

**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

ОМОНТУРДИЕВ СИРОЖИДДИН ЗОИРОВИЧ

**АЙРИМ ФЛАВОНОИДЛАР ВА УЛАРНИНГ ҲОСИЛАЛАРИНИ
КАЛАМУШ АОРТА СИЛЛИҚ МУСКУЛИ ҚИСҚАРИШ
ФАОЛЛИГИГА ТАЪСИР МЕХАНИЗМИНИ ҚИЁСИЙ ТАВСИФЛАШ**

03.00.08 - Одам ва ҳайвонлар физиологияси

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

Тошкент - 2021

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

Омонтурдиев Сирожиддин Зоирович

Айрим флавоноидлар ва уларнинг ҳосилаларини каламуш аорта силлик
мускули қисқариш фаоллигига таъсир механизмини қиёсий
тавсифлаш.....3

Омонтурдиев Сирожиддин Зоирович

Сравнительная характеристика механизма действия некоторых
флавоноидов и их производных на сократительную активность гладкой
мускулатуры аорты крысы.....21

Omonturdiyev Sirojiddin Zoirovich

Comparative characteristics of the mechanism of action of some flavonoids
and their derivatives on the contractile activity of rat aortic smooth
muscle.....39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works.....43

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

БИОФИЗИКА ВА БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ

ОМОНТУРДИЕВ СИРОЖИДДИН ЗОИРОВИЧ

**АЙРИМ ФЛАВОНОИДЛАР ВА УЛАРНИНГ ҲОСИЛАЛАРИНИ
КАЛАМУШ АОРТА СИЛЛИҚ МУСКУЛИ ҚИСҚАРИШ
ФАОЛЛИГИГА ТАЪСИР МЕХАНИЗМИНИ ҚИЁСИЙ ТАВСИФЛАШ**

03.00.08 - Одам ва ҳайвонлар физиологияси

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

Тошкент - 2021

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2019.4.PhD/В403 рақами билан рўйхатга олинган.

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

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


| | |
|----------------------------|--|
| Илмий раҳбар: | Усманов Пулат Бекмуратович биология фанлари доктори, профессор |
| Расмий оппонентлар: | Позилев Маъмуржон Комилжонович биология фанлари доктори Кулқараев Абдисалим Каримович тиббиёт фанлари номзоди |
| Етакчи ташкилот: | Қарши давлат университети |


Диссертация химояси Ўзбекистон Миллий университети Биофизика ва биокимё институти ҳузуридаги илмий даражалар берувчи DSc.03/30.12.2019.В.01.13 рақамли Илмий кенгашнинг 2021 йил «20» январь соат 14⁰⁰ даги мажлисида бўлиб ўтди (Манзил: 100174, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси, 174-уй. Тел.: (99871) 246-68-96.


Диссертация билан Ўзбекистон Миллий университети Биофизика ва биокимё институти ҳузуридаги Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (№ 22 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.

Диссертация автореферати 2021 йил «5» январь кун тарқатилди.
(2021 йил «5» январдаги _____ рақамли реестр баённомаси).




Сабиров Равшан Заирович
Илмий даражалар берувчи
илмий кенгаш раиси, 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 (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёнинг кўплаб мамлакатларида касалланиш ва ўлим кўрсаткичи бўйича етакчи ўринни эгаллаб турган юрак-қон томир тизими касалликлари ҳозирги даврнинг энг жиддий, тиббий ва ижтимоий муаммоси ҳисобланади. Ушбу касалликларнинг келиб чиқишининг асосий омили ҳисобланган артериал гипертония, сўнгги йилларда кенг тарқалган¹. Шунини ҳисобга олган ҳолда Жаҳон соғлиқни сақлаш ташкилоти ушбу касаллик учун фармакотерапия самарадорлигини оширишни биринчи ўринга қўйувчи глобал тадбирлар режасини ишлаб чиққан. Шу муносабат билан антигипертензив воситаларнинг янги авлодини яратиш ва артериал гипертониянинг олдини олиш ва даволашда янгича ёндашувларни ишлаб чиқиш замонавий фармакология ва кардиологиянинг долзарб муаммоларидан бири ҳисобланади.

Сўнгги йилларда дунёнинг кўплаб илмий марказларида гипотензив дориларнинг янги авлодини яратишга қаратилган кенг кўламли тадқиқотлар олиб борилмоқда. Шу билан бирга артериал гипертония патогенези билан бевосита боғлиқ бўлган қон-томир касалликларини асосий дисфункциясини олдини олиш учун янги ёндашувларни ишлаб чиқишга алоҳида эътибор қаратилган. Бунда, уларнинг функционал фаоллигини таъминлашда иштирок этадиган силлиқ мускул хужайраларининг (СМХ) ион каналлари ва хужайра ичидаги сигнализация тизимлари энг истиқболли йўналиш ҳисобланиб, улардаги камчиликлар ва нуқсонлар эса артериал гипертония ривожланишига олиб келади. Ушбу ёндашув қон томирларнинг асосий нишондаги дисфункциясини тuzатишнинг энг самарали усуллари ишлаб чиқиш ва артериал гипертонияни олдини олиш ва даволаш учун мутлақо янги гипотензив воситаларни яратишни тақазо этади.

Республикамизда юрак қон томир тизими касалликларининг олдини олиш ва даволаш учун маҳаллий ўсимлик хомашёси асосида дори воситаларини яратишга муҳим аҳамият берилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларининг арзон, сифатли дори воситалари ва тиббиёт буюмлари билан таъминланишини яхшилаш, дори-дармонлар нархларининг асоссиз ўсишига йўл қўймаслик бўйича чора-тадбирларни амалга ошириш» га қаратилган энг муҳим вазифалари белгилаб берилган². Бу вазифаларни амалга оширишда ўсимликлардан олинган биологик фаол бирикмаларининг фармакологик таъсир механизмларини аниқлаш ва улар асосида артериал

¹Rapsomaniki E, Timmis A, George J, et al. Blood pressure and incidence of twelve cardiovascular diseases: lifetime risks, healthy life-years lost, and age-specific associations in 1·25 million people. *Lancet*. 2014, vol 383, pp.1899-911.

² Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисидаги» Фармони

гипертензиянинг олдини олиш ва даволаш учун янги авлод дори воситаларини яратишга алоҳида эътибор қаратилган.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 14 февралдаги «Фармацевтика саноатини жадал ривожлантириш бўйича кўшимча чора-тадбирлар тўғрисида»ги ПҚ-3532-сонли Фармони ва Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2019 йил 6 майдаги «Тиббий-фармацевтика таълими ва илм-фан тизимини янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги ПҚ-4310-сонли Фармони ва бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг Ўзбекистон Республикаси фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Ушбу тадқиқот Республика фан ва технологиялар ривожлантиришнинг VI «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишларига мувофиқ амалга оширилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Ҳозирги вақтда кенг спектрли фармакологик таъсирга эга бўлган ўсимлик флавоноидлари янги гипотензив воситаларни ишлаб чиқиш ва яратишнинг энг истиқболли манбалари бўлиб ҳисобланади. Ушбу тадқиқотлар жараёнида вазорелаксат таъсирга эга бўлган флавоноидларнинг катта миқдори турли хил ўсимликлардан ажратиб олинган (Middleton et al., 2000). Шу билан бирга, кўпгина флавоноидлар потенциал гипотензив таъсирга эга эканлиги аниқланган, бу асосан релаксат фаоллиги билан боғлиқ (Ю.Г.Бирулина, 2016). Шу билан бирга, кўпгина флавоноидларнинг вазорелаксат таъсири мураккаб механизмларга, шу жумладан силлиқ мускул ҳужайраларининг турли хил ион каналлари ва қон томирлар эндотелийсининг модуляциясига асосланганлиги аниқланган (Ndagijimana et al., 2013). Флавоноидларнинг таъсирлари силлиқ мускул ҳужайраларида ички Ca^{2+} ионларининг концентрациясини пасайтириши, уларнинг релаксацияси ва қон томир тонусини сусайтириши аниқланган (Woodman et al., 2005).

