

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ БИОФИЗИКА ВА  
БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР  
БЕРУВЧИ DSc.03/30.12.2019.В.01.13 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**  

---

**БИОФИЗИКА ВА БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ**

**РУСТАМОВА САРВИНОЗ ИСЛОМОВНА**

**ЎСИМЛИК ФЛАВОНОИДЛАРИНИНГ МЕМБРАНАЛАРДАГИ ИОН  
ТАШИЛИШ ЖАРАЁНЛАРИГА ТАЪСИРИ**

**03.00.02 – Биофизика ва радиобиология**

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

**Тошкент - 2020**

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

Ўсимлик флавоноидларининг мембраналардаги ион ташилиш жараёнларига таъсири.....

3

**Рустамова Сарвиноз Исломовна**

Влияние растительных флавоноидов на процессы транспорта ионов в мембранах.....

21

**Rustamova Sarvinoz Islomovna**

Effect of plant flavonoids on ionic transport processes in membranes.....

39

**Эълон қилинган ишлар рўйхати**

Список опубликованных работ

List of published works.....

43

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ БИОФИЗИКА ВА  
БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР  
БЕРУВЧИ DSc.03/30.12.2019.В.01.13 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**  

---

**БИОФИЗИКА ВА БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ**

**РУСТАМОВА САРВИНОЗ ИСЛОМОВНА**

**ЎСИМЛИК ФЛАВОНОИДЛАРИНИНГ МЕМБРАНАЛАРДАГИ ИОН  
ТАШИЛИШ ЖАРАЁНЛАРИГА ТАЪСИРИ**

**03.00.02 – Биофизика ва радиобиология**

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

**Тошкент – 2020**

**Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2017.1.PhD/В6 рақам билан рўйхатга олинган.**

Диссертация иши Ўзбекистон Миллий университети ҳузуридаги Биофизика ва биокимё институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус ва инглиз (резюме)) Илмий кенгашнинг веб-саҳифасида ([www.ibb-nuu.uz](http://www.ibb-nuu.uz)) ва «ZiyoNet» Ахборот-таълим порталида ([www.ziynet.uz](http://www.ziynet.uz)) жойлаштирилган.

**Илмий раҳбар:**

**Сабиров Равшан Заирович**

биология фанлари доктори, академик

**Расмий оппонентлар:**

**Мирходжаев Улугбек Закирович**

биология фанлари доктори, профессор

**Тилиябаев Зонтжон**

биология фанлари доктори, профессор

**Етакчи ташкилот:**

Тошкент фармацевтика институти

Диссертация ҳимояси Ўзбекистон Миллий университети Биофизика ва биокимё институти ҳузуридаги илмий даражалар берувчи DSc.03/30.12.2019.B.01.13 рақамли Илмий кенгашнинг 2020 йил «\_\_» \_\_\_\_\_ соат \_\_\_\_\_ даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил: 100174, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси, 174-уй. Тел.: (99871) 246–68–96).

Диссертация билан Биофизика ва биокимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (№\_\_ рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 100174, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси, 174-уй. Тел.: (99871) 246-68-96, e-mail: [ibb-nuu@mail.ru](mailto:ibb-nuu@mail.ru); [asrarov54@mail.ru](mailto:asrarov54@mail.ru).

Диссертация автореферати 2020 йил «\_\_» \_\_\_\_\_ куни тарқатилди.  
(2020йил «\_\_» \_\_\_\_\_ даги №\_\_\_\_\_ рақамли реестр баённомаси).

**Саатов Галъат Саатович**

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш  
раиси ўринбосари, б.ф.д., академик

**Асраров Музаффар Исламович**

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш  
илмий котиби, б.ф.д., профессор

**Ахмеджанов Искандар Гулямович**

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

## КИРИШ (Фалсафа доктори диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Ҳозирги кунда дунё миқёсида ион каналлари функцияси бузилиши натижасида келиб чиқувчи касалликлар сони ортиб бормоқда. Тирик ҳужайраларнинг муҳим хусусиятларидан бири турли механик ёки кимёвий таъсирлар ҳамда патофизиологик ҳолатларда (яллиғланиш, ишемия, инфаркт ва инсульт) юзага келадиган осмотик босим ўзгаришлардан қатъий назар ўз ҳажмини сақлаб туришидир. Стационар ҳажми сақлашда ион каналлари ва мембрана транспортерлари муҳим аҳамиятга эга. Ҳажм бошқарилишида иштирок этувчи ион каналлари ва мембрана транспортерларининг селектив блокаторларини кашф қилиниши ушбу жараённинг молекуляр асосларини аниқлашда муҳим илмий ва амалий аҳамият касб этади.

Дунёнинг етакчи илмий тадқиқот марказларида ўсимлик флавоноидларининг турли хил биологик ва фармакологик хусусиятлари устида жадал илмий изланишлар олиб борилмоқда. Тадқиқотлар натижасида флавоноидларнинг вирусларга қарши, антиоксидант, антиаритмик, иммуномодуляцияловчи, яллиғланишга қарши, ракка қарши, юрак-қон томирларини ҳимояловчи хусусиятлари аниқланган. Ҳозирги кундаги тадқиқотлар флавоноидларнинг ҳужайралар ҳажм бошқарилиш тизимида иштирок этувчи ион каналларига, айниқса анион каналларига таъсир механизмларини, мембранатроп фаоллигини кўрсатиб беришни тақозо этади.

Мамлакатимизда ҳам бугунги кунда ион каналларининг янги самарали ва кам токсик модуляторларини топиш ва уларнинг таъсир механизмларини тадқиқ этиш бўйича фундаментал ва инновацион изланишлар олиб борилган. Мазкур йўналишда муайян натижаларга эришилди, жумладан, оқсиллар ҳосил қиладиган нано-поралар таърифланган, ҳужайра ташқи муҳитидаги АТФ ва глутатионнинг роли ва лимфоид ҳужайралардан чиқиш йўллари аниқланган, гипоосмотик стресс шароитида лимфоцит ва бошқа турдаги ҳужайралар ҳажм бошқарилиш системасининг ион механизмлари ёритилган. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида «...илмий-тадқиқот ва инновация фаолиятини рағбатлантириш, илмий ва инновация ютуқларини амалиётга жорий этишнинг самарали механизмларини яратиш»<sup>1</sup> таъкидланган. Ушбу вазифалардан келиб чиққан ҳолда маҳаллий ўсимликлардан ажратилган биологик фаол бирикмаларнинг ҳужайра ҳажми бошқарилиши тизимига таъсир механизмларини аниқлаш ва улар асосида фармакологик препаратларни яратиш муҳим аҳамият касб этади.

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

<sup>1</sup> Ўзбекистон Республикаси Президентининг «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги ПФ-4947-сонли фармони

чора-тадбирлар тўғрисида» ги Қарори ва 2019 йил 6 майдаги ПҚ-4310-сон «Тиббиёт ва фармацевтика таълими ва илм-фани тизимини янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида» ги Қарори 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 устувор йўналишларига мослиги.** Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.** Ҳозирги кунда бир қатор хужайра типлари плазматик мембранасидаги ион-транспорт тизимларининг нормал ва патофизиологик ҳолатлардаги, ўзгаришлари устида тадқиқотлар дунёнинг йирик илмий-тадқиқот марказлари етакчи олимлари томонидан олиб борилмоқда (Delpire and Gagnon, 2018; Okada et al. 2019). Ўсимлик флавоноидларининг турли биологик жараёнларга ва мембраналардаги ион каналларига таъсири бўйича ҳам бир қатор илмий-амалий тадқиқотлар олиб борилган. Жумладан табиий ва синтетик флавоноидлардан айримлари ҳажмга боғлиқ анион каналларини ингибирлаши аниқланган (Xue et al, 2016). Бир қатор флавоноид бирикмалар орасидан ТМЕМ16А оксиди ҳосил қилувчи кальций фаоллаштирадиган хлор каналлари (CaCC), потенциалга боғлиқ калий ва кальций ( $K_v1.1$ ,  $K_v1.3$ ,  $Ca_v3.2$ ) каналлари ҳамда TRPC5 ҳосил қилувчи селектив бўлмаган катион каналларининг янги ингибиторлари топилган (Zhang et al., 2017; Teisseyre et al., 2019; Ranzato E. et al, 2014; Naylor et al., 2016).

МДХ давлатларида ҳам нормал ва турли патофизиологик шароитларда хужайра ҳажм бошқарилиш системасида иштирок этувчи ион каналлари ва транспортерларининг биофизик ва фармакологик хусусиятлари устида бир қатор илмий изланишлар олиб борилмоқда. Профессорлар С.Н. Орлов, Г.В. Максимовлар ҳамда уларнинг шогирдлари томонидан олиб борилган тадқиқотларда турли хужайраларда котранспортёрлар ва ион каналларининг апоптоз ва некроз жараёнидаги бажарадиган вазифаси аниқланган.

Республикада ион каналларининг биофизик ва фармакологик тадқиқотлари академиклар Б.А. Ташмухамедов ва Р.З. Сабилов, профессорлар У.З. Мирходжаев, П.Б. Усманов, М.И. Асраровлар раҳбарлиги остида амалга оширилмоқда. Ўсимликлардан ажратиб олинган турли биологик фаол моддаларнинг юрак ва силлиқ мускуллар хужайраларида кальций ташилиш механизмига, митохондриядаги мегапоралар ва калий каналлари функциясига, хужайра ҳажми бошқарилиш системасига таъсир механизми борасида илмий изланишлар олиб борилмоқда.

**Диссертация тадқиқотининг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги.** Диссертация тадқиқоти ЎзМУ ҳузуридаги Биофизика ва биокимё институтининг илмий-тадқиқот ишлари режасининг ФА-А11-Т060

«Перспектив иммуномодулятор ва саратонга қарши препаратлар сифатида хужайра ҳажм бошқарилиши ва ҳажмга боғлиқ анион каналларининг янги модуляторларини излаш» (2015-2017), ПЗ-2017-0920-49 «Маҳаллий хом-ашё асосида хужайра ҳажм бошқарилиши ва ҳажмга боғлиқ мембрана транспорти модуляторлари бўлган янги перспектив субстанцияларни тадқиқи» (2018-2020) ҳамда ФА-Ф5-014 «Ҳажмга боғлиқ анион каналларининг биофизикавий фенотиби ва хужайра ҳажм бошқарилиш механизмидаги функцияларини ўрганиш» (2017-2020) мавзусидаги илмий лойиҳалар доирасида бажарилган.

**Тадқиқотнинг мақсади** ўсимлик флавоноидларининг тимоцит хужайралари ҳажм бошқарилишини ва қизил қон хужайраларининг осмотик ҳамда коллоид-осмотик стрессга чидамлилигига таъсирини аниқлашдан иборат.

**Тадқиқотнинг вазифалари:**

гипоосмотик стресс шароитида тимоцитлар ҳажм бошқарилишига 16 та флавоноид моддаларини таъсирини аниқлаш;

флавоноидлар структураси ва функциясининг ўзаро боғлиқлигидаги конуниятларни аниқлаш;

флавоноидларнинг ҳажм бошқарилиш тизимида таъсир механизмининг ноэлектрик ва электрофизиологик усуллар ёрдамида аниқлаш;

флавоноидларнинг одам эритроцитларига нормал ва осмотик стресс шароитида таъсирини тадқиқ қилиш;

флавоноидларнинг одам эритроцитларига коллоид-осмотик стресс шароитида таъсирини аниқлаш.

**Тадқиқотнинг объекти** сифатида зотсиз, 6-8 ҳафталик, ёш оқ каламушлардан ажратилган тимоцитлар, одам қизил қон хужайралари, ўсимлик флавоноидлари олинган.

**Тадқиқотнинг предмети** ўсимлик флавоноидларининг тимоцит хужайраларидаги ҳажм бошқарилиш жараёнлари ва одам эритроцитларининг осмотик ҳамда коллоид-осмотик стрессга нисбатан чидамлилигига таъсирини тадқиқ қилишдан иборат.

**Тадқиқотнинг усуллари.** Тажрибаларда замонавий биофизикавий, биокимиёвий ва электрофизиологик усуллардан фойдаланилди. Каламуш тимоцитлари ва одам қизил қон хужайралари стандарт методлар ёрдамида ажратилди. Тимоцитлар хужайра ҳажми суспензиянинг ёруғлик ўтказувчанлигини регистрацияси усули бўйича аниқланди. Гемолиз миқдори қизил қон хужайраларидан гемоглобиннинг чиқиши бўйича ўлчанди. Ҳажмга боғлиқ анион каналларининг биофизикавий параметрлари ион тоқларининг микролокал ўлчаш (пэтч-кламп) методи ёрдамида регистрация қилинди. Натижаларни математик ва статистик таҳлил қилиш учун Origin 5.0, 7.5 ва 8.6 (OriginLab, Northampton, MA, AQSH) компьютер дастурларидан фойдаланилди.

**Тадқиқотнинг илмий янгилиги** қуйидагилардан иборат:

гипоосмотик стресс шароитида тимоцитлар ҳажм бошқарилишига 16 та флавоноиднинг таъсири тавсифланган ва улар ичидан кучли ингибирловчи таъсирга эга гуруҳ (гиспидулин, пиноцембрин, леманин ва пуликарин) аниқланган;

флавоноидларнинг структурасида ҳажм бошқарилиш ингибитори сифатида фаолият учун зарур бўлган асосий детерминантлар аниқланган;

ноэлектрик ва тўғридан-тўғри электрофизиологик пэтч-кламп методи ёрдамида леманин ва пиноцембриннинг хужайра ҳажм бошқарилишига таъсир механизми айнан ҳажмга боғлиқ анион канали блокадаси туфайли амалга оширилиши исботланган;

флавоноидларнинг одам эритроцитларига ҳимояловчи таъсир кўрсатиши, одам эритроцитлари осмотик резистентлиги ва коллоид-осмотик лизисига нисбатан чидамлилигига ҳамда хужайра ҳажм бошқарилиш тизимига таъсири ўртасида узвий боғлиқлик мавжудлиги аниқланган.

**Тадқиқотнинг амалий натижалари** қуйидагилардан иборат:

флавоноид бирикмалар орасидан тимоцитлар ҳажм бошқарилиш системасини ингибирловчи янги моддалар аниқланган;

флавоноид бирикмалар орасидан одам қизил қон хужайраларини осмотик стресс ва коллоид-осмотик лизис шароитларида ҳимояловчи янги моддалар аниқланган;

флавоноид бирикмаларнинг тимоцитлар ҳажм бошқарилиш системасига таъсири механизмлари, шунингдек уларнинг структурага боғлиқлиги аниқланган.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги** тадқиқотларда замонавий биофизик-биокимёвий, электрофизиологик тадқиқот усуллари қўллаш орқали олинганлиги, натижалар таҳлили замонавий компьютер дастури ёрдамида таҳлил қилинганлиги билан тасдиқланади. Олинган натижаларнинг исботи уларнинг республика ва халқаро анжуманлардаги муҳокамаси, натижалар рецензияланган илмий нашрларда чоп этилиши билан изоҳланади.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти шундан иборатки, флавоноидларнинг тимоцитлар ва эритроцитлар ҳажм бошқарилиш системасига ингибирловчи таъсири механизмларини ёритиш билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, иммун тизими хужайралари патологияси натижасида келиб чиқувчи ион каналларига боғлиқ касалликларни олдини олиш ва даволашда фаол флавоноид бирикмаларни эффектив иммуномодулятор туркумига мансуб янги авлод истиқболли дори воситалари сифатида қўллаш имконини берган.

**Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши.** Ўсимлик флавоноидларининг тимоцит хужайраларининг ҳажм бошқарилиш жараёнига таъсири бўйича олинган илмий натижалар асосида:

ўсимлик флавоноидларининг мембраналардаги ион-ташилиш жараёнларига таъсири бўйича олинган илмий натижалардан Ф-5-14 рақамли «Кўк-яшил сув ўтларидан фойдаланиб фармацевтика ва биотехнология



объектлари учун биологик фаол моддалар ажратиш» фундаментал лойихасида кўк-яшил сувўтларидан ажратиб олинган биологик фаол моддаларнинг гипоосмотик стресс шароитида тимоцитлар ҳажм бошқарилишига таъсирини аниқлашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Олий ва ўрта махсус таълим вазирлигининг 2019 йил 2 октябрдаги 89-03-3677-сон маълумотномаси). Натижада мазкур биологик фаол моддаларнинг тимоцитлар ҳажм бошқарилишига таъсирини аниқлашда ва уларнинг анион транспортига боғлиқлигини тавсифлаш имконини берган;

гипоосмотик стресс шароитида тимоцитлар ҳажм бошқарилишига ўсимлик флавоноидларининг таъсир механизми бўйича олинган илмий натижалардан ФА-А6-Т064 рақамли «Кавказ чаёни рекомбинант инсектотоксини ВисаIT олиш биотехнологиясини яратиш ва ҳайвон ва рақ хужайралари культураларида синовлар ўтказиш» мавзусидаги фундаментал лойихасида чаён захари, изофлавоноид ва оксилли экстракт сояфлан ва оксилли экстракт биокор препаратларининг гипоосмотик стресс шароитида каламуш тимоцит хужайралари ҳажм бошқарилиш системасига таъсирини аниқлашда ҳамда уларнинг анион транспортига таъсир механизминини аниқлашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2020 йил 27 февралдаги 4/1255-606-сон маълумотномаси). Натижада мазкур препаратларнинг тимоцит хужайралари ҳажм бошқарилиш системасига таъсирини аниқлашда ҳамда уларнинг анион транспортига таъсир механизминини тавсифлаш имконини берган.

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Мазкур тадқиқот натижалари 3 та халқаро ва 5 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокама қилинган.

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги.** Диссертация мавзуси бўйича жами 13 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий журналларда 5 та мақола, шундан 4 та республика ва 1 та хорижий журналларда нашр этилган.

**Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми.** Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, якуний қисм, хулосалар, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми (мундарижа, қисқартма сўзлар ва фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан ташқари) 98 бетни ташкил этган.

## ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

**Кириш** қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурати асосланган, Республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объекти ҳамда предметлари тавсифланган, муаммонинг ўрганилганлик даражаси, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг ишончлилиги, илмий-амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Хужайра ҳажм бошқарилиш системасининг ва флавоноидларнинг умумий характеристикаси**» деб номланган биринчи бобида тимуснинг хужайравий тузилиши ва унда Т-лимфоцитларнинг шаклланиши таҳлил қилинган, лимфоцитлардаги ион каналлари ва уларнинг функцияси, гипоосмотик стресс шароитида хужайра ҳажм камайишида иштирок этувчи ион каналлари ва уларнинг фармакологияси, флавоноид бирикмаларнинг классификацияси, уларнинг биологик аҳамияти, флавоноидларнинг ион каналарига таъсири тўғрисида маълумотлар келтирилган.

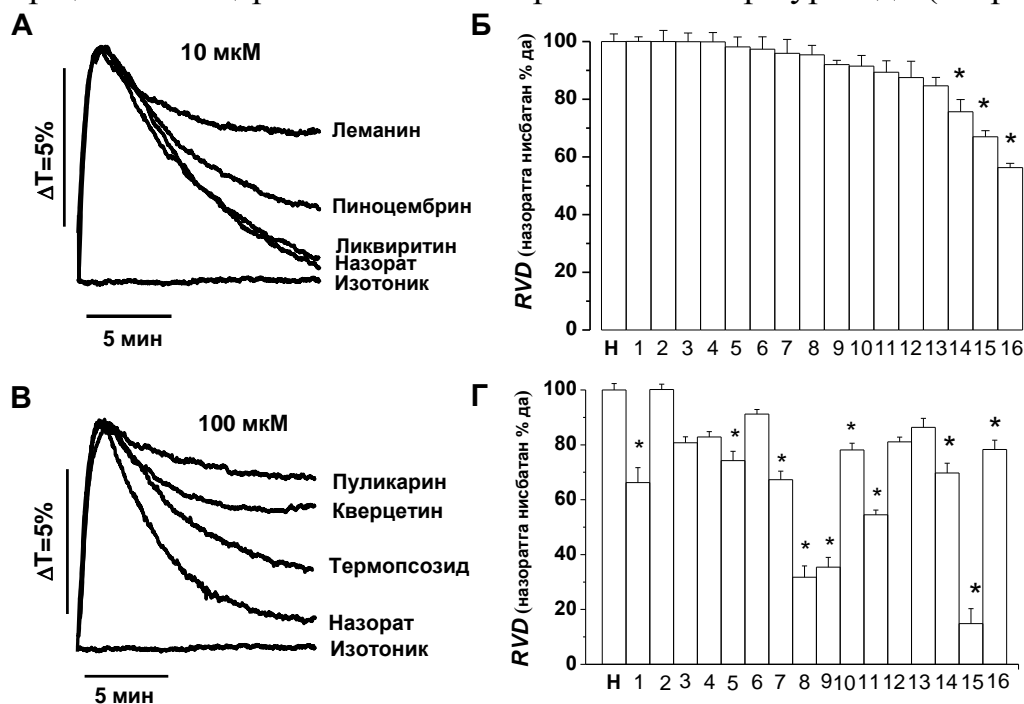
Диссертациянинг «**Тимоцит хужайралари ҳажм бошқарилиши ва кизил қон хужайраларининг осмотик ҳамда коллоид-осмотик стрессга чидамлилигини ўрганишда фойдаланилган усуллар ва материалларнинг асосий тавсифи**» деб номланган иккинчи бобида тадқиқотда фойдаланилган моддалар ва эритмалар тавсифи, хусусияти, тадқиқот олиб борилган тимоцит хужайраларини ёш оқ каламушлардан ва эритроцит хужайраларини кўнгилли соғлом одам қонидан ажратишнинг стандарт методлари, тадқиқотда фойдаланилган хужайра ҳажмини суспензиянинг ёруғлик ўтказувчанлигини регистрация қилиш усули, гемолиз, ион тоқларининг микролокал ўлчаш (пэтч-кламп) каби оптик ва электрофизиологик усуллар батафсил ёритилган, шунингдек олинган натижаларни математик қайта ишлаш усуллари ва статистик таҳлили келтирилган.

Диссертациянинг «**Ўсимлик флавоноидларининг каламуш тимоцитлари ҳажм бошқарилиш жараёнларига таъсири**» деб номланган учинчи бобида гипоосмотик стресс шароитида тимоцитлар ҳажм бошқарилиши системасига флавоноидларнинг ягона (10 ёки 100 мкМ) ва дозага боғлиқ таъсири, флавоноидлар структурасининг регулятор (бошқарилувчи) ҳажм камайиши (*RVD – Regulatory Volume Decrease*) параметри билан боғлиқлиги, флавоноидларнинг тимоцитлар ҳажм бошқарилишига ингибирловчи таъсирининг анион транспортига, хусусан ҳажмга боғлиқ анион каналлари (ХБАК) фаоллигига боғлиқлиги бўйича тадқиқот натижалари келтирилган.

Изотоник муҳитда (нормал Рингер эритмаси) тимоцитлар ҳажми 15 минут давомида ўзгармасдан сақланади (1-расм). Тимоцитлар гипотоник муҳитга тушганда дастлаб тезда шишиб (пассив жавоб), кейин изотоник ҳажмга яқин даражагача ҳажмини тиклайди (актив жавоб) (1-расм). Ушбу жараён бошқарилувчи ҳажм камайиши (*RVD*) дейилади. Назоратда гипоосмотик стресс шароитида 15 минут давомида инкубация қилинган тимоцитларда хужайра ҳажм камайиши 63 % дан 94% гача бўлиб, ўртача  $78,1 \pm 2,0\%$  га ( $n=28$ ) тенг бўлди (1-расм).

4 та синфга мансуб 16 та флавоноид бирикмалар 10 ёки 100 мкМ да гипотоник Рингер эритмасига кўшилганда, тимоцитлар ҳажм тикланиш даражасига турлича таъсир кўрсатди (1-расм). Ҳар бир модда алоҳида кунда текширилганлиги учун хужайра ҳажм камайишининг ўртача қиймати назорат қийматларига нормаллаштирди. 1Б-расмдан кўриниб турибдики, 10 мкМда

фақат изоглабрин, пуликарин ва леманин тимоцитлар ҳужайра ҳажм бошқарилишига сезиларли ингибирловчи таъсир кўрсатди (1Б-расм). 100 мкМ концентрацияда эса моддаларнинг кўпчилиги (16 дан 10 таси) тимоцитлар ҳажм бошқарилишига ингибирловчи таъсир кўрсатди (1Г-расм).



**1-расм. Гипоосмотик стресс (147 мОсм/кг Н<sub>2</sub>О) шароитида флавоноидларнинг 10 ва 100 мкМ концентрацияда каламуш тимоцитлари ҳажм бошқарилишига таъсири.** (А ва В) флавоноидлар таъсирида ҳужайра суспензияси ёруғлик ўтказувчанлиги ўзгаришининг оригинал ёзуви ва (Б ва Г) ҳужайра шишгандан кейин назоратда ва флавоноидлар иштирокидаги ҳажм тикланиши фоизи кўрсатилган. Бу ерда: Н-назорат, 1-кверцетин, 2- сиссотрин, 3- ликвиритин, 4-цинарозид, 5- ононин, 6- термопсозид, 7- лютеолин, 8- пиноцембрин, 9- гиспидулин, 10- формонетин, 11- хризозериол, 12- генистин, 13- апигенин, 14- изоглабрин, 15- пуликарин, 16- леманин. n-тажрибалар сони. Флавоноидлар учун n=3-8; назорат учун n=28. (\*) билан статистик аҳамиятли фарқ кўрсатилган. Барча ҳолатларда моддасиз назоратга нисбатан  $P < 0,05$ . n – тажрибалар сони.

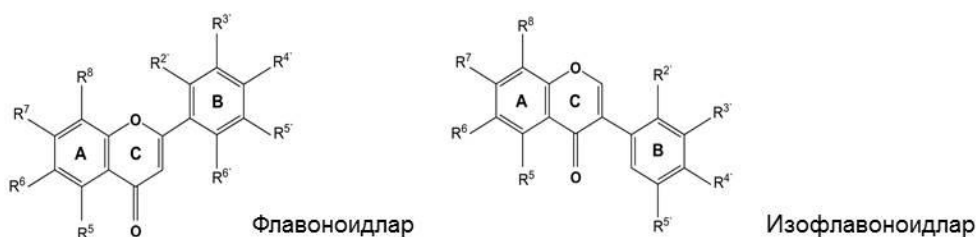
Олинган натижаларни таҳлил қилиш учун ўрганилган флавоноидларни 100 мкМ таъсир эффеќтига кўра 3 гуруҳга ажратилди: 1) кучли ингибирловчи эффеќтли (RVD 70% гача камайтиради); бу гуруҳга гиспидулин, пиноцембрин ва пуликарин киради; леманин 10 мкМ да энг кучли таъсир қилганлиги учун бу гуруҳга киритилди; 2) ўртача ингибирловчи эффеќтли (RVD 40-70% гача камайтиради); бу гуруҳга изоглабрин, лютеолин, кверцетин ва хризозериол мансуб; 3) сезиларли эффеќтга эга бўлмаган (RVD 0-40% дан кам камайтиради); бу гуруҳга сиссотрин, термопсозид, апигенин, цинарозид, генистин, ликвиритин, формонетин ва ононин киритилди. Ўрганилган флавоноидларнинг ингибирлаш фаоллиги уларнинг умумий тузилиш формуласи асосида таҳлил қилинди.

Ўрганилган флавоноидларнинг тузилиши ва уларнинг тимоцитлар ҳажм бошқарилишини ингибирлаш қобилияти ўртасидаги боғлиқликни таҳлил қилишда қуйидаги қонуниятларни аниқладик: (i) агликонлар гликозидларга

караганда юқори фаол моддалар; (ii) ўрганилган барча флавоноллар ва агликон флаванонлар кучли ҳамда ўртача самарали моддаларга мансуб; иккита флавонон: изоглабринин ва леманин солиштирилганда, изоглабрининда R6 да гидрофоб, аммо кичикроқ пренил гуруҳ ўрнига леманинда R8 да йирикроқ гидрофоб лавандулил гуруҳининг киритилганини кўриш мумкин; бу икки модданинг таъсири солиштирилганда леманин изоглабрининга нисбатан 10 марта юқори фаолликга эга; (iii) флавонолар ҳар уч гуруҳнинг бирига кириши мумкин; апигенин (1-гуруҳ), лютеолин (2-гуруҳ) ва гиспидулин (3-гуруҳ) ни таҳлил қилиш шуни кўрсатдики, паст фаолликка эга апигениндаги R3' ҳолатга ОН-гуруҳи киритилганда ўртача фаолликни намоён этди, апигенинда R6 ҳолатга ОСН<sub>3</sub>-гуруҳининг киритилиши паст фаол бирикмани юқори ингибитор молекулага айлантирди; эътибор қилинса, юқори фаолликка эга флавонол пуликарин R3, R5, R7 ва R4' ҳолатда тўртта ОСН<sub>3</sub>-гуруҳ тутади, бу эса метокси-гуруҳ жуда муҳим рол ўйнашини кўрсатади; (iv) барча ўрганилган изофлавонолар («В» фенил халқа 3' ҳолатда жойлашган) кам эффеқтли моддаларга мансуб бўлиб, бу шундан далолат берадики, флавоноидларнинг RVD ингибиторлари сифатида фаолияти учун «В» фенил халқанинг C2 ҳолатда жойлашиши муҳимдир.

1-жадвал.

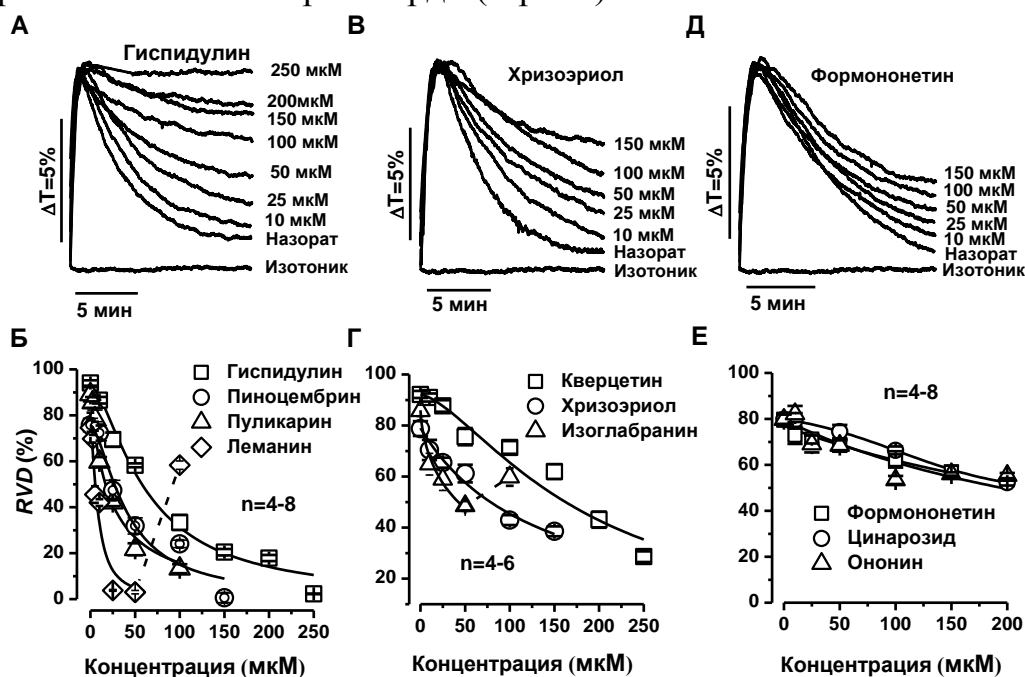
Ўрганилган флавоноидларнинг умумий тузилиш формуласи асосидаги структура формуласи



	R3	R5	R6	R7	R8	R2'	R3'	R4'	R5'	R6'	C <sub>2</sub> =C <sub>3</sub>	
<b>Флавонолар</b>												
Апигенин	H	ОН	H	ОН	H	H	H	ОН	H	H	+	<p>Гликозид (Glu)</p>
Лютеолин	H	ОН	H	ОН	H	H	ОН	ОН	H	H	+	
Гиспидулин	H	ОН	ОСН <sub>3</sub>	ОН	H	H	H	ОН	H	H	+	
Хризозеариол	H	ОН	H	ОН	H	H	ОСН <sub>3</sub>	ОН	H	H	+	
Термопсозид	H	ОН	H	ОGlu	H	H	ОСН <sub>3</sub>	ОН	H	H	+	
Цинарозид	H	ОН	H	ОGlu	H	H	ОН	ОН	H	H	+	
<b>Флавоноллар</b>												
Кверцетин	ОН	ОН	H	ОН	H	H	ОН	ОН	H	H	+	<p>Пренил (Pr)</p>
Пуликарин	ОСН <sub>3</sub>	ОСН <sub>3</sub>	ОН	ОСН <sub>3</sub>	H	H	ОН	ОСН <sub>3</sub>	H	H	+	
<b>Флаванонлар</b>												
Пиноцембрин	H	ОН	H	ОН	H	H	H	H	H	H	-	<p>Лавандулил (Lav)</p>
Изоглабринин	H	ОН	Pr	ОН	H	H	H	H	H	H	-	
Леманин	H	H	H	ОН	Lav	ОН	H	ОН	H	H	-	
Ликвиритин	H	H	H	ОН	H	H	H	ОGlu	H	H	-	
<b>Изофлавонолар</b>												
Формонетин	-	H	H	ОН	H	H	H	ОСН <sub>3</sub>	H	H	+	<p>Лавандулил (Lav)</p>
Сиссотрин	-	ОН	H	ОGlu	H	H	H	ОСН <sub>3</sub>	H	H	+	
Ононин	-	H	H	ОGlu	H	H	H	ОСН <sub>3</sub>	H	H	+	
Генистин	-	ОН	H	ОGlu	H	H	H	ОН	H	H	+	

Хулоса қилиб айтганда, гидрофоблик хусусиятини берувчи метоксил, пренил ва лавандулил гуруҳларининг бўлиши, шунингдек гликозил гуруҳнинг бўлмаслиги, С2 ҳолатдаги «В» фенил халқанинг локализацияси билан бирга флавоноидларнинг RVD ингибиторлари сифатидаги фаолияти учун муҳимдир.

