исследования (14 дней): состояние волосяного и кожного покрова, положение хвоста, количество и консистенция фекальных масс, изменения массы тела при введении им препаратов ПС-1, ПС-2 и ПС-3 во всех использованных дозах не наблюдалось отклонений от нормы.

Таким образом, изучение острой токсичности препаратов ПС-1 и ПС-2 показало, что данные препараты относятся к IV классу малотоксичных соединений, LD₅₀ при внутрижелудочном введении мышам составляло 3550 (-630+650) мг/кг и 3250 (-440+480) мг/кг, соответственно. По результатам полученных данных по изучению острой токсичности препарата ПС-3 было установлено, что данное соединение относится к V классу практически нетоксичным соединением, LD₅₀ при внутрижелудочном введении мышам, составляло ≥ 8000 мг/кг.

ВЫВОДЫ

1. В модельных системах *in vitro* установлена высокая антиоксидантная и антирадикальная активность полифенольных соединений 1-О-галлоил-6-О-бисгаллоил-2,4-валонеил- β -D-глюкозы (ПС-1), 1-О-галлоил-2,3-гексагидроксидифеноил-4,6-валонеил- β -D-глюкозы (ПС-2), 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы (ПС-3), выделенных из растений *Euphorbia*. Данные соединения предотвращают разрушение мембран митохондрий и ингибируют процесс ПОЛ.

2. Доказано, что ПС-1, ПС-2 и ПС-3 в условиях *in vitro* дозозависимо подавляют кальций-индуцированное набухание митохондрий, проявляя, таким образом, способность ингибирования открытия митохондриальной мегапоры.

3. Выявлено, что увеличение концентрации полифенолов приводит к активации канала mitoK_{ATP}, что в свою очередь вызывает вход ионов калия в матрикс митохондрий и уменьшение внутреннего потенциала митохондриальной мембраны.

4. Полифенольные соединения ПС-1, ПС-2 и ПС-3 увеличивая пассивный транспорт одновалентных катионов не оказывают влияния на транспорт двухвалентных катионов через внутренние мембраны митохондрий.

5. Установлена антигипоксическая активность полифенольных соединений ПС-1, ПС-2 и ПС-3 в доклинических исследованиях. Доказано, что изученные образцы относятся к IV - V классу малотоксичных и практически нетоксичных соединений.

6. Установлена высокая зависимость между антиоксидантной/антирадикальной и антигипоксической активностями.

Коэффициент корреляции для трех образцов в среднем составлял $R^2 = 0,9$.

7. Полученные в данной работе результаты обосновывают, в определенной степени, возможность создания на основе соединений, выделенных из растений *Euphorbia*, лекарственных препаратов с антигипоксической активностью.

**SCIENTIFIC COUNCIL AWARDING SCIENTIFIC DEGREE
DSc.27.06.2017 B.38.01 AT THE INSTITUTE OF MICROBIOLOGY AND
NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN**

INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY

GAYIBOV ULUGBEK GAPPARJANOVICH

**INFLUENCE OF POLYPHENOL COMPOUNDS OF EUPHORBIA
PLANTS ON FUNCTIONAL PARAMETERS OF MITOCHONDRIA**

03.00.08 – Human and animal physiology

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

Tashkent – 2018

The title of the doctor of philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B2014.1.PhD/B249

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

The abstract of the dissertation is posted in three languages (Uzbek, Russian and English) on the website of the Scientific Council <http://ss.biochem.uz> and on the website of «ZiyoNet» information-educational portal www.ziynet.uz.

Scientific supervisor: **Aripov Takhir Fatikhovich**
doctor of biological sciences, academician

Official opponents: **Kuchkarova Lyubov Salijanovna**
doctor of biological sciences, professor

Suyarov Akram Amirqulovich
doctor of medical sciences

Leading organization: **Andijan state university**

Defense will take place on _____ 2018 year ___ at the meeting of the Scientific Council DSc.27.06.2017.B.38.01 on award of scientific degrees at the Institute of Microbiology and the National University of Uzbekistan at the following address: 100128, Tashkent, 7B A. Kadyri street. Conference hall of the Institute of Microbiology. Phone: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98 Fax: (+99871) 241-92-71).

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of the Institute of Microbiology. (Address: 100128, Tashkent, 7B A. Kadyri street. Conference hall of the Institute of Microbiology. Phone: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98 Fax: (+99871) 241-92-71). E-mail: info@microbio.uz

Abstract of the dissertation is distributed on «_____» _____ 2018.
(protocol at the register No _____ dated _____ 2018).

Djumaniyazova Gulnara Ismailovna,
Depute of Chairman of Scientific council
on award of scientific degrees,
Doctor of biological sciences, professor

Juraeva Rohila Nazarovna,
Acting Scientific secretary of scientific council
on award of scientific degrees,
PhD, senior researcher

Rahimova Turahon Uzoqovna,
Chairman of Scientific seminar at Scientific council
on award of scientific degrees,
Doctor of biological sciences, professor

INTRODUCTION (abstract of PhD dissertation)

The aim of the research work. Studying the effect of new polyphenolic compounds isolated from Euphorbia plants on the functional parameters of mitochondria and to determine the possibility of creating drugs based on them.