МДХ давлатларида қон томир силлиқ мускулларининг қисқариш фаоллигининг регуляция механизмларини ўрганишга қаратилган тадқиқотлар ҳам бир қатор институтларнинг диққат марказида турибди. Хусусан, Носырев А.В. ва ҳамкасблари сигнал каскадларида ва қон-томир силлиқ мускулларининг нитрат оксиди тизимида бир қатор биологик фаол бирикмалар таъсирининг хусусиятларини аниқлаган (Носырев и др., 2006). Бирулина Ю.Г. ва унинг гуруҳи томонидан қон томир силлиқ мускуллари қисқариш фаоллигинининг регуляция механизмларида калий каналлар ва вазоактив омилларнинг, масалан углерод монооксиди ва водород сульфидларнинг ролини аниқлашга катта ҳисса қўшди (Бирулина и др., 2016).

Республикамизда ўсимлик бирикмалари асосидаги доривор моддалар ишлаб чиқариш ва яратиш бўйича етакчи марказ Ўсимлик моддалари кимёси институти ҳисобланади. Мазкур Институт ходимлари антиаритмик,

спазмолитик ва гипотензив таъсирга эга бўлган турли хил ўсимликлардан кўплаб алкалоидлар ва флавоноидлар ажратиб олишган (Салимов Б.Т., Султонходжаев М.Н., Эшбакова К.А.). Ушбу бирикмалар аксариятининг таъсир эффекти ва механизмларини Ўзбекистон Миллий университети хузуридаги Биофизика ва биокимё институти олимлари профессор П.Б.Усманов ва академик Р.З.Сабиоровлар лабораторияларида тавсифланган.

Диссертация тадқиқотининг диссертация иши бажарилган илмий-тадқиқот институтининг иш режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқотлари Ўзбекистон Миллий университети хузуридаги Биофизика ва биокимё институти илмий тадқиқот ишлари режасининг ФА-Ф6-Т083 «Юрак ва силлиқ мускул хужайраларини Ca^{2+} -гомеостазини биологик фаол моддалар ёрдамида модуляция йўллари излаш ва тавсифлаш» (2012-2016), ФА-А11-Т057 «Табиий ва синтетик биологик фаол моддаларни юқори самарали скрининг марказини ташкил этиш» (2015-2017) ва ФА-Ф-6-004 «Юрак-қон томир касалликларини даволашни адекват йўллари ишлаб чиқиш учун юрак ва силлиқ мушак хужайралари истиқболли нишонларини модуляция механизмларининг комплекс тавсифи» (2017-2020) лойиҳалари доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади пуликарин, хризозериол, лютеолин флавоноидлари ва уларнинг ҳосилаларининг релаксант таъсир механизмини қиёсий тавсифлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари: пуликарин, хризозериол, лютеолин флавоноидлари ва уларнинг ҳосилаларини каламуш аортаси калий ва фенилэфрин билан чақирилган қисқариш шароитида релаксант таъсир хусусиятларини тадқиқ қилиш;

пуликарин, хризозериол, лютеолин флавоноидлари ва уларнинг ҳосилаларини релаксант таъсирини таъминлашда СМҲ лари плазмалеммасидаги потенциалга боғлиқ (Ca^{2+}_L) ва рецептор бошқарувчи (Ca^{2+}_R) Ca^{2+} -каналлари, Na^+/Ca^{2+} -алмашинувчи ва K^+ -каналлари ўрнини аниқлаш;

пуликарин, хризозериол, лютеолин флавоноидлари ва уларнинг ҳосилаларини релаксант таъсирини таъминлашда СМҲ ларидаги саркоплазматик ретикулумдаги Ca^{2+} -ташиш (IP_3R , Ca^{2+} -АТФаза) тизимларининг ўрнини аниқлаш;

пуликарин, хризозериол, лютеолин флавоноидлари ва уларнинг ҳосилаларини релаксант таъсирини таъминлашда қон томирлар эндотелийсининг ролини ўрганиш ҳамда уларнинг кимёвий тузилишига боғлиқлигини таҳлил қилиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида *Pulicaria gnaphalodes* ва *Inula caspica* ўсимликларидан ажратиб олинган пуликарин, хризозериол ва лютеолин флавоноидлари ва уларнинг кимёвий структураси ўзгартирилган ҳосилалари, шунингдек каламуш аорта препарати олинган.

Тадқиқотнинг предмети пуликарин, хризоеиол, лютеолин флавоноидлари ва уларнинг ҳосилаларини релаксанти таъсир механизми таъминланишида, плазмалемма ва саркоплазматик ретикулум Ca^{2+} -транспорт тизими ўрни, бундан ташқари хужайра ички сигнал тизимлари, релаксанти фаоллик билан уларнинг структуравий тузилиши ўртасидаги ўзаро боғлиқлик ҳисобланади.

Тадқиқотнинг усуллари. Диссертация ишида каламуш аорта препаратлари қисқариш фаоллигини қайд қилиш ва таҳлил қилишда компьютер тизимларидан фойдаланган ҳолда тадқиқот натижалари қайта ишланган бўлиб, замонавий усуллардан фойдаланилган. Каламуш аорта препаратлари қисқариш фаоллигини қайд қилиш механографик усулда амалга оширилган бўлиб, бунда кучланиш FT 03 датчиги ва кучайтиргич P11Тдан фойдаланилган (Grass Technology Inc. USA). Олинган тадқиқот натижаларининг статистик таҳлили Origin 8.6 (OriginLab Corporation, USA) компьютер дастури ёрдамида амалга оширилди.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

пуликарин, хризоеиол, лютеолин флавоноидлари ва уларнинг ҳосилаларини СМХ лари ички Ca^{2+} миқдорини $[Ca^{2+}]_i$ камайтириши асосида яққол релаксанти таъсир кўрсатиши аниқланган;

флавоноидларнинг релаксанти таъсири КС1-индукциялаган қисқариш шароитида асосан Ca^{2+}_L -каналлари блокадаси ҳисобига таъминланиши аниқланган;

флавоноидларнинг релаксанти таъсири ФЭ-чақирган қисқариш шароитида Ca^{2+}_R -каналлари орқали Ca^{2+} ионлари киришини камайиши ва СРдан уларни ажралишини ингибирланиши ҳисобига юз бериши асосланган;

пуликарин, хризоеиол, лютеолин флавоноидларининг С(3',6), С(7,4') ва С(3',4',7) ҳолатларига ацетил гуруҳини киритиш билан уларни структуравий модификациялаш натижасида флавоноидлар ҳосилаларининг релаксанти фаоллигини кучайишига олиб келганлиги исботланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

пуликарин, хризоеиол, лютеолин флавоноидлари ва уларнинг ҳосилаларининг релаксанти фаоллиги асосида олинган натижалар уларнинг кимёвий структурасига боғлиқ бўлиб, муҳим амалий аҳамиятга эга,

шу билан бирга, артериал гипертензияни олдини олиш ва даволашда янги самарали гипотензив воситалар ишлаб чиқишда илмий асос бўлиб хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги. Тадқиқотларда замонавий биофизик, физиологик усуллар ва қурилмалар ҳамда уларни қайта ишлаш ва уларнинг ишончлилигини таҳлил қилишни таъминловчи компьютер дастурлари ёрдамида олинганлиги билан тасдиқланади. Шу билан бирга, олинган натижаларнинг ишончлилиги уларнинг республика ва халқаро илмий анжуманлардаги муҳокамаси, натижаларнинг рецензияланган илмий