3 та гуруҳга мансуб жами 10 та флавоноид бирикманинг (1-гуруҳдаги барча флавоноидлар; 2-гуруҳдан 3 та: кверцетин, хризозеиол, изоглабринин; 3-гуруҳдан 3 та: формонетин, цинарозид, ононин) тимоцитлар ҳужайра ҳажм бошқарилишига дозага боғлиқ таъсири текширилганда ўрганилган моддалар концентрацияга боғлиқ ҳолда каламуш тимоцитлари ҳажм бошқарилишини камайтириб борди (2-расм).



**2-расм. Гипоосмотик стресс шароитида тимоцитлар ҳажм бошқарилиш системасига флавоноидларнинг дозага боғлиқ таъсири.** Ҳар бир гуруҳга мансуб бўлган индивидуал флавоноидлар (гиспидулин, хризозеиол ва формонетин) нинг ёруғлик ўтказувчанлигига таъсирининг оригинал ёзуви (А) ва ҳар бир флавоноиднинг дозага боғлиқ таъсирининг натижаси (Б) кўрсатилган. Эгрисимон чизиқлар экспериментал нуқталарни Хилл тенгламасига аппроксимация қилиш натижаси бўлиб, тегишли ярим-максимал концентрациялар ва Хилл коэффициентлари 2-жадвалда келтирилган. n-тажрибалар сони.

Биринчи гуруҳ флавоноидларининг ярим-максимал эффектив концентрацияси 65 мкМ дан паст бўлди, леманин энг кучли ингибитор ( $C_{50} = 8,8$  мкМ) деб топилди. 2-гуруҳда ярим-максимал эффектив концентрация 88 мкМ дан 177 мкМ гача бўлди. 3-гуруҳ флавоноидларида эса ярим-максимал эффектив концентрация 300 мкМ дан юқори бўлди (2-жадвал).

Адабиётларда тимоцит ҳужайраларининг ҳажм бошқарилиши механизмида  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$  ва  $Cl^-$  каналларининг ҳамда  $K/Cl$  котранспортининг роли кўрсатилган. Флавоноидларнинг ингибирлаш эффекти ушбу таркибий қисмлардан бирининг функциясига таъсири орқали амалга ошиши мумкин.

Тажрибаларимизда гипотоник эритма таркибидаги барча бир валентли катионлар йирик органик катион – N-метил-D-глюкамин (НМДГ<sup>+</sup>) га алмаштирилди ва тимоцитлар мембранасининг катион ўтказувчанлиги грамицидин Д (ГрД) ёрдамида оширилди. Тимоцитлар ГрД ва НМДГли гипотоник Рингер эритмасига (кейинги ўринларда НМДГ-ГрД деб аталади) жойлаштирилганда, дастлаб шишиб, натрийли гипотоник Рингерга нисбатан ўз ҳажмларини янада самаралироқ тиклади ва *RVD* параметри  $111,3 \pm 5,2\%$  ( $n=6$ ) ни ташкил этди (3-расм). НМДГ-ГрДли шароитда хужайра плазматик мембранасидаги ҳажм бошқарилиши асосан анион транспорти фаоллигига боғлиқ бўлади. Ушбу экспериментал шароитга тимоцитлар ҳажм бошқарилиш системасини кучли ингибирловчи биринчи гуруҳ флавоноидлари дозага боғлиқ таъсир эттирилганда, леманин ва пиноцембрин *RVD* жараёнини кучли ингибирлади (3А, Б ва 3В, Г-расмлар).

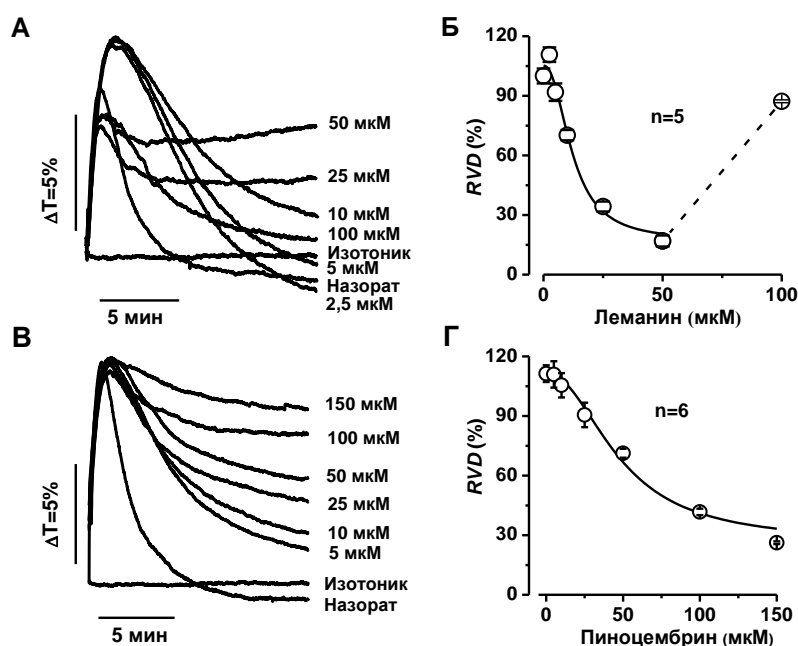
2-жадвал.

**Гипоосмотик стресс шароитида тимоцитлар хужайра ҳажм бошқарилиш системасига флавоноидларнинг дозага боғлиқ таъсирининг ярим-максимал эффекти ( $C_{50}$ ) ва Хилл коэффицентлари ( $h$ ).**

№	Флавоноидлар	$C_{50}$ (мкМ)	$H$
1	Леманин	$8,8 \pm 2,1$	$1,7 \pm 0,6$
2	Пуликарин	$20,4 \pm 1,9$	$1,2 \pm 0,1$
3	Пиноцембрин	$39,1 \pm 7,8$	$1,5 \pm 0,4$
4	Гиспидулин	$64,8 \pm 7,9$	$1,5 \pm 0,2$
5	<i>Изоглабринин</i>	$87,5 \pm 24,2$	$0,6 \pm 0,1$
6	<i>Хризоеариол</i>	$143,0 \pm 19,0$	$1,0 \pm 0,2$
7	<i>Кверцетин</i>	$177,0 \pm 14,0$	$2,0 \pm 0,4$
8	Цинарозид	$314,0 \pm 5,0$	$1, \pm 0,03$
9	Ононин	$439,0 \pm 214,0$	$0,7 \pm 0,3$
10	Формононетин	$679,0 \pm 203,0$	$0,7 \pm 0,1$

Леманин НМДГ-ГрДли муҳитда ҳам гипоосмотик Рингерли шароитидагидек икки фазали таъсир кўрсатди ва биринчи фаза учун олинган натижалар Хилл тенгламасида аппроксимация қилинганда ярим максимал эффекти  $11,4 \pm 0,5$  мкМ ва Хилл коэффицентини  $2,1 \pm 0,2$  ( $n=6$ ) га тенг бўлди. Ушбу натижалар нормал Рингер муҳитида олинган натижаларга яқин (2-жадвал). Демак, леманиннинг тимоцитлар ҳажм бошқарилишига таъсири асосан плазмалеммал мембранадаги анион ўтказувчанлигига боғлиқ, деб хулоса қилишимиз мумкин. Ўрганилган шароитда пиноцембрин таъсирида *RVD* параметри концентрация ортиб бориши билан камайиб борди ва хужайра ҳажм бошқарилиш системасини кучли ингибирлади; ярим максимал концентрацияси  $C_{50}=52,4 \pm 1,6$  мкМ ва Хилл коэффицентини  $h=3,3 \pm 0,2$  га тенг бўлди (3Г-расм). НМДГ-ГрД ли гипоосмотик шароитда гиспидулин ( $C_{50}=94,4 \pm 4,5$  мкМ;  $h=2,1 \pm 0,3$ ) ва пуликарин ( $C_{50}=20,2 \pm 1,4$  мкМ;  $h=1,4 \pm 0,2$ )

нинг тимоцитлар ҳажм бошқарилиш системасини қисман ингибирлади, яъни уларнинг ушбу жараёнга ингибирловчи таъсири мураккаброқ ва бу жараёнда анион транспортидан бошқа бир ёки бир неча транспорт тизимлари ҳам иштирок этиши мумкин.

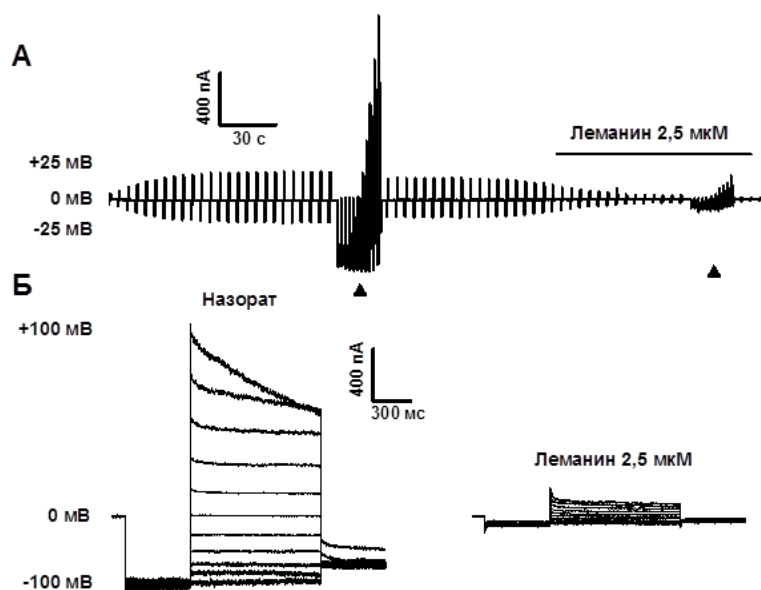


**3-расм.** НМДГ-ГрД ли шароитда тимоцитлар ҳажм бошқарилиш системасининг анион транспортига леманин ва пиноцембриннинг таъсири. (А ва В) модда таъсирида ҳужайра суспензияси ёруғлик ўтказувчанлиги ўзгаришининг оригинал ёзуви ва (Б ва Г) дозага боғлиқ таъсири натижасининг Хилл тенгламасида аппроксимацияси. Хилл коэффициенти матнда келтирилган.

Маълумки, гипоосмотик стресс шароитида ХБАК типидagi Cl-каналларини фаоллашади. Тажрибаларимизнинг бу қисмида пэтч-кламп усулининг whole-cell конфигурациясидан фойдаланиб, леманин ва пиноцембриннинг ХБАК фаоллигига таъсирини ўргандик. (тажрибалар Н.А. Циферова билан ҳамкорликда бажарилган). Пипеткадаги эритма ва ячейкадаги нормал Рингер эритмаси орасидаги осмотик босим фарқи (30 мОсм/кг H<sub>2</sub>O) натижасида ҳужайра ҳажми вақт ўтиши билан ошиб борди. Плазмалемманинг ион ўтказувчанлиги ҳужайра ҳажмининг ошиши билан мос равишда ўсиб борди. Ўлчанган ток ташқи йўналганликни кўрсатди.

Рингер эритмаси 2,5 мкМ концентрацияли леманин билан алмаштирилганда плазмалемма орқали ўтаётган ток босқичма-босқич камайиб борганлигини кўриш мумкин. Кирувчи ва чиқувчи ток тахминан бир хил даражада ингибирланди. Бундан кўринадики, леманиннинг анион каналларига таъсири тўғридан-тўғри пэтч-кламп методи ёрдамида яққол намоён бўлди. Шунга ўхшаш натижа пиноцембрин таъсирида ҳам кузатилди. Ячейкадаги Рингер эритмаси пиноцембриннинг 100 мкМ эритмаси билан алмаштирилганда макроскопик токнинг камайиб боришини кузатдик. Ион токининг ҳам манфий, ҳам мусбат потенциалларда камайганлиги эффектнинг потенциалга боғлиқ эмаслигини кўрсатади. Олинган натижалар асосида

леманин ва пиноцембриннинг таъсири анион каналларининг ингибирланиши билан боғлиқлиги тўлиқ тасдиқланди.



**4-расм.** Гипоосмотик стресс шароитида 2,5 мкМ концентрацияда леманиннинг каламуш тимоцитлари ҳажмга боғлиқ хлор токига таъсири. А) 0 мВ дан  $\pm 25$  мВ гача тест импульслари берилганда whole-cell конфигурациясида макроскопик токнинг ўзгариши кўрсатилган. Б) 0 мВ дан  $\pm 100$  мВ гача ҳар 20 мВ ораликдаги тест импульслари учбурчак билан ифодаланган.

Диссертациянинг «Ўсимлик флавоноидларининг одам эритроцитларига осмотик ва коллоид-осмотик стресс жараёнларига таъсири» деб номланган тўртинчи бобида изоосмотик, гипоосмотик стресс ва коллоид-осмотик лизис шароитларида одам эритроцитларидан гемоглобин чиқишига ўсимлик флавоноидларининг таъсири тадқиқ қилинган.