The object of research: 1-O-galloyl-6-O-bisgalloyl-2,4-valoneil- β -D-glucose (PC-1), 1-O-galloyl-2,3-gexahydroxydiphenoil-4,6-valoneil- β -D-glucose (PC-2), 1,4,6 tri-O-galloyl-2,3-valoneil- β -D-glucose (PC-3), rat liver mitochondria, mPTP, mitoK_{ATP}-канал, LPO, oxidation-phosphorylation.

The scientific novelty of the research is as follows:

the high antioxidant/antiradical activity of polyphenolic compounds *in vitro* and *in vivo* condition was obtained;

the activity has been proved with respect to free radicals such as superoxide radical, hydroxyl radical, hydrogen peroxide, diphenylpicrylhydrazyl (DPPH);

the ability of polyphenolic compounds to reduce the accumulation of lipid peroxidation products of mitochondrial membranes was determined;

the polyphenol activity on mPTP, mitoK_{ATP}, on passive transport of metal cations through mitochondrial membranes, and optimal concentrations of biologically active compounds, varying in physiological limits were obtained;

the analysis of the data indicates a high ability of the studied compounds to restore the energy parameters of mitochondria, leading to an increase in the resistance of cells and tissues to hypoxic stress;

the experiments show that the studied polyphenolic compounds belong to the IV-V class of low-toxic and non-toxic drugs and their LD₅₀ was shown after intragastric administration to mice.

Implementation of the research results. On the basis of scientific results on the study of the effect of polyphenolic compounds on the functional parameters of mitochondria:

the antioxidant activity of PC-1, PC-2 and PC-3, was used in the frame of project FA-A11-T061 "Development of antiviral preparation based on polyphenols from local plant materials" (FTA-4/1255-802 dated November 14, 2018 of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan). As a result, high antioxidant activity and low toxicity of polyphenolic compounds were established.

the results of the study of the mechanisms of development of hypoxia at the mitochondrial level are used in the Autonomous University of Barcelona, Spain (letter of support dated June 12, 2018) in studies of their relationship with oxidative stress and neurodegenerative diseases;

the study of the influence of polyphenolic compounds on the functional parameters of mitochondria is also used within the framework of the research area of the University of Lodz, Poland (letter of support dated June 22, 2018). Studies of the effects of polyphenolic compounds offer the potential for pharmacological correction of various neurological diseases.

The structure and volume of the thesis. The structure of the thesis consists of the introduction, four chapters, conclusion, the list of used literature. The volume of the thesis is 113 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Gayibov U.G., Komilov E.Dj., Ergashev N.A., Asrarov M.I., Aripov T.F. Effect of gossypol and its derivatives on functional parameters of rat liver mitochondria // Узбекский биологический журнал. – Ташкент, 2018. – №3 – С.3–7. (03.00.00. №5).
2. Гайибов У.Г., Комилов Э.ДЖ., Рахимов Р.Н., Эргашев Н.А., Абдуллажанова Н.Г., Асраров М.И., Арипов Т.Ф. Влияние полифенольного соединения ПС-1 на проницаемость мембран митохондрий печени крыс // Журнал Доклады Академии наук Республики Узбекистан.–Ташкент, 2018. – № 1. – С.60–33 (03.00.00, № 2).
3. Гайибов У.Г., Гайибова С.Н., Комилов Э.ДЖ., Рахимов Р.Н., Эргашев Н.А., Абдуллажанова Н. Г., Асраров М.И., Арипов Т.Ф. Антирадикальная активность полифенольных соединений выделенных из растений семейства Euphorbia // Universum. Технические науки. – 2018 № 1. – С.60–33 (02.00.00. №2).
4. Гайибов У.Г., Комилов Э.ДЖ., Рахимов Р.Н., Эргашев Н.А., Абдуллажанова Н. Г., Асраров М.И., Арипов Т.Ф. Антиоксидантная и мембраноактивные свойства ПС-1 // Узбекский биологический журнал. – Ташкент, 2017. – №2 – С.19–23 (03.00.00. №5).
5. Гайибов У.Г., Комилов Э.ДЖ., Рахимов Р.Н., Эргашев Н.А., Абдуллажанова Н.Г., Асраров М.И., Арипов Т.Ф. Влияние полифенольного соединения ПС-1 на проницаемость мембран митохондрий печени крыс // Журнал Доклады Академии наук Республики Узбекистан–Ташкент, 2017. – №5. – С.49–53 (03.00.00, № 2).
6. Гайибов У.Г., Камаев Ф.Г., акад. АН РУз Арипов Т.Ф. Исследование взаимодействия госсипола с ДФПГ в различных растворителях методом ЯМР // Журнал Доклады Академии наук Республики Узбекистан. – Ташкент, 2012. – №3. – С.49–53 (03.00.00, № 2).
7. Гайибов У.Г., Тиябаев К.З., Тукфатуллина И.И., Салахутдинов Б.А. Мембраноактивные свойства госсипола и его симметричных и ассиметричных производных // 1. Узбекский биологический журнал. – Ташкент, 2011. – № 5 – С.11–15 (03.00.00. №5).
8. Салахутдинов Б.А., Гайибов У.Г., Тиябаев К.З. Антиоксидантная активность и мембранотропность госсипола и его производных // Узбекский биологический журнал. – Ташкент, 2010. – Специальный выпуск. – С.83–87 (03.00.00. №5).