нашрларда чоп этилиши билан изоҳланади. Ишда хулосалар замонавий математик статистика услубларидан фойдаланилган ҳолда чиқарилди.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти Ca^{2+}_L , Ca^{2+}_R , K^+ -каналларининг, Na^+/Ca^{2+} -алмашувчи тизимнинг ҳамда эндотелийнинг флавоноидларнинг релаксат таъсири асосида ётувчи механизмларни таъминлашдаги ўрни, бундан ташқари қон томирлар силлиқ мускулларини фармакологик бошқаришдаги янги ёндашувлар фундаментал билимларни кенгайтириши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, флавоноидларнинг структурасига ацетил гуруҳларни киритиш билан уларни модификациялаш релаксат фаолликни сезиларли даражада кучайишига олиб келган бўлиб, янги гипотензив воситалар яратиш учун самарали номзодларни ишлаб чиқиш жараёнида флавоноидлар структуравий дизайнини энг мақбул йўллари аниқлашда муҳим амалий аҳамиятга эга.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Пуликарин, лютеолин ва хризоеприол флавоноидлари ва улар ҳосилаларини кимёвий структурасига боғлиқ релаксат таъсири тавсифлашда олинган натижалари асосида:

флавоноидларнинг релаксат таъсирининг ўзига хослиги Хитой Фанлар академиясининг Шинжон физика ва кимё техника институтининг мақсадли лойиҳаларида флавоноидларни фармакологик хоссаларини аниқлашда фойдаланилган (Xinjing Technical Institute of Physics and Chemistry of CAS институтининг 2019 йил 25 июндаги маълумотномаси). Натижада қурғоқчил минтақаларда ўсадиган ўсимликлар ишлаб чиқадиган бирикмаларнинг фармакологик таъсирининг ўзига хослиги ҳақидаги маълумотларни кенгайтириш имконини берган;

пуликариннинг L тип Ca^{2+} -каналлари ва Na^+/Ca^{2+} -алмашувчи функцияларини модификациялаш орқали аниқланган релаксат фаоллиги ФА-А11-Т040 рақамли «*Pulicaria gnaphalodes* ўсимлиги компонентларидан антиоксидант «Пуликарон» дори воситасини яратиш» фундаментал лойиҳаси доирасида потенциал антиоксидант хоссага эга воситаларни аниқлашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2019 йилдаги 15 ноябрдаги 4/1255-3036-сон маълумотномаси). Натижада антиоксидант ва самарали кардиопротектор фаолликка эга бўлган «Пуликарон» дори воситасини яратиш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Тадқиқот натижалари 6 та халқаро ва 4 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 16 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 6 та

мақола, шулардан, 4 таси республика ва 2 таси хорижий журналларда чоп этилган.

Диссертациянинг ҳажми ва тузилиши. Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, хулосалар, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 106 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида олиб борилган илмий тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурияти, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари асослаб берилган, тадқиқотнинг объекти ва предмети тавсифланган, тадқиқотнинг Ўзбекистон республикаси фан ва технологиялар ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Қон томирлар силлиқ мускул хужайраларининг тавсифи**» деб номланган биринчи бобида қон томир силлиқ мускулларининг ўзига хос хусусиятлари, уларнинг структура тузилиши ва организмда турли хил ҳаётий муҳим функцияларни бажаришидаги ўрни ҳақида маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Биологик фаол моддаларни релаксанти таъсирини тавсифлаш усуллари**» деб номланган иккинчи бобида каламуш аорта препаратларини тайёрлаш усуллари ва уларни қисқариш фаоллигини қайд қилишда фойдаланиладиган асбоб-ускуналар ҳақида маълумотлар келтирилган. Бундан ташқари кимёвий реагентлар, тадқиқотни амалга оширишда фойдаланилган ион каналлари блокаторлари ва активаторлари ҳақида батафсил маълумотлар берилган.

Диссертациянинг «**Пуликарин, хризозериол, лютеолин флавоноидлари ва уларни ҳосилаларининг релаксанти таъсирини қийсий тавсифлаш**» деб номланган учинчи бобида каламуш аорта препарати қисқариш фаоллигига пуликарин, хризозериол, лютеолин флавоноидлари ва уларни ҳосилаларининг ўзига хос таъсири ҳақидаги тадқиқот натижалари тақдим этилган. Ушбу бобда тадқиқ қилинаётган флавоноидларнинг релаксанти таъсирини таъминлашда иштирок этувчи потенциалга боғлиқ (Ca^{2+}_L) ва рецептор-бошқарилувчи (Ca^{2+}_R) Ca^{2+} -каналларини, ҳамда СМХ лари плазмалемма K^+ -каналлари ва Na^+/Ca^{2+} -алмашинувчи ролини ўрганиш ҳақидаги натижалар тақдим этилган.

Ушбу тадқиқотларда пуликарин, хризозериол, лютеолин флавоноидлари ва уларни ҳосилаларининг КСI ва фенилэфрин-чақирилган контрактуралари шароитида аорта препаратини самарали бўшаштириши, уларнинг релаксанти таъсирга эга эканлигини кўрсатади. Хусусан, пуликарин флавоноиди ва унинг ҳосиласи бўлган диацетат-пуликариннинг релаксанти таъсири ва КСI

билан чақирилган аорта препарати қисқариш кучини дозага боғлиқ самарали камайтириши аниқланди. Пуликарин ва диацетат-пуликариннинг қисқаришни 50% га камайтирувчи концентрацияси IC_{50} қиймати мос равишда 26,7 мкМ ва 15,6 мкМ ни ташкил этди.

Хризозеориол, лютеолин ва уларнинг ҳосилалари аорта препаратларининг КСI билан чақирилган қисқариш кучини худди шундай камайтириши кузатилди. Шу билан бирга, хризозеориол ва лютеолин ҳосилалари, диацетат-пуликарин пуликарин ҳосиласи каби КСI билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучини сезиларли даражада камайтириши аниқланди (1-жадвал).

1-жадвал

Каламуш аорта препарати КСI- ва фенилэфрин билан чақирилган қисқариш шароитида пуликарин, хризозеориол, лютеолин флавоноидлари ва уларни ҳосилаларининг релаксанти таъсири

| Флавоноидлар | Релаксанти эффекти % | | | | | |
|--|----------------------|-----------|-----------|--------------|-----------|-----------|
| | КСI (50 мМ) | | | ФЭ I (мкМ) | | |
| | Концентрация | E_{max} | IC_{50} | Концентрация | E_{max} | IC_{50} |
| Пуликарин | 50 мкМ | 72,8±3,1% | 26,7 мкМ | 20 мкМ | 66,6±3,3% | 8,5 мкМ |
| Диацетат-пуликарин | 40 мкМ | 83,9±3,7% | 15,6 мкМ | 20 мкМ | 79,8±3,1% | 9,1 мкМ |
| Хризозеориол | 60 мкМ | 74,8±3,2% | 23,4 мкМ | 20 мкМ | 64,4±3,6% | 7,6 мкМ |
| 5-гидрокси-3'-метокси-7,4'-диацетил оксифлавонон | 45 мкМ | 83,9±3% | 17,4 мкМ | 20 мкМ | 78±3,5% | 8,9 мкМ |
| Лютеолин | 70 мкМ | 76,6±3,5% | 34,5 мкМ | 20 мкМ | 66,7±3,8% | 9,9 мкМ |
| 5-гидрокси-7,3',4'-триацетил-оксифлавонон | 30 мкМ | 87,8±4% | 13,3 мкМ | 20 мкМ | 75,8±2,9% | 12,3 мкМ |