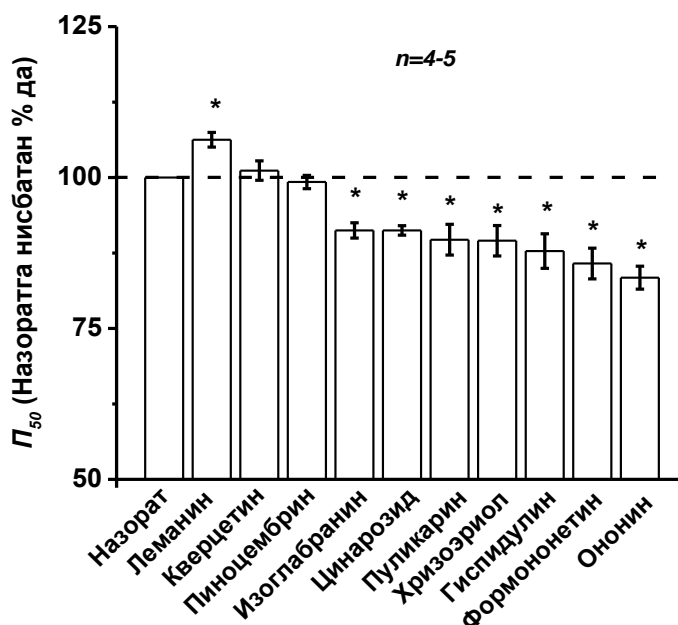
Флавоноидларнинг мембранатроп фаоллигини аниқлаш мақсадида 4 синфга мансуб 16 та бирикманинг 1 мкМ дан 500 мкМ гача концентрацияда *in vitro* усулида изоосмотик шароитда одам қизил қон хужайраларидан гемоглобин чиқишига таъсири таҳлил қилинди. Бунда фақат генистин эритроцитлар плазматик мембранасини барқарорлаштириб, хужайралар спонтан лизисга чидамли бўлди. Бошқа барча флавоноидлар маълум даражада спонтан гемолизни кучайтирди. Моддаларнинг изоосмотик шароитда базал гемолизни кучайтирувчи эффекти уларнинг эритроцит ҳажм бошқарилиш системасини ингибирлаши билан боғлиқ бўлиши мумкин. Гемолиз даражаси флавоноидлар микдори статистик жиҳатдан сезиларли даражада оширилган бўлса-да, максимал лизис 5% дан юқори бўлмаслиги ушбу моддаларнинг цитолитик модда эмаслигини кўрсатади.

Таҷрибаларда хужайра ташқарисидаги осмотик босим пасайиши билан хужайраларда гемолиз даражаси аста секин ортиб бориши кузатилди. Инкубацион муҳитга флавоноидлар қўшилганда, эритроцитларнинг осмотик



резистентлигининг сезиларли силжиши кузатилди. Барча эгри чизиқлар Больцман тенгламаси ёрдамида яхши ифодаланди ва эритроцитларнинг 50% гемолизга олиб келувчи осмотик босими ( $P_{50}$ ) аниқланди. Бунда флавоноидлар тимоцитлар ҳажм бошқарилишини самарали пасайтирувчи концентрацияларда қўлланилган.

Тажрибалар ҳар бир гуруҳ флавоноидлар учун алоҳида кунда бажарилганлиги учун 50% гемолизга олиб келувчи осмотик босими ( $P_{50}$ ) қийматлари ҳар бир гуруҳнинг ўз назорат қийматларига нормаллаштирилди ва назоратга нисбатан фоиз ҳисобида 5-расмда кўрсатилди. Расмдан кўриниб турибдики, фақат леманин эритроцитларнинг осмотик чидамлилигини пасайтирди, буни унинг тимоцитлар ҳажм бошқарилишини ва ХБАК фаоллигини ингибирловчи таъсири билан тушунтириш мумкин.  $P_{50}$  ўзгаришига пиноцембрин, кверцетиннинг таъсири сезиларли бўлмади, лекин қолган флавоноидлар таъсирида эритроцитларнинг осмотик босимга чидамлилиги статистик жиҳатдан сезиларли даражада ортган (яъни  $P_{50}$  пасайган). Флавоноидларнинг эритроцит хужайраларини осмотик босимга чидамлилигини ошириши уларнинг плазматик мембранасида стабиллаштирувчи таъсири билан боғлиқ бўлиши мумкин.

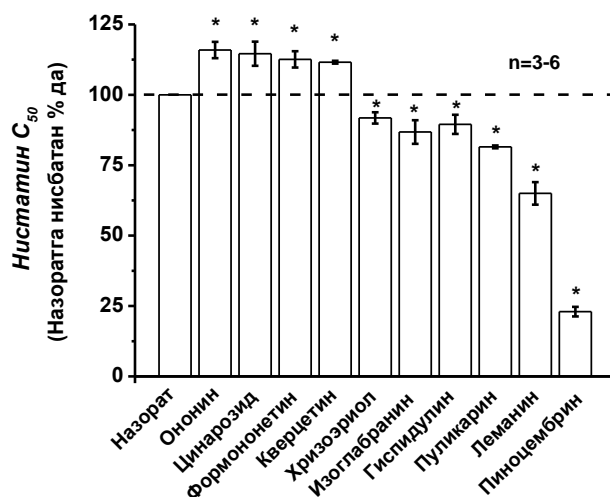


**5-расм. Одам эритроцитларида 50% гемолизга олиб келувчи осмотик босимга флавоноидларининг таъсири.** Статистик аҳамиятли фарқ (\*) белгиси билан кўрсатилган. Барча ҳолатларда назоратга нисбатан  $P < 0,05$ .  $n$  – тажрибалар сони.

Кейинги тажрибаларимизда қон хужайраларининг полиен антибиотиғи нистатин моддаси таъсиридаги коллоид-осмотик лизисга чидамлилигига флавоноидларнинг таъсири ўрганилди. Шу мақсадда биз ушбу полиеннинг турли концентрацияларда гемолиз даражасини аниқлаб, доза-жавоб эгри чизиғини чиздик ва Хилл тенгламасида аппроксимация қилиб, 50% ли гемолиз чақирувчи нистатиннинг эффектив концентрациясини аниқладик. Инкубацион муҳитга флавоноидлар қўшилганда ҳам олинган натижалар

Хилл тенгламаси асосида аппроксимация қилинди, лекин уларнинг эффектив концентрацияси ( $C_{50}$ ) назоратдан фарқ қилди.

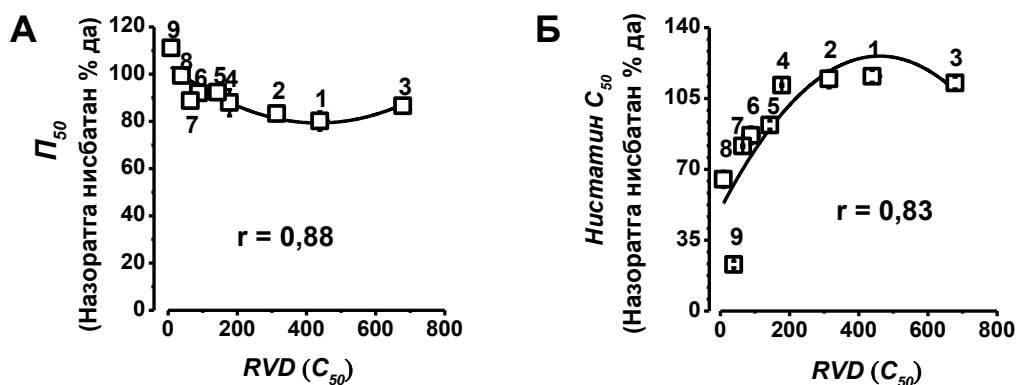
Тажрибалар ҳар бир гуруҳ моддалар учун алоҳида кунда бажарилганлиги учун флавоноидларнинг 50% гемоллиз чақирувчи эффектив концентрацияси ( $C_{50}$ ) ўртача қийматлари ҳар бир гуруҳнинг ўз назорат қийматларига нормаллаштирилди ва 6-расмда кўрсатилди. Бу ерда эритроцитларнинг нистатинли коллоид-осмотик лизисга нисбатан чидамлилиги пиноцембрин, леманин, пуликарин, гиспидулин, изоглабринин ва хризозеиол таъсирида пасайган, чунки 50% ли гемолизга олиб келиш учун нистатиннинг нисбатан камроқ миқдори сарфланган. Бу моддаларнинг таъсири уларнинг хужайра ҳажм бошқариш системасини блоклашига ва ХБАК фаоллигига боғлиқ бўлиши мумкин. Кверцетин, ононин, формонетин ва цинарозид одам қизил қон хужайраларига ҳимояловчи таъсир кўрсатди, хужайралар стабиллиги ортиши кузатилди. Бу натижалар уларнинг мембрана механик стабиллигини (масалан, антиоксидантлиги сабабли) ошириши билан боғлиқ бўлиши мумкин.



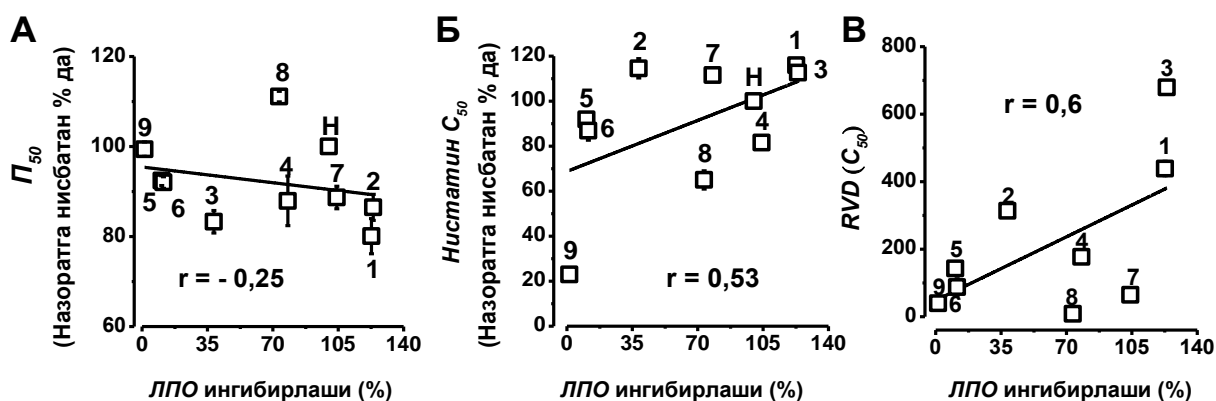
**6-расм. Одам эритроцитларида 50% гемолизга олиб келувчи нистатин концентрациясига ( $C_{50}$ ) муҳитдаги флавоноид моддаларининг таъсири.** Статистик аҳамиятли фарқ (\*) белгиси билан кўрсатилган. Барча ҳолатларда назоратга нисбатан  $P < 0,05$ . n – тажрибалар сони.

Флавоноидларнинг эритроцитларга ва тимус хужайраларига таъсири солиштирилганда ҳам осмотик резистентлик ҳам, коллоид-осмотик лизисга нисбатан чидамлилиқ ҳам хужайра ҳажм бошқарилиши билан кучли боғлиқ, деб топилди (7-расм), лекин бу боғлиқлик ночизиқли бўлиб, Спирмен корреляция коэффиценти 0,88 ( $P_{50}$ ) ва 0,93 (Нистатин  $C_{50}$ ) га тенг бўлди. Эксперимантал нуқталар иккинчи даражали полином билан аппроксимацияланганда корреляция коэффиценти 0,88 ( $P_{50}$ ) ва 0,83 (Нистатин  $C_{50}$ ) ни ташкил этди. Бу натижа флавоноидларнинг эритроцитлар чидамлилигига таъсири асосида уларнинг хужайра ҳажм бошқарилиш системасига таъсири ётишидан далолат беради. Маълумки, реактив кислород тимоцитлар ҳажм бошқарилиш системасининг муҳим компонентларидан

бўлган ҳажмга боғлиқ анион каналларини фаолантириш қобилиятига эга (Okada Y. et al, 2009). Флавоноидларнинг бир қатор биологик фаол хусусиятлари уларнинг антиоксидант хусусиятига боғлиқ эканлигини ҳисобга олиб, ўрганилган айрим флавоноидларнинг антиоксидант фаоллиги натижаларини (Хушбақтова и др., 1996) ушбу флавоноидлар каламуш тимоцитлари ҳажм бошқарилиш системасига ҳамда эритроцитларнинг осмотик ва коллоид-осмотик лизисига таъсири билан солиштирилганда улар ўртасидаги маълум корреляция мавжудлиги аниқланди (8-расм).



**7-расм.** Флавоноидларнинг осмотик ( $P_{50}$ ) ва коллоид-осмотик ( $C_{50}$ ) лизисга нисбатан чидамлилигининг ҳужайра ҳажм бошқарилиш системаси билан боғлиқлиги графиги. Абцисса ўқида – гипоосмотик стресс шароитида тимоцитлар ҳужайра ҳажм бошқарилиш системасига флавоноидларнинг дозага боғлиқ таъсирининг ярим-максимал концентрацияси ( $RVD C_{50}$ ); Ордината ўқида – флавоноидларнинг қизил қон ҳужайралари 50% ли гемолизига олиб келувчи осмотик босим ( $P_{50}$ ) ва нистатиннинг эффектив концентрацияси ( $C_{50}$ ) кўрсатилган. Бу ерда: 1-Ононин; 2-Цинарозид; 3-Формононетин; 4-Кверцетин; 5-Хризозеириол; 6-Изоглабранин; 7-Гиспидулин; 8-Леманин; 9-Пиноцембрин.



**8-расм.** Флавоноидлар антиоксидант фаоллигининг осмотик ( $P_{50}$ ), коллоид-осмотик ( $C_{50}$ ) лизис ҳамда ҳужайра ҳажм бошқарилиш системаси билан боғлиқлиги графиги. Абцисса ўқида – липидларнинг перикисли оксидланиши ингибирланиши кўрсатилган. Ордината ўқида – (А) ф қизил қон ҳужайралари 50% ли гемолизига олиб келувчи осмотик босим ( $P_{50}$ ); (Б) нистатиннинг эффектив концентрацияси ( $C_{50}$ ); (В) тимоцитлар ҳужайра ҳажм бошқарилиш системасига флавоноидларнинг дозага боғлиқ таъсирининг ярим-максимал концентрацияси ( $RVD C_{50}$ ) кўрсатилган. Бу ерда: Н-Назорат; 1-Ононин; 2-Цинарозид; 3-Формононетин; 4-Кверцетин; 5-Хризозеириол; 6-Изоглабранин; 7-Гиспидулин; 8-Леманин; 9-Пиноцембрин.

## ХУЛОСАЛАР

1. Биринчи бор гипоосмотик стресс шароитида тимоцитлар ҳажм бошқарилишига 16 та флавоноиднинг таъсири аниқланди. Ингибирловчи таъсирига кўра моддалар 3 гуруҳга бўлиниб, энг кучли таъсирга эга (ярим-максимал эффе́ктив концентрацияси  $C_{50} < 65$  мкМ бўлган) 1-гуруҳни гиспидулин, пиноцембрин, леманин ва пуликарин ташкил қилди, леманин эса энг кучли ингибитор ( $C_{50} = 8,8$  мкМ) деб топилди.

2. Флавоноидлар структураси ва ҳажм бошқарилиш ингибитори сифатидаги функциясининг ўзаро боғлиқлиги молекуланинг агликон ҳолатда бўлиши, гидрофоб хусусиятга эга метоксил, пренил ёки лавандулил гуруҳларининг мавжудлиги, шунингдек «В» фенил халқанинг С2 ҳолатда жойлашуви билан изоҳланади.

3. «НМДГ-ГрД» шароитида тимоцитлар ҳажм бошқарилиши фақат анион транспорти фаоллигига боғлиқлиги аниқланди; леманин ва пиноцембрин бу жараёни тўлиқ, гиспидулин ва пуликарин эса қисман блоклаши кузатилди. Леманин ва пиноцембриннинг ҳажмга боғлиқ анион каналига блокловчи таъсири тўғридан-тўғри пэтч-кламп методи ёрдамида регистрация қилинди, демак уларнинг хужайра ҳажм бошқарилишни блоклаш механизми айнан ҳажмга боғлиқ анион канали блокадаси туфайли юзага келади.

4. Биринчи бор флавоноидларнинг одам эритроцитлари осмотик резистентлиги ва коллоид-осмотик лизисга нисбатан чидамлилигига ва хужайра ҳажм бошқарилиш тизимига таъсири ўртасида узвий боғлиқлик мавжудлиги аниқланди. Бу фаоллик қисман антиоксидантлик хусусиятга боғлиқ деб топилди.