II бўлим (II часть; II part)

9. Гайибов У.Г., Рахимов Р.Н., Абдуллажанова Н.Г., Рахманова Г.Г., Выпова Н.Л., акад. Арипов Т.Ф. Изучение антигипоксической активности препарата 1-О-галлоил-2,3-гексагидроксидифеноил-β-D-глюкозы (ПС-2) // Сборник тезисов международной научной конференции «Лекарственные препараты на основе природных соединений». – Ташкент. – 2018. – с. 75-76.
10. Гайибов У.Г., Гайибова С.Н., Комилов Э.Дж., Эргашев Н.А., Рахимов Р.Н, Асраров М.И., акад. Арипов Т.Ф. Влияние новых полифенольных соединений растений *Euphorbia* на пассивный транспорт катионов через митохондриальные мембраны // Сборник тезисов международной научной конференции «Лекарственные препараты на основе природных соединений». – Ташкент. – 2018. – с. 74-75.
11. Gayibov U.G., Rakhimov R.N., Komilov E.Dj., Ergashev N.A., Asrarov M.I., Aripov T.F. Effect of nine selected polyphenols from various sources on functionality of mitochondrial permeability transition pore // Сборник тезисов международной научной конференции «Лекарственные препараты на основе природных соединений». – Ташкент. – 2018. – с. 73-74.
12. Гайибов У.Г., Комилов Э.Дж., Рахимов Р.Н. Влияние полифенольного соединения растений *Euphorbia* 1,4,6 три-о-галлоил-2,3-валонеил-β-d-глюкозы а функционирование митохондрий // XXI международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье». – Санкт-Петербург (Россия). – 2018. – с. 83-85.
13. Гайибов У.Г., Рахимов Р.Н., Абдуллажанова Н. Г., Рахмонова Г., Выпова Н.Л., Арипов Т.Ф. Изучение острой токсичности препарата 1-О-галлоил-2,3-гексагидроксидифеноил-4,6-валонеил-β-D-глюкозы (ПС-2) // International conference “Prospects for the intensive approach to innovative development”. – Namangan. – 2018. – с. 213.
14. Gayibov U.G., Komilov E.Dj., Rakhimov R.N., Ergashev N.A., Abdullajanova N.G., Asrarov M.I., Aripov T.F. Influence of new polyphenol compound from *Euphorbia* plant on mitochondrial function // International conference “Prospects for the intensive approach to innovative development”. – Namangan. – 2018. – p. 115-116.
15. Gayibov U.G., Komilov E.Dj., Rakhimov R.N. Antihypoxant activity of polyphenol compounds from *Euphorbia* plants // Scientific Conference of PhD. Students of FAFR and FBFS with international participation. – Nitra (Slovakia). – 2017. – p. 25.
16. Гайибов У.Г., Абдулхакова Г.В., Рахимов Р.Н. Влияние полифенольного соединения ПС-1 на проницаемость мембран митохондрий печени крыс // Актуальные проблемы современной медицины и фармации. – Минск (Белорусия). – 2017. – с. 196.

17. Gayibov U.G., Komilov E.Dj., Ergashev N.A., Asrarov M.I., Aripov T.F. Effect of gossypol and its derivative on functional parameters of mitochondria // Scientific Conference of PhD. Students of FAFR and FBFS with international participation. – Nitra (Slovakia). – 2016. – p. 31.
18. Гайибов У.Г., Тилябаев К.З., Салахутдинов Б.А. Изучение сравнительной антирадикальной активности и мембраноактивных свойств госсипола, его симметричных и несимметричных производных // материалы республиканской научной конференции, посвященной 75-летию академика Ташмухамедова Б.А. «Актуальные проблемы современной физиологии и биофизики». – Ташкент. – 2010. – с. 43-44.
19. Гайибов У.Г., Сонькина С.Н., Тилябаев К.З., Салахутдинов Б.А. Антирадикальная активность госсипола и его ассиметричных производных // International conference on biomolecular science in honor of the 75th anniversary of the birth of professor Yuri Ovchinnikov, Moscow-Pushchino (Russia). – 2009. – p. 167-168.

Автореферат “Ўзбекистон кимё” журнали таҳририятида таҳрирдан
ўтказилди. (14.12.2018 й.)

Босишга рухсат этилди .12.2018. Ҳажми 2,25 босма табоқ.
Бичими 60×84 1/8. Адади 80 нусха. Буюртма .
М.Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий Университети
босмахонасида чоп этилди.