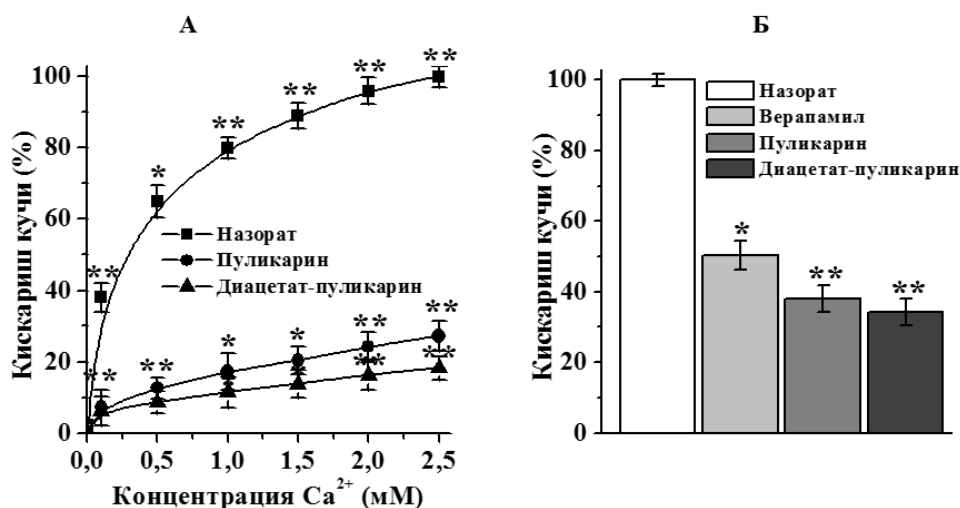
Изох: Кребс эритмасига 50 мМ КСI ва 1 мкМ фенилэфрин қўшилиши билан аорта препаратларида қисқариш чақирилган; E_{max} - флавоноидларнинг максимал релаксанти эффекти; IC_{50} - флавоноидларнинг максимал эффектига нисбатан 50%га сусайтирувчи концентрацияси.

Ушбу экспериментлар серияси натижалари шундан далолат берадики, ўрганилаётган флавоноидлар аниқ релаксанти таъсирга эга эканлиги аниқланди. Шунингдек, ушбу эксперимент натижалари шуни кўрсатадики, пуликарин, хризозеориол ва лютеолин флавоноидлари структураларининг модификацияси яъни, уларнинг структураларидаги С(3',6), С(7,4') ва С(3',4',7) ҳолатига ацетил гуруҳларнинг киритиш йўли билан мос равишда уларнинг ҳосилаларини релаксанти фаоллигининг сезиларли даражада ортишига олиб келади.

Ўрганилаётган флавоноидлар ҳосилаларининг релаксанти фаоллиги ортишини кузатилишида ацетил гуруҳларининг киритилиши, уларнинг

липофиллигини ошириши билан боғлиқ бўлиши мумкин, яъни уларнинг мембрана ва релаксат фаоллигини кучайиши билан боғлиқ бўлиши мумкин.

Шунингдек, гиперкалийли эритма (50 мМ КСl) билан чақирилган аорта препаратига қисқариш асосан Ca^{2+}_L -каналлари орқали СМХ ларига Ca^{2+} ионларини киришини таъминлаши сабабли ушбу натижалар шундан далолат берадики, ўрганилган флавоноидлар таъсири уларнинг ушбу каналлар билан ўзаро боғлиқ эканлигини кўрсатади. Ўрганилган флавоноидларнинг релаксат таъсирини таъминлашда Ca^{2+}_L -каналларининг иштирокини текшириш учун 50 мМ КСl ни ўз ичига олган, кальцийсиз муҳитга CaCl_2 нинг кумулятив қўшилиши натижасида юзага келадиган аорта препаратлари қисқаришига уларнинг таъсири ўрганилди. Ушбу тажрибаларда инкубация муҳитида CaCl_2 (0-2,5 мМ) концентрациясининг ортиши Ca^{2+}_L -каналлари орқали Ca^{2+} ионларининг кириб бориши сабабли аортанинг қисқариш кучини босқичма-босқич ошириб бориши кузатилди (1-расм, А).



1-расм. Пуликарин ва диацетат-пуликарин флавоноидлари релаксат таъсирининг Ca^{2+} концентрациясига ва Ca^{2+}_L -каналларига боғлиқлиги. А- Кребс эритмаларига CaCl_2 ни кумулятив қўшиш билан чақирилган каламуш аортаси қисқаришига пуликарин (50 мкМ) ва диацетат-пуликарин (40 мкМ) нинг таъсири. Ордината ўқида - аорта қисқариш кучи. Абсцисса ўқида - CaCl_2 концентрацияси келтирилган. Б-верапамил (0,1 мкМ) мавжуд шароитда 50 мМ КСl ёрдамида чақирилган мускул қисқаришига пуликарин (26,7 мкМ) ва диацетат-пуликарин (15,6 мкМ) релаксат таъсири (барча ҳолатларда ишончлилик кўрсаткичи * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n = 5-6$).

Ушбу тажрибаларда, ўрганилган флавоноидлар ва уларнинг ҳосилаларини инкубация муҳитига қўшилиши CaCl_2 нинг кўпайишига жавобан қисқаришнинг ривожланишини сезиларли даражада камайтириши кузатилди. 1,А-расмда кўрсатилганидек, 50 мкМ пуликарин ва 40 мкМ диацетат-пуликарин иштирокида, аорта препаратларининг Ca^{2+} таъсирида қисқариш кучи назоратга нисбатан мос равишда $72,8 \pm 4,2\%$ ва $81,8 \pm 2,9\%$ га камайди. Аорта препаратларининг Ca^{2+} -чақирилган қисқариш кучини

хризозэриол, лютеолин ва уларнинг ҳосилалари ҳам худди шундай камайтириши аниқланди.

Ушбу натижалар шуни кўрсатадики, ўрганилган флавоноидларнинг релаксанти таъсири Ca^{2+}_L -каналларининг блокадаси билан боғлиқ бўлиши мумкин, бу эса СМХ га Ca^{2+} ионлари киришининг камайиши, улардаги $[Ca^{2+}]_i$ миқдорининг пасайиши ва натижада уларнинг қисқариш фаоллигини камайтириши билан боғлиқ бўлади.

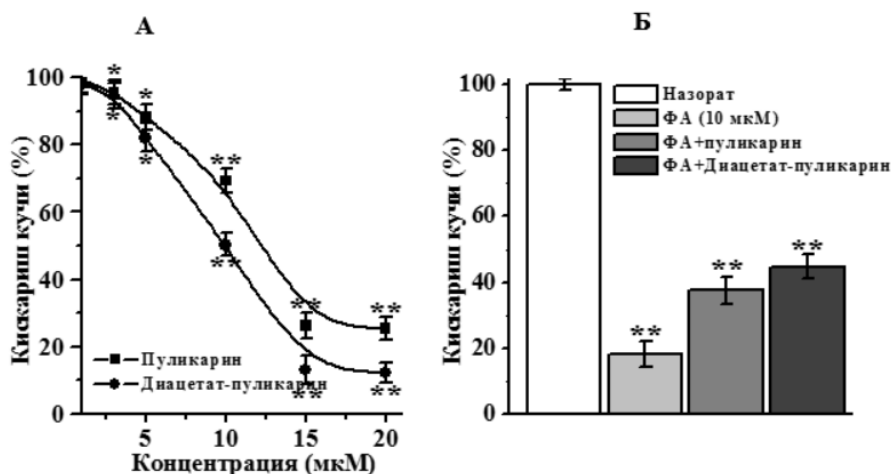
Флавоноидлар ва уларнинг ҳосилаларининг релаксанти таъсирини таъминлашда Ca^{2+}_L -каналларининг ролини аниқлаштириш учун уларнинг эффектини ушбу каналлар блокатори верапамил (ВП) иштирокида ўрганилди. Ушбу тажрибаларда, 0,1 мкМ ВП иштирокида пуликарин (26,7 мкМ) ва диацетат-пуликарин (15,6 мкМ) таъсирлари назоратга нисбатан мос равишда $11,9 \pm 4,1\%$ ва $15,8 \pm 4,1\%$ га каматириши кузатилди (1-расм, Б). Шунингдек, КСI билан чақирилган аорта қисқариш кучига хризозэриол, лютеолин ва уларнинг ҳосилаларининг эффектига ВП таъсири борлиги қайд қилинди.