5. Биринчи бор флавоноидларнинг эритроцитлар осмотик резистентлигига (ононин > формонетин > гиспидулин > хризозе́риол > пуликарин > цинарозид > изоглабринин) ва коллоид-осмотик лизисга чидамлилигига (ононин > цинарозид > формонетин > кверцетин) ҳимояловчи таъсири аниқланди. Бундай ҳимояловчи эффе́кт флавоноидларнинг мембрана механик стабиллигини ошириши билан изоҳланади.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.03/30.12.2019.В.01.13 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ  
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ БИОФИЗИКИ И  
БИОХИМИИ ПРИ НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ  
УЗБЕКИСТАНА**

---

**ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И БИОХИМИИ**

**РУСТАМОВА САРВИНОЗ ИСЛОМОВНА**

**ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ФЛАВОНОИДОВ НА ПРОЦЕССЫ  
ТРАНСПОРТА ИОНОВ В МЕМБРАНАХ**

**03.00.02 – Биофизика и радиобиология**

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

**Ташкент – 2020**

**Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан под номером В2017.1.PhD/В6.**

Диссертационная работа выполнена в Институте биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском и английском (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета ([www.ibb-nuu.uz](http://www.ibb-nuu.uz)) и информационно-образовательном портале «ZiyoNet» ([www.ziynet.uz](http://www.ziynet.uz)).

**Научный руководитель:**

**Сабиров Равшан Заирович**  
доктор биологических наук, академик

**Официальные оппоненты:**

**Мирходжаев Улугбек Закирович**  
доктор биологических наук, профессор

**Тилябаев Зойтжон**  
доктор биологических наук, профессор

**Ведущая организация:**

Ташкентский фармацевтический институт

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании Научного Совета DSc.03/30.12.2019.B.01.13 по присуждению ученых степеней при Институте биофизики и биохимии Национального университета Узбекистана. (Адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, ул. Университетская, 174. Тел. 246-68-96.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института Биофизики и биохимии Национального университета Узбекистана (зарегистрированной за №\_\_\_). Адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, ул. Университетская, 174. Тел: (99871) 246-68-96. e-mail: [ibb-nuu@mail.ru](mailto:ibb-nuu@mail.ru); [asrarov54@mail.ru](mailto:asrarov54@mail.ru)

Автореферат диссертации разослан: «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 года.  
(реестр протокола рассылки № «\_\_\_» от \_\_\_\_\_ 2020 года).

**Саатов Гальят Саатович**  
Заместитель председателя Научного совета  
по присуждению ученых степеней, д.б.н., академик

**Асраров Музаффар Исламович**  
Ученый секретарь Научного совета  
по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

**Ахмеджанов Искандар Гулямович**  
Председатель Научного семинара при Научном совете  
по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

## ВВЕДЕНИЕ (Аннотации диссертации доктора философии (PhD) )

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** В настоящее время в мире увеличивается количество заболеваний, вызванных нарушениями функций ионных каналов. Одной из наиболее важных особенностей живых клеток является то, что они сохраняют свой объем независимо от изменений осмотического давления, вызванного различными механическими или химическими воздействиями и патофизиологическими условиями (при воспалении, ишемии, инфаркте и инсульте). Для поддержания стационарного объема очень важны ионные каналы и мембранные транспортеры. Создание селективных блокаторов ионных каналов и мембранных транспортеров, участвующих в системе регуляции объема клеток имеет большое научное и практическое значение для определения молекулярных основ этого процесса.

В ведущих исследовательских центрах мира проводятся интенсивные научные исследования различных биологических и фармакологических эффектов флавоноидов. В результате исследований выявлены антивирусная, антиоксидантная, антиаритмическая, иммуномодуляторная, противовоспалительная, противораковая активности, а также способность защищать сердечно-сосудистую систему. В настоящее время исследования механизма действия флавоноидов на участвующие в системе регуляции объема клеток ионные каналы, и особенно на анионные каналы являются крайне востребованными.

На сегодняшний день в нашей стране проводятся фундаментальные и инновационные исследования по поиску новых эффективных и малотоксических модуляторов ионных каналов, а также механизмов их действия. В этой области достигнуты значительные результаты, в том числе охарактеризованы белковые нанопоры, выявлена роль АТФ и глутатиона во внеклеточной среде и определены пути их выхода из лимфоидных клеток, а также ионные механизмы регуляции объема лимфоцитов и других клеток в условиях гипосмотического стресса. В «Стратегии действия по дальнейшему развитию Республики Узбекистана» подчеркивается «...стимулирование научно-исследовательской и инновационной деятельности, создание эффективных механизмов внедрения научных и инновационных достижений в практику»<sup>1</sup>. Исходя из этих задач, большое научное и практическое значение приобретает определение механизма действия природных биологически активных соединений, выделенных из местных растений, на систему регуляции клеточного объема и создание на их основе новых фармакологических препаратов.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Указе Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года № УП-4947 «О Стратегии действий по

---

<sup>1</sup> Указ Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 г. «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан». № УП-4947.

дальнейшему развитию Республики Узбекистан», Постановлении Президента Республики Узбекистан от 14 февраля 2018 г № ПП-3532 «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли» и Постановлении Президента Республики Узбекистан от 6 мая 2019 г № ПП-4310 «О мерах по дальнейшему развитию системы медицинского и фармацевтического образования и науки», 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 приоритетным направлением развития науки и технологий республики VI «Медицина и фармакология».

**Степень изученности проблемы.** В настоящее время, учеными из ведущих мировых исследовательских центров проводятся исследования по модификации ионных транспортных систем плазматической мембраны в различных типах клеток в нормальных и патофизиологических условиях, (Delpire and Gagnon, 2018; Okada et al., 2019). Был также проведен ряд научных исследований по влиянию растительных флавоноидов на различные биологические процессы и ионные каналы в мембранах (Saraei R. et al; 2018; Ontiveros M. et al, 2019). В частности, было обнаружено, что некоторые природные и синтетические флавоноиды ингибируют объем-зависимые анионные каналы (Хуе et al, 2016). Также, среди ряда флавоноидных соединений были обнаружены новые ингибиторы кальций-активируемых хлорных каналов (CaCC), образуемых белком TMEM16A, потенциал-зависимых калиевых и кальциевых каналов ( $K_v1.1$ ,  $K_v1.3$ ,  $Ca_v3.2$ ), а также неселективных катионных каналов, которые формирует белок TRPC5 (Zhang et al., 2017; Teisseyre et al., 2019; Ranzato E. et al, 2014; Naylor et al., 2016).

В странах СНГ также проводится ряд научных исследований по биофизическим и фармакологическим свойствам ионных каналов и транспортеров, участвующих в системе регуляции объема клеток в нормальных и различных патофизиологических условиях. Профессора С.Н. Орлов и Г.В. Максимов и их ученики выявили роль транспортеров и ионных каналов в апоптозе и некрозе в различных типах клеток.

Биофизические и фармакологические исследования ионных каналов в нашей Республике проводятся под руководством академиков Б.А. Ташмухамедова и Р.З. Сабирова, профессоров У.З. Мирходжаева, П.Б. Усманова, М.И. Асрарова. Научные исследования проводятся по изучению механизма влияния различных биологически активных веществ, выделенных из растений на механизмы транспорта кальция в сердечной и гладкой мускулатуре, на функцию мегапор и калиевых каналов в митохондриях и на систему регуляции объема клеток.

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



Национальном Университете Узбекистана ФА-А11-Т060 «Поиск новых модуляторов регуляции клеточного объема и объем-зависимых анионных каналов как перспективных иммуномодуляторов и противоопухолевых препаратов» (2015-2017), ПЗ-2017-0920-49 «Разработка новых перспективных субстанций на основе растительных экстрактов и их компонентов из местного сырья – модуляторов регуляции клеточного объема и объем-зависимого мембранного транспорта» (2018-2020) и ФА-Ф5-014 «Исследование биофизического фенотипа объем-зависимых анионных каналов и их функций в механизме регуляции клеточного объема» (2017-2020).

**Целью исследования** является исследование влияния растительных флавоноидов на регуляцию объема тимоцитов и резистентности красных кровяных клеток к осмотическому и коллоидно-осмотическому стрессу.

**Задачи исследования:**

исследование влияния 16 флавоноидов на регуляцию объема тимоцитов при гипоосмотическом стрессе;

определение закономерностей и взаимосвязи в структуре и функции флавоноидов;

установление механизма действия флавоноидов на систему регуляции объема неэлектрическим и электрофизиологическим методами;

исследование влияния флавоноидов на эритроциты человека в нормальных условиях и при осмотическом стрессе;

исследование влияния флавоноидов на эритроциты человека при коллоидно-осмотическом стрессе.

**Объектом исследования** являлись тимоциты, выделенные из беспородных белых крыс 6-8 недельного возраста, красные кровяные клетки человека и растительные флавоноиды.

**Предметом исследования** является исследование влияния флавоноидов на процессы регуляции объема в клетках тимоцитов и на устойчивость эритроцитов человека к осмотическому и коллоидно-осмотическому стрессу.

**Методы исследования.** В экспериментах использовались современные биофизические, биохимические и электрофизиологические методы. Тимоциты крыс и эритроциты человека выделялись с помощью стандартных методов. Изменение объема тимоцитов определялось методом регистрации светопропускания клеточной суспензии. Уровень гемолиза измерялся по выходу гемоглобина из эритроцитов. Биофизические параметры объем-зависимых анионных каналов регистрировали с помощью методом микролокального отведения ионных токов (пэтч-кламп). Математическая и статистическая обработка данных была проведена с помощью компьютерной программы Origin версий 5.0, 7.5 и 8.6 (OriginLab, Northampton, MA, США).

**Научная новизна диссертационного исследования** заключается в следующем:

охарактеризовано влияние 16 флавоноидов на регуляцию объема тимоцитов при гипоосмотическом стрессе и определена группа веществ с

сильным ингибирующим эффектом (гиспидулин, пиноцембрин, леманин и пуликарин);

в структуре флавоноидов определены основные детерминанты, необходимые для их активности в качестве ингибиторов регуляции объема;

неэлектрическим и прямым электрофизиологическим методом пэтч-кламп доказано, что механизм регуляции клеточного объема леманином и пиноцембрином осуществляется путем блокирования объем-зависимого анионного канала;

установлено, что флавоноиды оказывают защитное действие на эритроциты и существует тесная взаимосвязь между влиянием флавоноидов на осмотическую резистентность эритроцитов человека и их устойчивость к коллоидно-осмотическому лизису, с их действием на систему регуляции клеточного объема.

**Практические результаты исследования** заключаются в следующем:

среди флавоноидных соединений обнаружены новые вещества, ингибирующие систему регуляции объема тимоцитов;

среди флавоноидных соединений обнаружены новые вещества, которые защищают эритроциты человека в условиях осмотического стресса и коллоидно-осмотического лизиса;

установлены механизмы влияния флавоноидных соединений на систему регуляции объема тимоцитов, а также их связи со структурой.

**Достоверность результатов исследования** подтверждается тем, что результаты получены с применением современных биофизических, биохимических и электрофизиологических методов исследований, анализы результатов были выполнены с использованием современных компьютерных программ. Достоверность результатов основывается на их обсуждении на республиканских и международных конференциях и публикацией результатов исследований в рецензируемых научных журналах.

**Научная и практическая значимость результатов исследования.**

Научная значимость полученных результатов заключается в том, что было детально исследовано влияние флавоноидов на систему регуляции клеточного объема тимоцитов и эритроцитов, и определен механизм их действия в прямых экспериментах с использованием самого современного метода пэтч-кламп.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что флавоноидные соединения можно рассматривать как новое поколение перспективных и эффективных препаратов, относящихся к семейству иммуномодуляторов для профилактики и лечения заболеваний иммунной системы, связанных с ионными каналами.

**Внедрение результатов исследования.** На основании научных результатов по влиянию растительных флавоноидов на процесс регуляции клеточного объема тимоцитов:

результаты по исследованию влияния растительных флавоноидов на процессы транспорта ионов в мембранах были использованы в

фундаментальном проекте Ф-5-14 «Выделение биологически-активных веществ из сине-зеленых водорослей для фармацевтических и биотехнологических объектов» для определения влияния биологически-активных веществ, выделенных из сине-зеленых водорослей на регуляцию клеточного объема при гипоосмотическом стрессе (справка Министерства высшего и среднего специального образования Республики Узбекистан № 89-03-3677 от 2 октября 2019 года). В результате это дало возможность проанализировать влияние биологически активных веществ на регуляцию клеточного объема тимоцитов при гипоосмотическом стрессе и определить их зависимость от транспорта анионов;

результаты по исследованию влияния растительных флавоноидов на регуляцию объема тимоцитов при гипоосмотическом стрессе были использованы в фундаментальном проекте ФА-А6-Т064 «Создание биотехнологии получения рекомбинантного инсектотоксина BicaIT из яда кавказского подвида скорпиона *Mesobuthus caucasicus* и проведение его преклинических испытаний на животных и культурах раковых клеток» для изучения влияния яда скорпиона, препарата сояфлан, содержащего белки и изофлавоноиды и белкового экстракта биокор, на регуляцию клеточного объема при гипоосмотическом стрессе и для прояснения их влияния на транспорт анионов (справка Академии Наук Республики Узбекистан № 4/1255-606 от 14 февраля 2020 года). В результате это дало возможность охарактеризовать влияние этих препаратов на систему регуляции объема тимоцитов при гипоосмотическом стрессе, а также определить механизм их влияния на транспорт анионов.

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

**Опубликованность результатов исследования.** По теме диссертации опубликовано всего 13 печатных работ, из них 5 научных статей, в том числе 4 в республиканских и 1 в зарубежном журнале, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертации.

**Структура и объем диссертации.** Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка использованной литературы. Объем диссертации (без оглавления, списка условных обозначений и списка литературы) составляет 98 страниц.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

**Во введении** обосновывается актуальность и востребованность проведенного исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики, характеризуются цель и задачи исследования, объект и предмет, излагаются степень изученности проблемы, научная новизна и практические результаты

исследования, раскрываются достоверность полученных результатов, научная и практическая значимость, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Общая характеристика системы регуляции клеточного объема и флавоноидов»** обсуждена клеточная структура тимуса и созревания Т-лимфоцитов, представлены данные об ионных каналах в лимфоцитах и их функциях, особое внимание уделено ионным каналам, участвующим в регуляции объема клеток при гипоосмотическом стрессе и их фармакологии, а также классификации флавоноидных соединений и их биологическом значении, и влиянии флавоноидов на ионные каналы.

Во второй главе диссертации **«Описание основных материалов и методов, использованных при исследовании регуляции объема тимоцитов и устойчивости эритроцитов к осмотическому и коллоидно-осмотическому стрессу»** дано описание веществ и растворов, использованных в исследовании, подробно описаны стандартные методы выделения тимоцитов из белых крыс, и эритроцитов человека из крови здоровых добровольцев, оптические и электрофизиологические методы, такие как метод регистрации клеточного объема по величине светопропускания, гемолиз, метод микролокального отведения ионных токов – пэтч-кламп, а также методы математической обработки и статистического анализа полученных результатов.