Ушбу тажрибаларнинг натижалари шуни кўрсатадики, ўрганилган флавоноидлар ва уларни ҳосилаларининг релаксанти таъсири ҳақиқатдан ҳам Ca^{2+}_L -каналлари блокадаси ва СМХ ларига Ca^{2+} ионлари киришининг камайиши билан боғлиқ. Бироқ, ВП иштирокида тадқиқ қилинган флавоноидларнинг релаксанти эффекти қисман сақланиб қолиши Ca^{2+}_L -каналларининг блокадаси билан бир қаторда СМХ ларига Ca^{2+} ионлари транспортининг бошқа механизмларининг иштироки ҳам мавжуд эканлигидан далолат беради.

СМХда Ca^{2+} гомеостазини бошқарилишида Ca^{2+}_L -каналлари билан бир қаторда рецепторга боғлиқ Ca^{2+} каналлари (Ca^{2+}_R) ҳам муҳим рол ўйнайди, уларнинг фаоллашиши α -адренорецепторлари стимуляциси натижасида юзага келади (McFadzean & Gibson, 2002; Jackson, 2000). Шу сабабли α -адренорецепторлар агонисти фенилэфрин (ФЭ) ёрдамида чақирилган аорта препарати қисқаришига ўрганилган флавоноидларнинг релаксанти фаоллигини таъминлашда Ca^{2+}_R -каналларининг иштироки ўрганилди. Ушбу тажрибаларда, пуликарин ва диацетат-пуликарин ФЭ ёрдамида чақирилган аорта препарати қисқаришини мос равишда назоратдагига нисбатан $66,6 \pm 3,3\%$ ва $79,8 \pm 3,1\%$ га сусайтириши аниқланди (2-расм, А). Худди шундай, ФЭ ёрдамида чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучини сусайтириши, хризозэриол, лютеолин ва уларнинг ҳосилаларида ҳам кузатилди. Ушбу тажриба натижалари шуни кўрсатадики, ўрганилган флавоноидлар ФЭ ёрдамида чақирилган аорта препарати қисқаришини самарали сусайтиради, бу эса асосан плазмалеммадаги Ca^{2+}_R -каналлари орқали кирадиган Ca^{2+} ионлари билан таъминланади.

Ушбу натижалар α -адренорецепторлар блокатори фентоламин (ФА) билан олиб борилган тажрибалар тасдиқлайди, бунда пуликарин ва диацетат-пуликариннинг 20 мкМ таъсирида ФА иштирокида олинган натижалар ФЭ-

чақирилган аорта препарати қисқариш кучини назоратга нисбатан мос равишда, $12,1 \pm 4,2\%$ ва $32,5 \pm 3,8\%$ га камайтириши аниқланди (2-расм, Б).

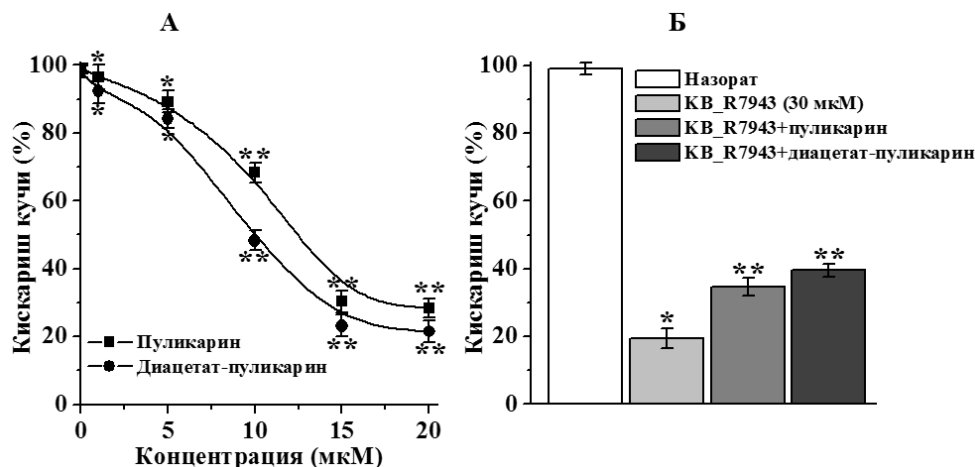


2-расм. Пуликaрин ва диaцeтaт-пуликaрин флавоноидларининг фeнилэфрин билан чақирилган каламуш аорта препарати қисқариш кучига таъсири. А-пуликaрин (20 мкМ) ва диaцeтaт-пуликaриннинг (20 мкМ), 1 мкМ вeрапамил мавжуд шароитда ФЭ билан чақирилган каламуш аортаси қисқаришига таъсири. Ордината ўқида - аорта қисқариш кучи. Абсцисса ўқида-флавоноидлар концентрацияси. Б-пуликaрин (20 мкМ) ва диaцeтaт-пуликaриннинг (20 мкМ) рeлaксaнт эффeктига фeнтoлaминнинг (10 мкМ) таъсири. Ордината ўқида - вeрапамил мавжуд бўлмаган шароитда ФЭ билан чақирилган каламуш аорта препарати қисқариш кучи 100% деб oлинган (барча ҳoлатларда ишончлилик кўрсaтгичи * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n = 5-6$).

Шунингдек, ФЭ-ёрдамида чақирилган аорта препарати қисқариш кучига хризoэриол, лютeолин ва уларнинг ҳосилаларининг эффeктига ФА нинг таъсири бор экaнлигини кўрсaтaди. Мазкур тажрибaлар серияси нaтижaлари тaдқиқ қилинaётган флавоноидларнинг рeлaксaнт таъсирини тaъминлaшдa кўшимчa Ca^{2+}_R -кaнaллaрининг иштироки мавжуд экaнлигидан дaлoлaт бeрaди. Шундaй қилиб, КСl- ва ФЭ- чaқирган қисқариш шарoитидa бaжарилган эспeримeнт нaтижaлари шунини иcбoтлaйдик, яъни тaдқиқ қилинaётган флавоноидлар рeлaксaнт таъсири асoсидa СМХ лaридa $[Ca^{2+}]_i$ миқдорининг кaмaйиши ётaди, бу эсa Ca^{2+}_L - ва Ca^{2+}_R -кaнaллaри oрқaли Ca^{2+} ионлaри киришининг блoкaдaси билан тaъминлaнaди.

Шу билан бир қaтoрдa қoн тoмир СМХ лaридa $[Ca^{2+}]_i$ рeгуляцияси силлиқ мускуллардa Ca^{2+} ионларининг мувoзaнaтини сaқлaш ва уларнинг қисқариш фaолигини тaртибгa солишдa Na^+/Ca^{2+} -aлмaшинувчи ҳaм муҳим аҳaмиятгa эгa ҳисoблaнaди (Philipson, 2002; Zhao et al., 2008). Ўргaнилган флавоноидларнинг рeлaксaнт таъсиридa Na^+/Ca^{2+} -aлмaшинувчининг иштирокини аниқлaш учун уларнинг Na^+/Ca^{2+} -aлмaшинувчи oрқaли СМХ гa кирaдиган Ca^{2+} ионлaри билан тaъминлaнишини Na^+ ионларисиз, Крeбс эритмaси билан чaқирилган аорта прeпaрaтлaри қисқаришларигa таъсири ўргaнилди (Zhao and Majewski, 2008; Tykocki et al., 2012). Ушбу тажрибaлардa пуликaрин ва диaцeтaт-пуликaрин Na^+ ионларисиз, Крeбс

эритмаси билан чақирилган аорта препарати қисқариш кучини назоратга нисбатан мос равишда $71,6 \pm 2,7\%$ ва $79,5 \pm 3,1\%$ га сусайтириши аниқланди (3-расм, А). Шунингдек, хризозеиол, лютеолин ва уларнинг ҳосилалари Na^+ ионларисиз, чақирилган аорта препарати қисқариш кучига юқоридагига ўхшаш таъсир кўрсатди.