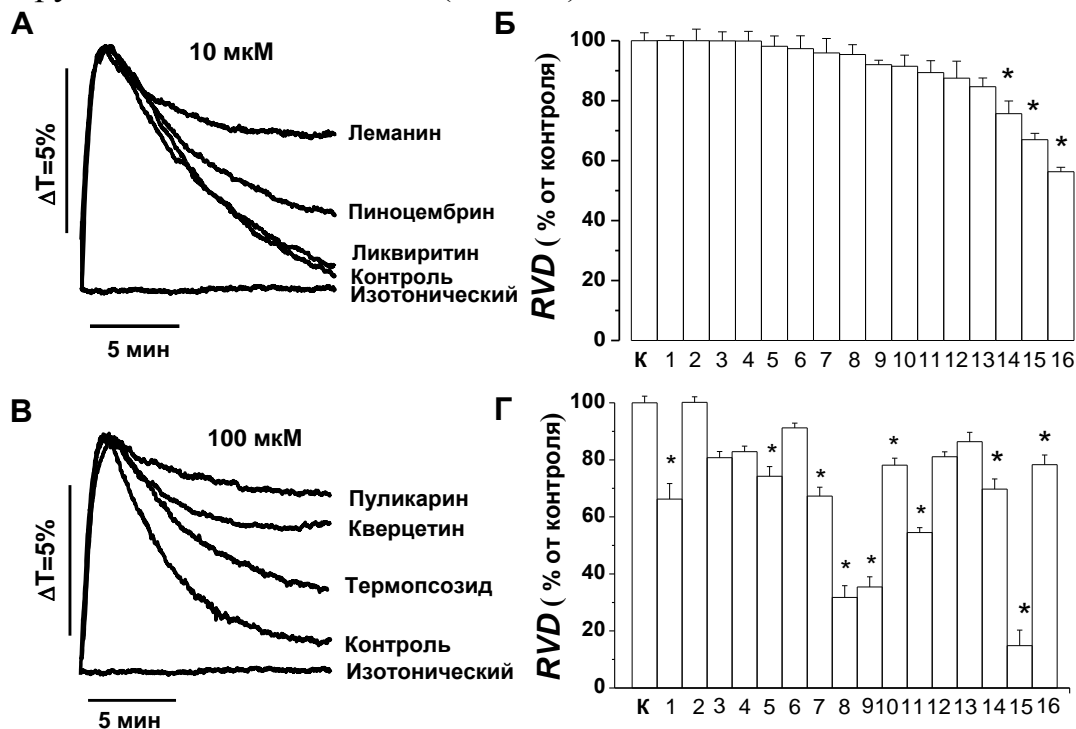
В третьей главе **«Влияние растительных флавоноидов на процессы регуляции объема тимоцитов крыс»** приведены данные по исследованию фиксированной дозы флавоноидов (10 или 100 мкМ) и доза-зависимости их влияния на регуляцию объема тимоцитов при гипоосмотическом стрессе, связи структуры исследованных флавоноидов с параметром регуляторного уменьшения объема (*RVD*, *Regulatory Volume Decrease*), ингибирующему действию флавоноидов на объем зависимый анионный транспорт тимоцитов, в частности на активность объем-зависимого анионного канала (ОЗАК).

В изотонической среде (нормальный раствор Рингера) объем тимоцитов оставался на постоянном уровне в течении 15 мин (Рис. 1а). При попадании в гипоосмотическую среду тимоциты сначала быстро набухают (пассивный ответ) и затем восстанавливают свой объем до уровня, близкого к исходному (активный ответ) (Рис. 1А). Этот процесс называется регуляторным уменьшением объема.

После 15-минутной инкубации клеток в гипоосмотической среде в контроле регуляторное уменьшение объема варьировало от 63% до 94% и в среднем было равно  $78,1 \pm 2,0$  ( $n=28$ ) (Рис. 1).

Добавление в гипотонический раствор Рингера флавоноидных соединений, относящихся к 4-м классам, в концентрации 10 мкМ или 100 мкМ оказывало различное влияние на степень восстановления объема тимоцитов (Рис. 1). Средние величины *RVD* были нормированы на

контрольные значения, измеренные для каждого вещества отдельно в день проведения его тестирования. Как видно (Рис. 1Б), при концентрации 10 мкМ только леманин, пуликарин и изоглабрин оказывали статистически значимое ингибирующее влияние на *RVD*. При концентрации 100 мкМ большая часть веществ (10 из 16-ти) оказывала статистически значимое ингибирующее влияние на *RVD* (Рис. 1Г).



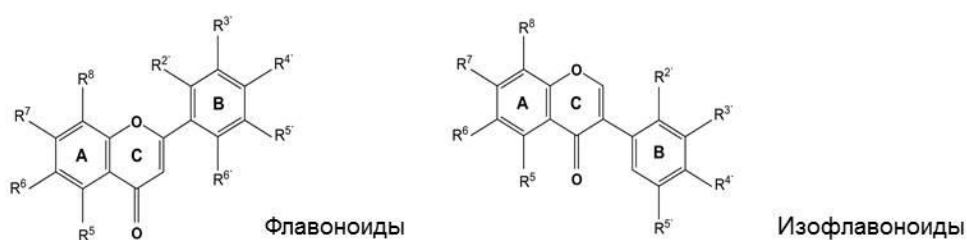
**Рисунок 1. Влияние флавоноидов при концентрации 10 и 100 мкМ на регуляцию объема тимоцитов крыс в условиях гипоосмотического стресса (147 мОсм/кг H<sub>2</sub>O).** (А и В) оригиналы записей изменения светопропускания суспензии клеток под влиянием флавоноидов; (Б и Г) показан процент восстановления клеточного объема после набухания в гипотонической среде в контроле и в присутствии в среде флавоноидов. Здесь: К-контроль, 1- кверцетин, 2- сиссотрин, 3- ликвиритин, 4-цинарозид, 5- ононин, 6- термопсозид, 7- лютеолин, 8- пиноцембрин, 9- гиспидулин, 10- формононетин, 11- хризозеиол, 12- генистин, 13- апигенин, 14- изоглабрин, 15- пуликарин, 16- леманин. n-число повторов. n=3-8 для флавоноидов и n=28 для обобщенного контроля. Звездочками (\*) отмечены значения, статистически значимо отличающиеся от контроля. Во всех случаях  $P < 0,05$  по сравнению с контролем.

Анализ взаимосвязи между структурой изучаемых флавоноидов и их способностью подавлять регуляцию объема в тимоцитах выявил следующие тенденции (Табл. 1): (i) высокоактивными веществами были агликоны, тогда как гликозиды были неактивными; (ii) все исследованные флаванолы и агликоновые флаваноны принадлежали к сильным и умеренно эффективным веществам; сравнение двух флаванолов, изоглабранина и леманина, позволяет предположить, что более объемный гидрофобный фрагмент лавандулила в положении R8 вместо гидрофобного, но меньшего пренила в положении R6 повышает активность леманина примерно в 10 раз по сравнению с изоглабранином; (iii) флавоны могут принадлежать к любой из

трех групп, однако сравнение апигенина (группа 1), лутеолина (группа 2) и гиспидулина (группа 3) показало, что введение OH-группы в низкоактивный апигенин в позиции R3` приводит к умеренной активности, тогда как введение CH<sub>3</sub>O-группы в тот же апигенин в позиции R6 превращает эту неактивную молекулу в высокоактивный ингибитор; отметим, что высокоактивный флавонол, пуликарин, несет четыре CH<sub>3</sub>O-группы в позициях R3, R5, R7 и R4`, что указывает на то, что метоксигруппы могут представлять важную структурную детерминанту; (iv) все изученные изофлавоны оказались неэффективными, что свидетельствует о том, что локализация фенильного кольца «В» в положении C2 важна для активности флавоноидов в качестве ингибиторов RVD.

Таблица 1

Общее строение и структурные формулы изученных флавоноидов

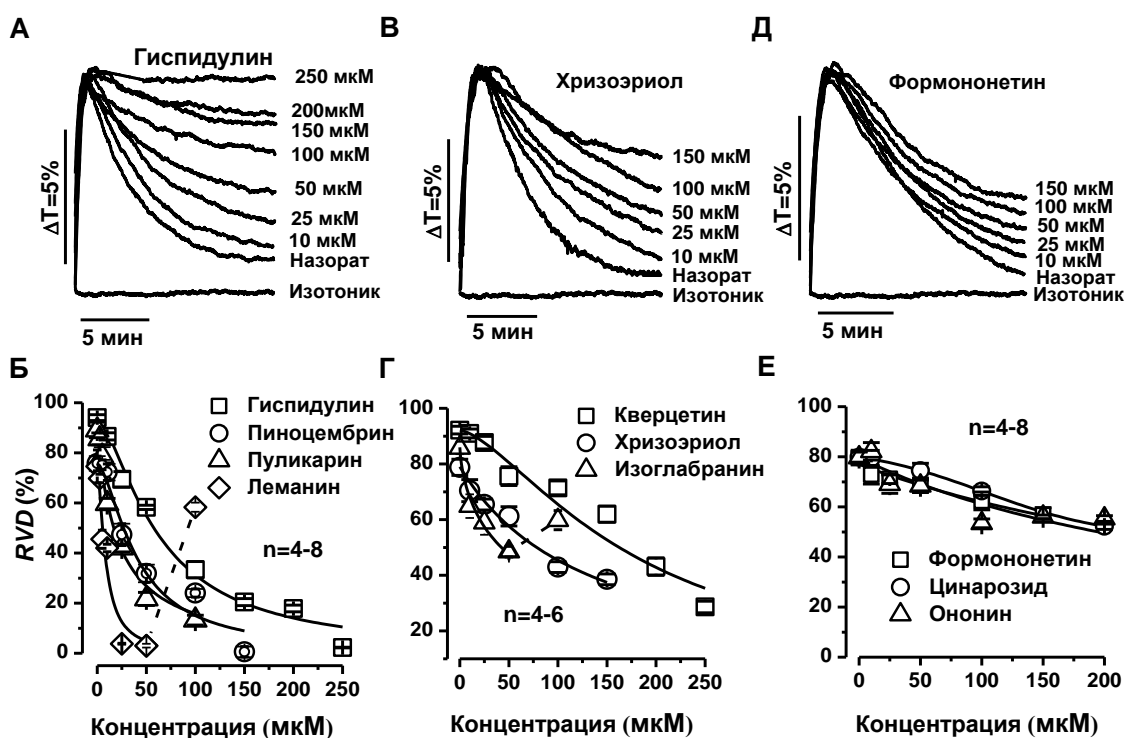


	R3	R5	R6	R7	R8	R2'	R3'	R4'	R5'	R6'	C <sub>2</sub> =C <sub>3</sub>	
<b>Флавоны</b>												
Апигенин	H	OH	H	OH	H	H	H	OH	H	H	+	<p>Гликозид (Glu)</p>
Лутеолин	H	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	H	+	
Гиспидулин	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	H	OH	H	H	+	
Хризозариоп	H	OH	H	OH	H	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	+	
Термопозид	H	OH	H	OGlu	H	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	+	
Цинарозид	H	OH	H	OGlu	H	H	OH	OH	H	H	+	
<b>Флавонолы</b>												
Кверцетин	OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	H	H	+	<p>Пренил (Pr)</p>
Пуликарин	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	+	
<b>Флаваноны</b>												
Пиноцембрин	H	OH	H	OH	H	H	H	H	H	H	-	
Изоглабринин	H	OH	Pr	OH	H	H	H	H	H	H	-	
Леманин	H	H	H	OH	Lav	OH	H	OH	H	H	-	<p>Лавандулил (Lav)</p>
Ликвиритин	H	H	H	OH	H	H	H	OGlu	H	H	-	
<b>Изофлавоны</b>												
Формонетин	-	H	H	OH	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	+	
Сиссотрин	-	OH	H	OGlu	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	+	
Ононин	-	H	H	OGlu	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	+	
Генистин	-	OH	H	OGlu	H	H	H	OH	H	H	+	

Таким образом, для активности флавоноидов как ингибиторов RVD имеет важное значение наличие метоксильной, пренильной и лавандулильной групп (обладающих гидрофобными свойствами), а также отсутствие гликозильной группы и локализация фенильного кольца «В» в позиции C2.

Дозозависимость влияния на регуляцию объема клеток была изучена для 10-ти флавоноидных соединений, относящихся к 3-м вышеупомянутым группам: это все флавоноиды в группе 1, 3 вещества из группы 2 (кверцетин,

хризозеириол, изоглабринин) и 3 вещества из группы 3 (формоннетин, цинарозид, ононин) (Рис. 2).



**Рисунок 2.** Дозозависимое влияние флавоноидов на систему регуляции объема тимоцитов при гипоосмотическом стрессе. (А, В и Д) – приведены оригиналы записей эффектов флавоноидов. (Б, Г и Е) – приведены кривые доза-эффект для флавоноидов каждой группы. Сплошные линии проведены по уравнению Хилла с соответствующими полумаксимальными концентрациями и коэффициентами Хилла, приведенными в таблице 2.

**Таблица 2**

Величины концентраций флавоноидов, оказывающих полумаксимальный эффект на регуляцию объема тимоцитов при гипоосмотическом стрессе, определенные по соответствующим концентрационным зависимостям ( $C_{50}$ ) и коэффициенты Хилла ( $h$ ).

№	Флавоноиды	$C_{50}$ (мкМ)	$h$
1	<b>Леманин</b>	$8,8 \pm 2,1$	$1,7 \pm 0,6$
2	<b>Пуликарин</b>	$20,4 \pm 1,9$	$1,2 \pm 0,1$
3	<b>Пиноцембрин</b>	$39,1 \pm 7,8$	$1,5 \pm 0,4$
4	<b>Гиспидулин</b>	$64,8 \pm 7,9$	$1,5 \pm 0,2$
5	<i>Изоглабринин</i>	$87,5 \pm 24,2$	$0,6 \pm 0,1$
6	<i>Хризозеириол</i>	$143,0 \pm 19,0$	$1,0 \pm 0,2$
7	<i>Кверцетин</i>	$177,0 \pm 14,0$	$2,0 \pm 0,4$
8	Цинарозид	$314,0 \pm 5,0$	$1, \pm 0,03$
9	Ононин	$439,0 \pm 214,0$	$0,7 \pm 0,3$
10	Формоннетин	$679,0 \pm 203,0$	$0,7 \pm 0,1$

Полумаксимальная эффективная концентрация для флавоноидов первой группы была ниже 65 мкМ, при этом наиболее сильным ингибитором был леманин ( $C_{50}=8,8$  мкМ). Полумаксимальные дозы флавоноидов группы 2 варьировали от 88 мкМ до 177 мкМ. У флавоноидов 3-й группы полумаксимальные эффективные концентрации были выше 300 мкМ (таблица 2).

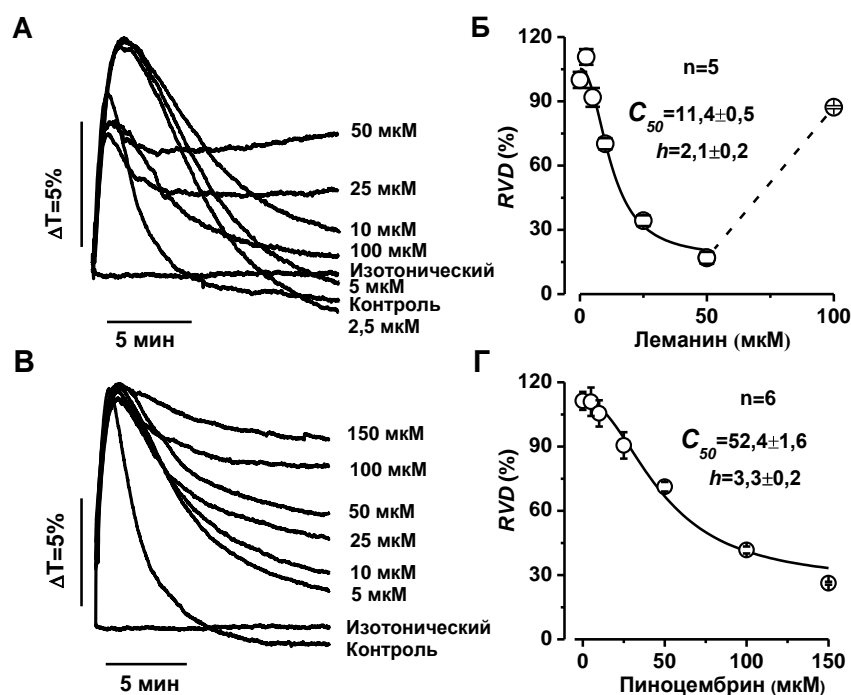
В литературе имеются данные об участии  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$  каналов и котранспорта  $K/Cl$  в механизме регуляции объема тимоцитов. Ингибирующее действие флавоноидов может быть связано с модуляцией любого из этих компонентов. Поэтому мы провели эксперименты, в которых одновалентные катионы в гипотоническом растворе были замещены на крупный органический катион N-метил-D-глюкамин (НМДГ<sup>+</sup>), а катионная проницаемость мембраны тимоцитов была увеличена с помощью грамицидина Д (ГрД).

Когда тимоциты помещали в гипотонический раствор Рингера с ГрД и НМДГ (эти условия мы далее будем обозначать как «НМДГ-ГрД»), они первоначально набухали, а затем восстанавливали свой объем даже более эффективно, чем в гипотоническом растворе Рингера с натрием, с параметром  $RVD=111,3\pm 5,2\%$  ( $n=6$ ) (Рис. 3). В условиях НМДГ-ГрД регуляция клеточного объема в основном зависит активности анионного транспорта.

В этих условиях первая группа флавоноидов оказывала сильное ингибирующее действие на систему регуляции объема тимоцитов. Леманин оказывал двухфазный эффект в среде НМДГ-ГрД (Рис. 3Б), также как и в условиях гипотонического раствора Рингера с натрием (Рис. 2Б). Результаты, полученные для первой фазы, аппроксимировали уравнением Хилла с полумаксимальным эффектом, равным  $11,4\pm 0,5$  мкМ, и коэффициентом Хилла  $2,1\pm 0,2$  ( $n = 6$ ). Эти результаты близки к параметрам подавления RVD леманином, наблюдаемым в нормальных  $Na^+$ -содержащих гипоосмотических условиях (таблица 2). Таким образом, можно сделать вывод, что влияние леманина на регуляцию объема тимоцитов в значительной степени обусловлено анионной проводимостью плазматической мембраны.

Пиноцембрин в этих условиях также уменьшал параметр RVD; полумаксимальный эффект был  $C_{50} = 52,4\pm 1,6$  мкМ, а коэффициент Хилла  $h = 3,3\pm 0,2$  (Рис. 3Г). В условиях НМДГ-ГрД, гиспидулин ( $C_{50}=94,4\pm 4,5$  мкМ;  $h=2,1\pm 0,3$ ) и пуликарин ( $C_{50} = 20,2\pm 1,4$  мкМ;  $h = 1,4\pm 0$ ) лишь частично подавляли RVD, что свидетельствует о том, что их влияние на регуляцию объема тимоцитов является более сложным и может включать некоторые другие транспортные системы.



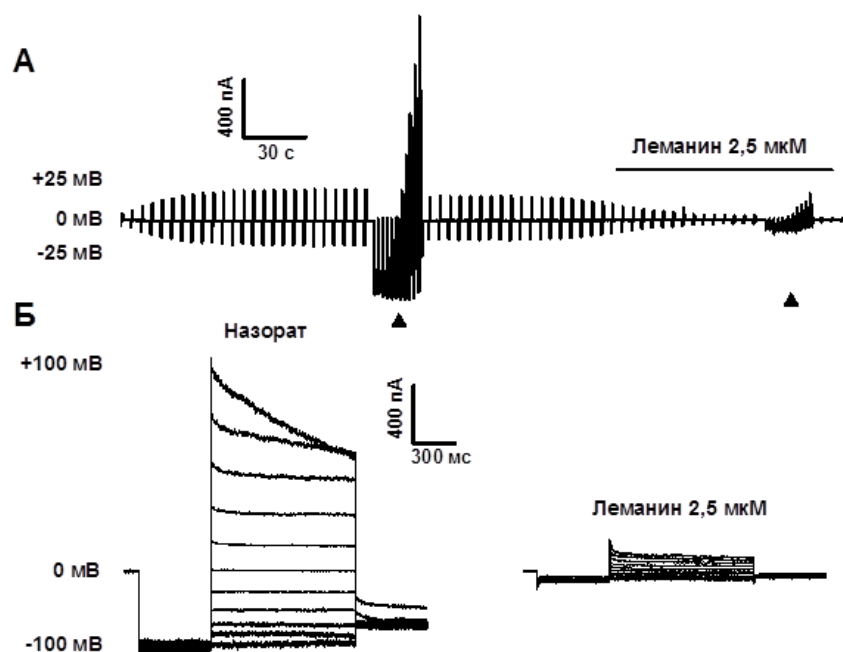


**Рисунок 3. Влияние леманина (А, Б) и пиноцембрина (В, Г) на систему регуляции объема тимоцитов при гипоосмотическом стрессе в растворе с НМДГ-ГрД.** (А и В) – оригиналы записи изменения светопропускания суспензии клеток. (Б и Г) – аппроксимация результатов экспериментов с помощью уравнения Хилла.

Известно, что при гипоосмотическом стрессе активируются  $Cl^-$  каналы ОЗАК. Для исследования влияния леманина и пиноцембрина на ОЗАК мы провели эксперименты методом пЭтч-кламп в конфигурации whole-cell (эксперименты проводились совместно с Н.А. Циферовой). После установления whole-cell конфигурации, с течением времени клетки начинали увеличиваться в объеме, что являлось следствием разницы в осмотичности ( $\sim 30$  мОсм/кг  $H_2O$ ) пипеточного раствора по отношению к нормальному раствору Рингера в ячейке. Увеличение клеточного объема сопровождалось ростом ионной проводимости плазмалеммы. Измеренный ток обладал наружным выпрямлением. В ответ на внесение в проточную ячейку леманина в концентрации 2,5 мкМ мы наблюдали постепенное подавление макроскопического тока (Рис. 4). Входящие и выходящие ионные токи подавлялись примерно одинаково.

В экспериментах с пиноцембрином мы получили аналогичный результат. В ответ на внесение в проточную ячейку пиноцембрина в концентрации 100 мкМ мы наблюдали постепенное подавление макроскопического тока. Ионный ток подавлялся как при положительных, так и при отрицательных потенциалах, что указывает на то, что эффект является потенциал-независимым.

Таким образом мы доказали, что леманин и пиноцембрин подавляют регуляцию клеточного объема путем блокирования анионного канала ОЗАК.



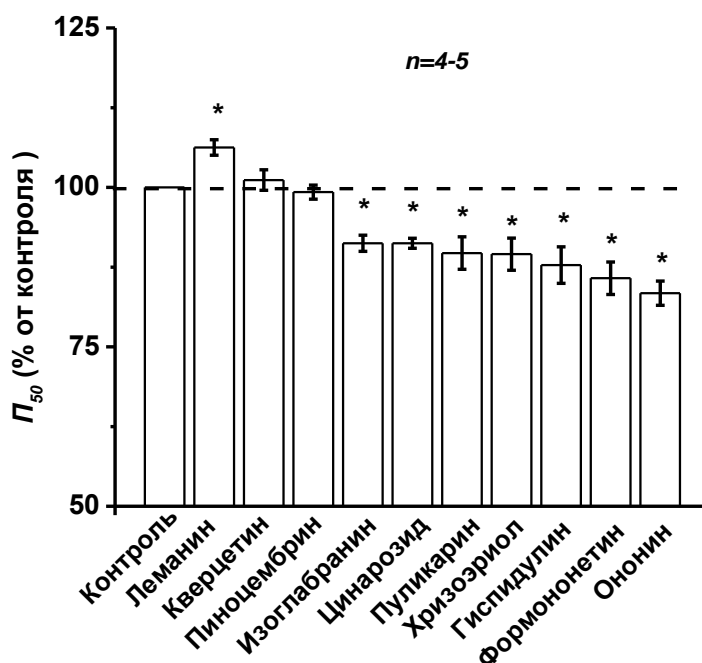
**Рисунок 4.** Влияние леманина в концентрации 2,5 мкМ на объем-зависимый хлорный ток, активируемый в тимоцитах при гипоосмотическом стрессе. (А) – изменения макроскопического тока в конфигурации whole-cell, измеренного в ответ на подачу тестового импульса  $\pm 25$  мВ от 0 мВ; (Б) – токовые ответы на подачу тестовых импульсов  $\pm 100$  мВ от 0 мВ с инкрементом 20 мВ (моменты подачи отмечен треугольниками на панели А).

В четвертой главе «Влияние растительных флавоноидов на эритроциты человека на процессы осмотического и коллоидно-осмотического стресса», изучено влияние растительных флавоноидов на выход гемоглобина из эритроцитов человека при изоосмотических условиях, гипоосмотическом стрессе и коллоидно-осмотическом лизисе.

Для определения мембранной активности флавоноидов, мы проанализировали влияние 16 флавоноидов на выход гемоглобина из эритроцитов человека в изоосмотических условиях *in vitro* при концентрациях от 1 мкМ до 500 мкМ. Только генистин в определенной степени стабилизировал плазматическую мембрану эритроцитов, делая ее более устойчивой к спонтанному лизису. Все остальные флавоноиды незначительно усиливали спонтанный гемолиз. Влияние флавоноидов на базальный гемолиз в изоосмотических условиях может быть связано с ингибированием систем регуляции объема эритроцитов. В целом, хотя уровень гемолиза и статистически значимо повышался в присутствии исследованных флавоноидов, однако даже максимальный лизис не превышал 5%, что свидетельствует о том, что все эти вещества не являются цитолитиками и должны обладать очень низкой токсичностью.

Экспериментально установлено, что при снижении внеклеточного осмотического давления наблюдается постепенное увеличение степени гемолиза в клетках. Когда флавоноиды добавляли в инкубационную среду, наблюдалось значительное изменение осмотической резистентности

эритроцитов. Все кривые хорошо описывались уравнением Больцмана, с помощью которого было рассчитано осмотическое давление ( $P_{50}$ ), которое приводило к 50%-му гемолизу. Флавоноиды использовались в концентрациях, которые, согласно нашим предыдущими данным, эффективно уменьшали  $RVD$ . Поскольку эксперименты проводились в течение одного дня для каждой группы флавоноидов, значения осмотического давления ( $P_{50}$ ), приводящие к 50%-му гемолизу, были нормализованы к контрольным значениям каждой группы и показаны на Рис. 5 как процент от контроля.



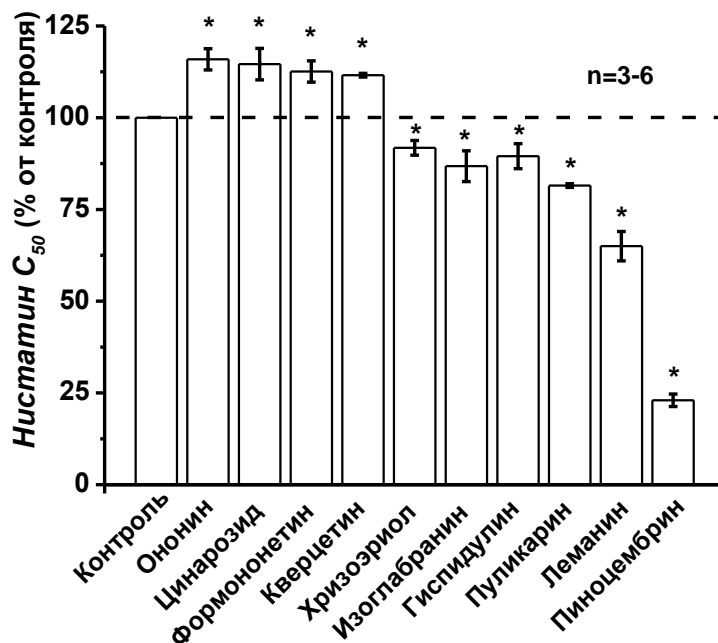
**Рисунок 5. Влияние флавоноидов на осмотическое давление среды, приводящее к 50%-му лизису эритроцитов человека.** Звездочками (\*) отмечены значения, статистически значимо отличающиеся от контроля. n - количество экспериментов.

Как видно из рисунка, только леманин снижал осмотическую резистентность эритроцитов, что можно объяснить его ингибирующим влиянием на  $RVD$  тимоцитов и активность ОЗАК. Влияние пиноцембрина и кверцетина на  $P_{50}$  не было значительным, а остальные флавоноиды увеличивали резистентность эритроцитов к осмотическому стрессу (т.е.  $P_{50}$  снижалось). Повышенная устойчивость эритроцитов к осмотическому стрессу в присутствии флавоноидов может быть обусловлена их стабилизирующим действием на плазматическую мембрану.

В последующих экспериментах мы исследовали влияние флавоноидов на устойчивость эритроцитов к коллоидно-осмотическому лизису под воздействием полиенового антибиотика нистатина. С этой целью мы определили уровни гемолиза при различных концентрациях этого полиена, построили кривую доза-эффект и аппроксимировали ее уравнением Хилла для определения эффективной концентрации нистатина, вызывающей 50%-й лизис клеток ( $C_{50}$ ). Результаты, полученные при добавлении флавоноидов в инкубационную среду, также были аппроксимированы уравнением Хилла.

Поскольку эксперименты проводились в течение одного дня для каждой группы веществ, величины  $C_{50}$  были нормализованы к контрольным значениям для каждой группы и показаны на рисунке 6.

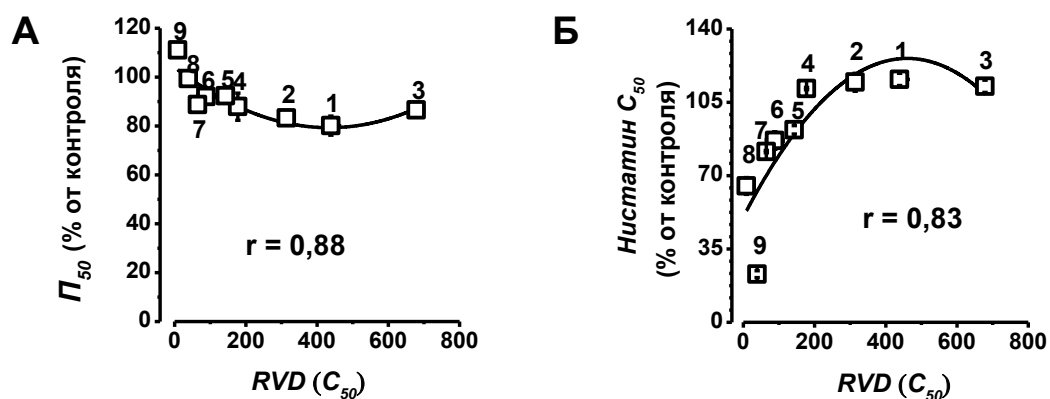
Резистентность эритроцитов к коллоидно-осмотическому лизису снижалась под действием пиноцембрина, леманина, пуликарина, гиспидулина, изоглабранина и хризозерола, что может быть связано с их ингибирующим действием на систему регуляции клеточного объема и активность ОЗАК.



**Рисунок 6. Влияние флавоноидов на величину концентрации нистатина ( $C_{50}$ ), которая вызывает 50% гемолиз эритроцитов человека. Звездочками (\*) отмечены значения, статистически значимо отличающиеся от контроля.  $P < 0,05$  по сравнению с контролем во всех случаях. n - количество экспериментов.**

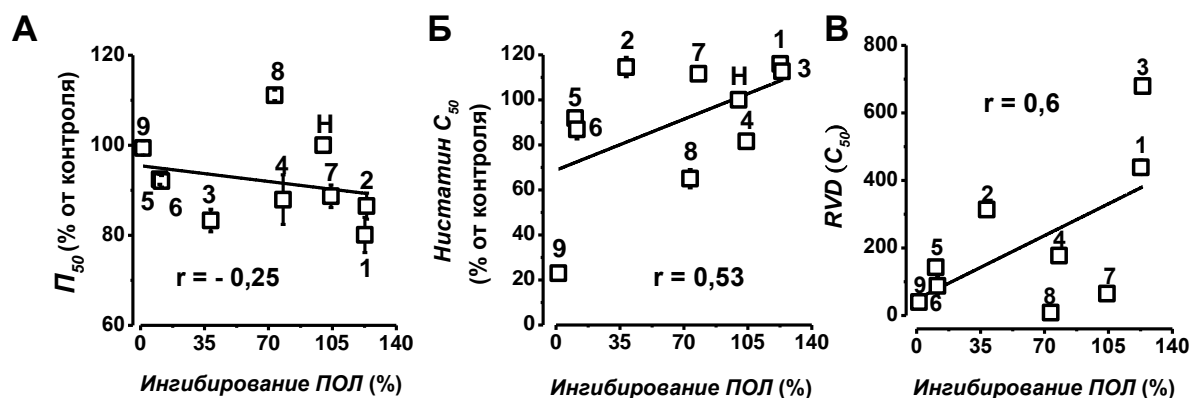
Кверцетин, ононин, формононетин и цинарозид оказывали защитное действие на эритроциты, повышая стабильность клеток. Эти результаты могут быть связаны с их способностью повышать механическую стабильность мембраны эритроцитов (вследствие их антиоксидантных свойств).