3-расм. Пуликарин ва диацетат-пуликарин флавоноидларини Na^+ -сиз Кребс эритмаси билан чақирилган каламуш аортаси қисқариш кучига таъсири. А-пуликарин ва диацетат-пуликариннинг Na^+ -ионларисиз Кребс эритмаси билан чақирилган каламуш аортаси қисқариш кучига таъсири. Ордината ўқида- Na^+ -ионларисиз, Кребс эритмаси билан чақирилган аорта қисқариш кучи, Обсциса ўқида- флавоноидлар концентрацияси. Б- $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи блокатори KB-R7943 (30 мкМ) мавжуд шароитда Na^+ -ионларисиз, Кребс эритмаси билан чақирилган каламуш аорта препарати қисқаришига пуликарин (20 мкМ) ва диацетат-пуликарин (20 мкМ) нинг таъсир эффекти. Ордината ўқида-аорта қисқариш кучи 100% деб ифодаланган (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n = 5-6$).

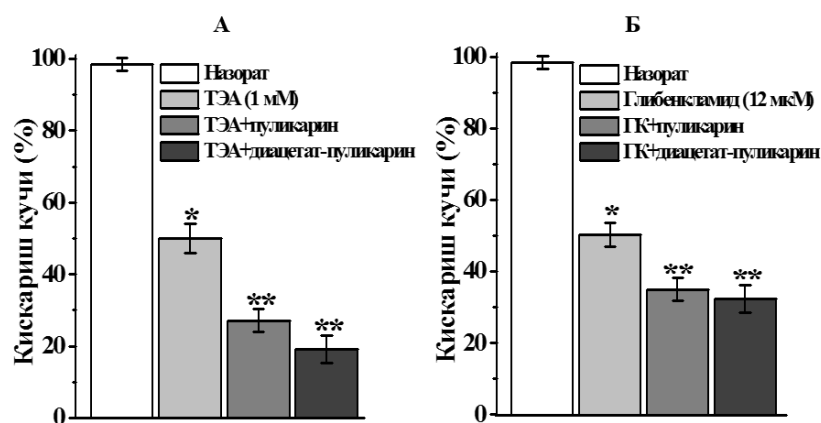
Ушбу тажриба натижалари шуни кўрсатадики ўрганилган флавоноидлар Na^+ ионларисиз чақирилган аорта препаратларининг қисқаришини сезиларли сусайтириши аниқланди. Ўрганилган флавоноидларнинг $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи орқали Ca^{2+} ионларининг ташилишига таъсирини кўшимча тасдиқлаш учун унинг блокатори- KB-R7943 билан тажрибалар ўтказилган, блокатор мавжуд шароитда Na^+ ионларисиз чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучига флавоноидларнинг таъсир эффектлари камайган (3-расм, Б). Ушбу тажрибалар натижаларида ўрганилган флавоноидларни релаксанти таъсирини таъминланишида $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи иштироки борлигидан далолат беради.

Олинган тажриба натижалари таҳлили асосида ўрганилган флавоноидларнинг релаксанти таъсири фақат Ca^{2+}_L - ва Ca^{2+}_R -каналлар блокадаси билан эмас СМХ плазмолеммасидаги $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинув тизими билан боғлиқ деган хулосага келиш имконини беради.

Калий каналлари Ca^{2+}_L - ва Ca^{2+}_R -каналлари, шунингдек СМХ плазмалеммасидаги $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчини тартибга солишда муҳим рол ўйнайди ва бу мембрана потенциали модуляцияси натижасида таъминланади

(Murphy & Brayden, 1996). Шу сабабли, текширилган флавоноидларнинг релаксат таъсирини таъминлашда калий каналларининг иштирокини ўрганиш учун уларни потенциалга боғлиқ (K_V) ва АТФ-га боғлиқ (K_{ATP}) каналлари блокаторлари глибенкламид ва тетраэтиламмоний (ТЭА) билан ўрганилди. Бунда КСI билан чақирилган аорта препаратларининг қисқариш кучига 1 мМ ТЭА мавжуд шароитда 30 мкМ пуликарин ва унинг ҳосиласи диацетат-пуликариннинг таъсири назоратга нисбатан $13 \pm 3,2\%$ ва $10,8 \pm 3,8\%$ га камайганлиги аниқланди (4-расм, А). Аорта препаратларининг КСI билан чақирилган қисқариш кучига 1 мМ ТЭА мавжуд шароитда хризозеориол, лютеолин ва уларнинг ҳосилалари ҳам шунга ўхшаш таъсир қилди. Ўрганилган флавоноидларнинг релаксат таъсирига K_{ATP} -каналли блокатори глибенкламид билан янада сезиларли таъсир кўрсатди. Бунда КСI билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучини 12 мкМ глибенкламид мавжуд шароитда 20 мкМ пуликарин ва унинг ҳосиласи диацетат-пуликариннинг таъсири назоратга нисбатан мос равишда $18,8 \pm 3,2\%$ ва $23,2 \pm 3,9\%$ га камайтирилганлиги аниқланди (4-расм, Б).

Шу каби тажрибаларда хризозеориол, лютеолин ва уларнинг ҳосилалари ҳам глибенкламиднинг таъсирига ўхшаш аналогик таъсир кўрсатиши кузатилди.



4-расм. K^+ -канал блокаторлари тетраэтиламмоний ва глибенкламиднинг КСI билан чақирилган каламуш аорта препарати қисқариши шароитида пуликарин ва диацетат-пуликарин флавоноидларини релаксат фаоллигига таъсири. А-20 мМ КСI билан чақирилган каламуш аорта препарати қисқариш кучига пуликарин (30 мкМ) ва диацетат-пуликариннинг (30 мкМ) релаксат эффектига ТЭА (1 мМ) нинг таъсири. Б- 20 мМ КСI ёрдамида чақирилган каламуш аорта препарати қисқариш кучига пуликарин ва диацетат-пуликариннинг релаксат эффектига глибенкламид (12 мкМ) нинг таъсири. Ордината ўқида- КСI 20 мМ билан чақирилган аорта қисқариш кучи 100% деб ифодаланган (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n = 5-7$).

Мазкур эксперимент натижалари шуни кўрсатадики, ўрганилган флавоноидларнинг релаксат таъсирида K_V -каналли блокатори ТЭА га нисбатан K_{ATP} -каналли блокатори глибенкламид мавжуд шароитда сезиларли даражада камайтириши аниқланди. Олинган маълумотлардан келиб чиқиб,

ўрганилган флавоноидларнинг релаксанти таъсирини таъминлашда СМХ лари K_{ATP} -каналлари муҳим рол ўйнаши мумкин. Шунингдек, флавоноидларнинг K_{ATP} каналлари билан ўзаро алоқаси ва уларни фаоллаштириш орқали СМХ лари мембранасининг гиперполяризациясига, Ca^{2+}_L -каналларининг инактивациясига, $[Ca^{2+}]_i$ нинг камайиши ва силлиқ мускулларнинг бўшашишига сабаб бўлиши мумкин

Диссертациянинг «Пуликарин, хризозеиол, лютеолин флавоноидлари ва уларни ҳосилаларининг релаксанти таъсирини таъминлашда эндотелий ва саркоплазматик ретикулум Ca^{2+} -транспорт тизимлари ролини ўрганиш» деб номланган тўртинчи бобида қон томирлар эндотелий ва саркоплазматик ретикулум Ca^{2+} -транспорт тизимлари функциясига пуликарин, хризозеиол, лютеолин флавоноидлари ва уларнинг ҳосилаларининг таъсирини тавсифлаш учун олиб борилган тадқиқот натижалари тақдим этилган.

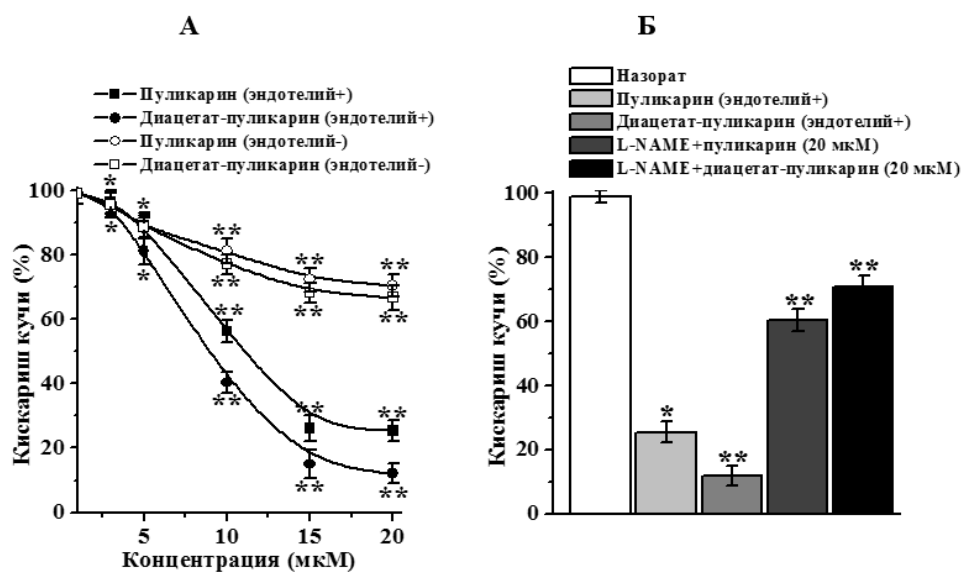
СМХларининг қисқариш фаоллигини таъминлашда саркоплазматик ретикулум Ca^{2+} -транспорт тизимларининг муҳим аҳамиятини ҳисобга олиб (Wier et al., 1992). Ўрганилаётган флавоноидларнинг релаксанти таъсирини кальцийсиз Кребс эритмасида ФЭ-чақирган аорта препарати қисқаришига таъсири ўрганилди. Ушбу шароитда ФЭ-чақирган аорта препарати қисқариши асосан CP дан IP_3R орқали чиқувчи Ca^{2+} ионлари орқали таъминланади (Tukoski et al., 2013). Бунда 20 мкМ пуликарин ва диацетат-пуликарин иштирокида ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучини назоратга нисбатан мос равишда $64,5 \pm 3,3\%$ ва $77,7 \pm 3,4\%$ га камайтириши аниқланди. Хризозеиол, лютеолин ва уларнинг ҳосилалари ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучини худди шундай камайтириши кузатилди.

Ушбу олинган натижалар шундан далолат берадики, ўрганилган флавоноидлар Ca^{2+} ионларисиз Кребс эритмаларида ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқаришини самарали равишда камайтиради, бу эса асосан IP_3R орқали CP дан чиқарилган Ca^{2+} ионлари билан таъминланади. Флавоноидларнинг CP дан Ca^{2+} ионлари чиқишига таъсирини кўшимча тасдиқлаш учун кофеин билан чақирилган аорта препарати қисқаришига таъсири ўрганилди (Watanabe et al., 1992). Ушбу тажрибаларда кальцийсиз Кребс эритмаларида аввалдан 20 мкМ пуликарин ва диацетат-пуликарин билан инкубация қилинганда кофеин томонидан чақирилган аорта препаратларининг қисқариш кучини назоратга нисбатан мос равишда $80,3 \pm 2,6\%$ ва $88,1 \pm 2,1\%$ га камайтириши кузатилди. Хризозеиол ва лютеолин, шунингдек уларнинг ҳосилалари, аорта препаратларининг кофеин таъсирида қисқариш кучини худди шундай камайтириши аниқланди.

Ушбу тажрибалар тадқиқ қилинган флавоноидларнинг IP_3R орқали CP дан Ca^{2+} ионларини чиқарилишини ингибирлаши орқали аорта препаратларининг ФЭ ва кофеин таъсирида қисқаришини камайтириши мумкинлигига кўшимча далиллар ҳисобланади. Олинган натижалар

кўрсатадики, ўрганилган флавоноидларнинг релаксантик эффекти CP дан Ca^{2+} ионларининг чиқишини таъминловчи IP_3R функциясининг модификацияси билан боғлиқ бўлиши мумкин.

СМХларининг қисқариш фаоллигида эндотелий хужайралари муҳим роль ўйнайди ҳамда бир қатор вазоактив омилларни юзага келтириш орқали СМХ нинг функционал ҳолатини модуляция қилиш ва қон томир тонусини ушлаб туришни таъминлайди (Baretella & Vanhoutte, 2016). Улардан асосий ролни азот оксиди (NO) ўйнайди, у эндотелий хужайраларида NO синтаза (NOS) ёрдамида синтезланади ва қон томир силлиқ мускуллари бўшашишида асосий воситачи ҳисобланади (Bredt & Snyder, 1994; Francis et al., 2010). Шу сабабли ўрганилаётган флавоноидларнинг релаксантик таъсирини таъминлашда эндотелийнинг иштирокини текшириш учун эндотелий қавати олиб ташланган аорта препаратларида тажрибалар амалга оширилди. Ушбу тажрибаларда эндотелийсиз препаратларда пуликарин (20 мкМ) ва унинг ҳосиласи диацетат-пуликарин (20 мкМ) ФЭ билан чақирилган қисқариш кучини $29,5 \pm 3,7\%$ ва $33,3 \pm 3,7\%$ га, эндотелий қавати мавжуд препаратларда флавоноидларнинг таъсири мос равишда $74,6 \pm 3,1\%$ ва $88,0 \pm 3,1\%$ ни ташкил қилди (5-расм, А).



5-расм. Пуликарин ва диацетат-пуликарин флавоноидларининг релаксантик таъсири эндотелий функционал фаоллигига боғлиқлиги. А-пуликарин ва диацетат-пуликариннинг ФЭ билан чақирилган аорта препарати қисқаришига эндотелий мавжуд (+) ва мавжуд бўлмаган (-) шароитдаги таъсири. Б-L-NAME (100 мкМ) нинг пуликарин ва диацетат-пуликарин эффектига ФЭ билан чақирилган аорта препарати қисқаришига таъсири. Ордината ўқида - 1 мкМ ФЭ билан чақирилган аорта препаратларининг қисқариш кучи фоизда ифодаланган ва 100% деб қабул қилинган (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n = 5$).

Ушбу тажриба натижалари асосида ўрганилган флавоноидларнинг релаксантик таъсирини таъминланишида эндотелийнинг ролини муҳимлигини кўриш мумкин. Бу эса NO-синтаза ингибитори - L-NAME (L-аргининнинг

структуравий аналог) иштирокидаги ўтказилган тажрибаларда ҳам тасдиқланган. Тажрибаларда 100 мкМ L-NAME мавжуд шароитда пуликарин (20 мкМ) ва унинг ҳосиласи диацетат-пуликарин (20 мкМ) эффектлари ФЭ ёрдамида чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучини $74,6 \pm 3,1\%$ ва $88,0 \pm 3,1\%$ дан $39,4 \pm 3,5\%$ ва $29,3 \pm 3,2\%$ гача камайтириши аниқланди (5-расм, Б).