При сравнении эффектов флавоноидов на эритроциты и клетки тимуса было обнаружено, что как осмотическая резистентность, так и устойчивость к коллоидно-осмотическому лизису тесно связаны с регуляцией объема клеток (Рис. 7), однако эта корреляция была нелинейной, а коэффициент корреляции Спирмана составил 0,88 (для  $P_{50}$ ) и 0,93 (для  $C_{50}$ ). Когда экспериментальные точки были аппроксимированы полиномом второй степени, коэффициент корреляции составил 0,88 ( $P_{50}$ ) и 0,83 ( $C_{50}$ ). Этот результат показывает, что влияние флавоноидов на устойчивость эритроцитов связано с их действием на систему регуляции объема клеток.



**Рисунок 7. График связи устойчивости флавоноидов к осмотическому ( $P_{50}$ ) и коллоидно-осмотическому ( $C_{50}$ ) лизису с системой регуляции клеточного объема.** Ось абсцисс – полумаксимальные концентрации дозозависимых эффектов флавоноидов на параметр  $RVD$  ( $C_{50}$ ); Ось ординат – осмотическое давление ( $P_{50}$ ), вызывающее 50%-й гемолиз эритроцитов (А) и эффективная концентрация нистатина, вызывающая 50%-й лизис эритроцитов ( $C_{50}$ ) (Б) для различных флавоноидов. Здесь: 1-Ононин; 2-Цинарозид; 3-Формононетин; 4-Кверцетин; 5-Хризозеириол; 6-Изоглабринин; 7-Гиспидулин; 8-Леманин; 9-Пиноцембрин.

Известно, что реактивный кислород способен активировать объем-зависимый анионный канал, являющийся важным компонентом системы регуляции клеточного объема (Okada Y. et al, 2009).



**Рисунок 8. График связи устойчивости флавоноидов к осмотическому ( $P_{50}$ ) и коллоидно-осмотическому ( $C_{50}$ ) лизису с антиоксидантной активностью флавоноидов.** Ось абсцисс – антиоксидантная активность флавоноидов, выраженная как процент ингибирования перекисного окисления липидов (ПОЛ). Ось ординат: (А) – осмотическое давление ( $P_{50}$ ), приводящее к 50% гемолизу эритроцитов; (Б) – эффективная концентрация нистатина, вызывающая 50-й гемолиз ( $C_{50}$ ); (В) – полумаксимальные концентрации дозозависимых эффектов флавоноидов на параметр  $RVD$  ( $C_{50}$ ). Здесь: К-Контроль; 1-Ононин; 2-Цинарозид; 3-Формононетин; 4-Кверцетин; 5-Хризозеириол; 6-Изоглабринин; 7-Гиспидулин; 8-Леманин; 9-Пиноцембрин.

Принимая во внимание тот факт, что биологическая активность ряда флавоноидов обусловлена их антиоксидантными свойствами, мы сопоставили результаты определения антиоксидантной активности некоторых изученных нами флавоноидов (Хушбактова и др., 1996) с их эффективностью влияния на систему регуляции объема тимоцитов и на устойчивость эритроцитов к осмотическому и коллоидно-осмотическому лизису и выявили наличие определенной корреляции (Рис. 8). В частности,

коэффициент корреляции между антиоксидантной активностью флавоноидов и их действием на регуляцию клеточного объема и устойчивость эритроцитов к коллоидно-осмотическому лизису составил 0,6 и 0,53, что соответствует наличию умеренной положительной корреляции. Коэффициент корреляции между устойчивостью эритроцитов к осмотическому лизису и антиоксидантной активностью составил -0,25, что указывает на то, что существует слабая отрицательная связь.

Таким образом, антиоксидантные свойства флавоноидов могут быть частью их влияния на систему регуляции объема тимоцитов и эритроцитов.

## ВЫВОДЫ

1. Впервые установлено влияние 16 флавоноидов на регуляцию объема тимоцитов в условиях гипоосмотического стресса. По ингибирующему действию, вещества разделены на 3 группы, в которых первую сильнодействующую группу (с полумаксимальной эффективной концентрацией  $C_{50} < 65$  мкМ) составили гиспидулин, пиноцембрин, леманин и пуликларин, а наиболее эффективным ингибитором ( $C_{50} = 8,8$  мкМ) был найден леманин.

2. Взаимосвязь между структурой и функцией флавоноидов в качестве ингибиторов регуляции клеточного объема выразилась в том, что агликонная природа молекулы, наличие метоксильных, пренильной или лавандулильной групп, имеющих гидрофобную природу, а также локализация фенильного кольца «В» в положении С2 повышают их активность.

3. Установлено, что в условиях «НМДГ-ГрД» регуляция объема тимоцитов связана только с активностью анионного транспорта; леманин и пиноцембрин блокировали этот процесс полностью, а гиспидулин и пуликларин – частично. В прямых экспериментах пэтч-кламп зарегистрировано сильное подавляющее действие леманина и пиноцембрина на объем-зависимый анионный канал, следовательно, механизм их ингибирующего действия на регуляцию клеточного объема реализуется именно путём блокирования этого канала.

4. Впервые установлено наличие тесной взаимосвязи между действием флавоноидов на осмотическую резистентность человеческих эритроцитов, устойчивость эритроцитов к коллоидно-осмотическому лизису и их влиянием на систему регуляции клеточного объема. Было найдено, что эта активность частично связана с антиоксидантными свойствами веществ.

5. Впервые обнаружено защитное действие флавоноидов на осмотическую резистентность эритроцитов (ононин > формонетин > гиспидулин > хризозеиол > пуликларин > цинарозид > изоглабринин) и на устойчивость клеток к коллоидно-осмотическому лизису (ононин > цинарозид > формонетин > кверцетин). Такой защитный эффект объясняется повышением флавоноидами механической стабильности мембраны.

**SCIENTIFIC COUNCIL FOR AWARDED SCIENTIFIC DEGREES  
DSc.03/30.12.2019.B.01.13 AT THE INSTITUTE OF BIOPHYSICS AND  
BIOCHEMISTRY OF THE NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN**  

---

**INSTITUTE OF BIOPHYSICS AND BIOCHEMISTRY**

**RUSTAMOVA SARVINOZ ISLOMOVNA**

**EFFECT OF PLANT FLAVONOIDS ON IONIC TRANSPORT  
PROCESSES IN MEMBRANES**

**03.00.02 – Biophysics and radiobiology**

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

**Tashkent - 2020**

**The title the dissertation of PhD Has been registered with number B2017.1.PhD/B6 at the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan.**

The dissertation has been prepared at the Institute of Biophysics and Biochemistry at the National University of Uzbekistan.

The abstract of the dissertation in three (Uzbek, Russian and English (Resume) languages on the website of the Scientific Council ([www.ibb-nuu.uz](http://www.ibb-nuu.uz)) and on the website of «ZiyoNet» information and educational portal ([www.ziynet.uz](http://www.ziynet.uz)).

**Scientific supervisor:**

**Sabirov Ravshan Zairovich**

doctor of biological sciences, academician

**Official opponents:**

**Mirkhodjaev Ulugbek Zakirovich**

doctor of biological sciences, professor

**Tilyabaev Zaitjon**

doctor of biological sciences, professor

**Leading organization:**

**Tashkent pharmaceutical Institute**

The dissertation will be defended on \_\_\_\_\_2020 year \_\_\_ at the meeting of the Scientific Council DSc.03/30.12.2019.B.01.13 at the Institute of biophysics and biochemistry, at the National University of Uzbekistan at the following Address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Student`s town, University st., 174. Phone: (99871) 262-68-96.

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of Institute of biophysics and biochemistry, National University of Uzbekistan ( registration number № \_\_\_\_). Address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Student`s town, University st., 174. Phone: (99871) 262-68-96. e-mail: [ibb-nuu@mail.ru](mailto:ibb-nuu@mail.ru); [asrarov54@mail.ru](mailto:asrarov54@mail.ru).

The abstract of the dissertation has been distributed on « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2020  
(Protocol at the register № \_\_\_\_ dated « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2020)

**Saatov Talat Saatovich**

Vice-Chairman of the Scientific Council Awarding  
Scientific Degrees, D.B.Sc., academician

**Asrarov Muzaffar Islamovich**

Scientific secretary the Scientific Council Awarding  
Scientific Degrees, D.B.Sc., professor

**Axmedjanov Iskandar Gulyamovich**

Chairman of the academic seminar under the  
Scientific Council Awarding Scientific Degrees, D.B.Sc., professor



## INTRODUCTION (abstract of PhD dissertation)

**The aim of the research work** is to investigate the effects of plant flavonoids on the thymocyte cell volume regulation and resistance of red blood cells to osmotic and colloid-osmotic stress.

**The objects of the research work:** thymocytes isolated from young 6–8 weeks white rats, human red blood cells and plant flavonoids.

**The scientific novelty of the research work is as follows:**

the effects of 16 flavonoids on thymocytes volume regulation under hypoosmotic stress has been investigated and a group with strong inhibitory effect (hispidulin, pinocembrin, lehmanning and pulicarin) has been identified;

the main structural determinants required for flavonoids activity as inhibitors of the volume regulation have been elucidated;

it has been proved, using nonelectric and direct electrophysiological patch-clamp method, that the mechanism of inhibition of cell volume regulation by lehmanning and pinocembrin is due to blockage of volume-sensitive outwardly rectifying anion channel;

it has been shown that flavonoids have a protective effect on red blood cells, a relatively tight correlation between effects of flavonoids on the osmotic resistance of human erythrocytes and their resistance to colloid-osmotic lysis and their effect on the cellular volume regulation system has been demonstrated.

**Implementation of the research results.** Based on the scientific results of the effects of plant flavonoids on the process of volume regulation of thymocytes:

the results of research on the effects of plant flavonoids on ion-transport processes in membranes were used in the fundamental project F-5-14: «Isolation of Biologically Active Substances using Green Algae for Pharmaceutical and Biotechnological facilities» (2012-2016) to study the effects of bioactive substances isolated from green algae on the volume regulation of thymocytes under hypoosmotic stress as well as in exploring their anion transport machinery (Statements of the Ministry of Higher and Secondary Special Education of October 2, 2019, No. 89-03-3677). As a results allowed characterizing the effects of these biologically active substances on the volume regulation of thymocytes under hypoosmotic stress;

the results of the study of the effects of plant flavonoids on the volume regulation of thymocytes under hypoosmotic stress were used in the fundamental project FA-A6-T064 «Development of biotechnology for the production of recombinant insectotoxin BucaIT from the venom of the Caucasian subspecies of the scorpion *Mesobuthus caucasicus* and its preclinical tests on animals and cancers» to study the effect of scorpion venom, *soyaflan* preparation containing isoflavonoids and protein extract, and *biocor* preparation containing protein extract on the volume regulation of thymocytes under hypo-osmotic stress as well as in exploring their effects on anion transport machinery (certificate of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan № 4/1255-606 of February 14, 2020). As a result, allowed characterizing the effects of these preparations on the volume

regulation of thymocytes under hypoosmotic stress and their influence on the mechanisms of anion transport.

**The structure and volume of the dissertation.** The dissertation consists of introduction, four chapters, conclusions and list of publications. Total volume is 98 pages.

**ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ**  
**СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ**  
**LIST OF PUBLISHED WORKS**

**I бўлим (I часть; I part)**

1. Рустамова С.И., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Хушбактова З.А., Сыров В.Н., Сагдуллаев Ш.Ш., Эшбакова К.А., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Влияние растительных флавоноидов на регуляцию объема тимоцитов при гипоосмотическом стрессе.// ДАН РУз. -2012. -№ 5. – С. 54-57. (03.00.02., №5).

2. Рустамова С.И., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Метод неэлектрической оценки активности объем-зависимого анионного транспорта в плазмалемме тимоцитов.// Узб. биол. Журнал. -2013, -№4. – С.3-7. (03.00.02., №4).

3. Рустамова С.И., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Хушбактова З.А., Сыров В.Н., Эшбакова К.А., Йўлдошев М.П., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Гипоосмотик стресс шароитида тимоцитлар ҳажм бошқарилишига флавоноидларнинг дозага боғлиқ таъсирини ўрганиш.// ЎЗМУ Хабарлари. - 2015. -№3/1. – Б. 55-59. (03.00.02., №3/1).

4. Рустамова С.И., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Хамидова О.Ж., Хушбактова З.А., Сыров В.Н., Эшбакова К.А., Йўлдошев М.П., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Одам қизил қон хужайраларидан осмотик стресс ва коллоид-осмотик лизис шароитларида гемоглобин чиқишига флавоноидларнинг таъсири.// ЎЗМУ Хабарлари. -2015. -№3/1, – Б. 60-63. (03.00.02., №3/1).

5. Rustamova S.I., Tsiferova N.A., Khamidova O.J., Kurbannazarova R.S., Merzlyak P.G., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N., Botirov E.K., Eshbakova K.A., Sabirov R.Z. Effect of plant flavonoids on the volume regulation of rat thymocytes under hypoosmotic stress // Pharmacological Reports. -2019. -Vol. 71. № 6. – P. 1079-1087 (Research Gate, IF - 1.25).

**II бўлим (II часть; II part)**

6. Рустамова С.И., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Хушбактова З.А., Сыров В.Н., Сагдуллаев Ш.Ш., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Исследование влияния растительных флавоноидов на регуляцию объема тимоцитов при гипоосмотическом стрессе.// Международная научная конференция. «Актуальные проблемы развития биоорганической химии». Ташкент. (20-21 сентября). -2010 года. – С. 93.

7. Рустамова С.И., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., З. А. Хушбактова, Сыров В.Н., Сагдуллаев Ш.Ш., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Исследование дозависимости влияния флавоноидов на регуляцию объема тимоцитов при гипоосмотическом стрессе.// Конференция молодых ученых.

«Актуальные проблемы химии природных соединений». Ташкент. (19 марта) – 2012 года. -С. 56.

8. Рустамова С.И., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Способ определения активности объем-зависимого хлорного канала в тимоцитах.// Материал международной конференции молодых ученых. «Экспериментальная и теоретическая биофизика'12». Пущино. (22-24 октября) -2012. – С. 46-47.

9. Rustamova S.I., Kurbannazarova R.S., Merzlyak P.G., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N., Eshbakova K.A., Yuldashev M.P., Sagdullaev Sh.Sh., Tashmukhamedov B.A., Sabirov R.Z. Suppressing effect of flavonoids on the thymocyte volume regulation involves swelling-activated anionic transport.// In: Abstracts of the X th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Bukhara-Tashkent, Uzbekistan. (21-23 November) -2013. – P. 394.

10. Рустамова С.И., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Хамидова О.Ж., Хушбактова З.А., Сыров В.Н., Эшбакова К.А., Йўлдошев М.П., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Одам қизил қон хужайраларидан осмотик стресс шароитида гемоглобин чиқишига флавоноидларнинг таъсири.// «Табий бирикмалардан қишлоқ хўжалигида фойдаланиш истиқболлари». Республика илмий-амалий анжумани тезислари. Гулистон. (4-5 Май). -2013. – Б. 67-68.

11. Рустамова С.И., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Хушбактова З.А., Сыров В.Н., Эшбакова К.А., Йўлдошев М.П., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Действие некоторых флавоноидов на коллоидно-осмотический лизис эритроцитов человека.// Тезисы конференции «Актуальные проблемы развития биоорганической химии». Ташкент (15-16 ноября). -2013. – С. 101-102.

12. Рустамова С.И., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Хамидова О.Ж., Хушбактова З.А., Сыров В.Н., Йўлдошев М.П., Сабилов Р.З. Айрим флавоноидларнинг одам қизил қон хужайралари осмотик резистентлигига таъсири.// I Научно-практической конференции, посвященной годовщине организации Института биофизики и биохимии «Достижения и перспективы биофизики и биохимии» 17 сентября 2019 г. – Б. 81-83.

13. Рустамова С.И., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Хушбактова З.А., Сыров В.Н., Сабилов Р.З. Флавоноидларнинг каламуш тимоцитлари ҳажм бошқарилишига ва одам эритроцитлари осмотик ҳамда коллоид-осмотик лизисига таъсири.// «Биофизика ва биокимё муаммолари – 2020» илмий конференцияси материаллари, Тошкент (22 май). – 2020.– Б. 128.