Тажриба, натижалари шуни кўрсатдики ўрганилган флавоноидлар ва уларнинг ҳосилалари кучли релаксат таъсирга эга бўлиб бу эса эндотелийга боғлиқ жараёнлар асосида амалга ошади. Флавоноидларнинг релаксат таъсири эндотелий олиб ташланган ва L-NAME мавжуд шароитда сусайтириши, NO-синтаза ролининг муҳимлигини кўрсатади. NO-синтаза ва sGC/cGMP/PKG сигнал йўлини фаоллаштириб, улар плазмалеммадаги Ca^{2+}_L ва Ca^{2+}_R -каналлари орқали Ca^{2+} ионларининг киришини сусайишига ёрдам беради, шунингдек уларнинг СРдан чиқарилишига тўсқинлик қилади, бу эса СМХда $[Ca^{2+}]_i$ даражасининг пасайиши ва силлиқ мускулларнинг бўшашишига олиб келади. Шундай қилиб, ушбу олинган тажрибалар натижалари шуни кўрсатадики, пуликарин, хризоеориол, лютеолин флавоноидлари ва уларнинг ҳосилалари релаксат таъсирга эга бўлиб, ушбу таъсирнинг таъминланишида кўплаб механизмлар иштирок этади. Тадқиқ қилинаётган флавоноидларнинг ушбу таъсири асосида СМХ ларидаги $[Ca^{2+}]_i$ даражасининг пасайишига асосланади, бу эса КСI-чақирилган қисқариш шароитда Ca^{2+}_L - каналлари блокадаси билан таъминланади.

ФЭ ёрдамида чақирилган қисқариш шароитида Ca^{2+}_R -каналлари орқали Ca^{2+} ионлари оқимининг камайиши ва уларнинг СР дан чиқарилишининг ингибирланиши, ўрганилган флавоноидлар таъсирида СМХ ларидаги $[Ca^{2+}]_i$ даражасини сусайишини таъминлаши мумкин. Эндотелийсиз ва L-NAME мавжуд шароитда ўрганилган флавоноидларнинг релаксат таъсирининг сезиларли даражада камайиши, NO ва sGC/cGMP/PKG сигнал тизими иштирокидан далолат беради. Ушбу флавоноидлар NO-синтаза ва sGC/cGMP/PKG сигнал тизимини фаоллаштириш орқали плазмалеммадаги Ca^{2+}_L ва Ca^{2+}_R -каналлари шунингдек СМХ ларидаги $[Ca^{2+}]_i$ даражасининг пасайтириши билан бирга саркоплазматик ретикулумнинг IP_3R инактивациясини таъминлаши мумкин. Ушбу флавоноидларнинг релаксат таъсирида, K^+_{ATP} каналлари ҳам муҳим рол ўйнаши мумкин, бу уларни фаоллаштириш орқали СМХлари мембранасининг гиперполяризация ва Ca^{2+}_L -каналларини инактивациясини келтириб чиқариши мумкин. Ўз навбатида Ca^{2+}_L каналларини инактивацияси, СМХларига Ca^{2+} ионларининг етказилиб берилишининг пасайиши, улардаги $[Ca^{2+}]_i$ даражасининг пасайиши ва уларнинг бўшашишига олиб келиши мумкин. КСI- ва ФЭ-билан чақирилган қисқариш шароитида барча ўрганилаётган флавоноидларнинг эффекти, уларнинг ҳосилаларида янада яққолроқ кўринган, бу эса уларнинг структурасида ацетил гуруҳининг мавжудлиги билан изоҳланади, шу сабабли уларнинг юқори липофиллиги мос равишда мембрана ва релаксат

фаоллигини таъминлаши мумкин. Шу билан бирга лютеолин флавоноидининг тузилишига С (3',4',7) ҳолатдаги уч ацетил гуруҳининг киритилиши орқали модификация қилиниши барча экспериментал шароитда 5-гидрокси-7,3',4'-триацетилоксифлавоноиднинг эффеқтини сезиларли даражада 15-20% га кучайишига олиб келади.

ХУЛОСАЛАР

1. Пуликарин, хризозериол, лютеолин флавоноидлари ва уларнинг ҳосилалари яққол намоён бўлган релаксанти таъсирга эга бўлиб, унинг асосида силлиқ мускул ҳужайралари $[Ca^{2+}]_i$ миқдорининг камайиши ётади ва буни таъминлашда бир қанча механизмлар иштирок этади.

2. Флавоноидларнинг КСI-билан чақирилган қисқариш шароитидаги таъсири силлиқ мускул ҳужайраларидаги $[Ca^{2+}]_i$ миқдорини камайиши, асосан плазмалеммадаги Ca^{2+}_L -каналлари орқали Ca^{2+} ионлари киришини сусайтириши сабабли таъминланади.

3. Флавоноидларнинг фенилэфрин ёрдамида чақирилган қисқариш шароитидаги таъсири силлиқ мускул ҳужайраларидаги $[Ca^{2+}]_i$ миқдорини камайиши, IP_3R орқали саркоплазматик ретикулумдан ҳамда Ca^{2+}_R -каналларидан Ca^{2+} ионлари киришини ингибирланиши туфайли таъминланган бўлиши мумкин.

4. Флавоноидларнинг релаксанти таъсири эндотелийга боғлиқ бўлиб, у силлиқ мускул ҳужайралари плазмалеммасидаги Ca^{2+}_L - каналлари ва NO/sGC/cGMP/PKG сигнал системалари, ҳамда саркоплазматик ретикулумдаги IP_3R инактивацияси билан биргаликда фаоллашувчи йўллари билан боғлиқдир.

5. Пуликарин, хризозериол ва лютеолин флавоноидларининг структураси С(3',6), С(7,4') ва С (3',4',7) ҳолатига ацетил гуруҳларини киритиш йўли билан модификациялаш уларнинг ҳосилаларида релаксанти фаоллиги нисбатан кучайишини таъминлади.

6. Флавоноидларнинг ҳосилаларида релаксанти фаоллигини кучайиши уларнинг структурасида ацетил гуруҳларнинг мавжудлиги билан боғлиқ бўлиб, шу сабабли уларнинг юқори липофиллиги ва мос равишда уларнинг мембрана фаоллиги таъминланади.

7. Лютеолин флавоноидининг ҳосиласи -5-гидрокси-7,3',4'-триацетилоксифлавоноид кучлироқ релаксанти фаоллигини намоён қилиб, келгусида етакчи бирикма сифатида янги самарали гипотензив воситаларини яратишда асос бўлиши мумкин.

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

ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И БИОХИМИИ

ОМОНТУРДИЕВ СИРОЖИДДИН ЗОИРОВИЧ

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕХАНИЗМА
ДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ ФЛАВОНОИДОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ
НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГЛАДКОЙ
МУСКУЛАТУРЫ АОРТЫ КРЫСЫ**

03.00.08 - Физиология человека и животных

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

Ташкент-2021

Тема диссертации доктора философии (PhD) по биологическим наукам зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2019.4.PhD/B403.

Диссертация выполнена в Институте биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана имени Мирзо Улугбека.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета www.ibb-nuu.uz и на Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziyo.net).


| | |
|------------------------|---|
| Научный руководитель: | Усманов Пулат Бекмуратович доктор биологических наук, профессор |
| Официальные оппоненты: | Позидов Маъмуржон Комилюнович доктор биологических наук Кулкарраев Абдисалим Каримович кандидат медицинских наук |
| Ведущая организация: | Каршинский государственный университет |


Защита диссертации состоится «20» января 2021 г. в 14⁰⁰ часов на заседании Научного совета DSc.03/30.12.2019.B.01.13 при Институте Биофизики и биохимии, Национальном университете Узбекистана. Адрес: 100174, г.Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, улица Университетская, 174. Тел.: (+99871) 246-68-96.


С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института Биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана (зарегистрировано под № 22). Адрес: 100174, г.Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, Университетская, 174. Тел.: (+99871) 246-68-96, e-mail: ibb-nuu@mail.ru.

Автореферат диссертации разослан: «5» января 2021 г.
(реестр протокола рассылки № «_____» от «_____» _____ 2021).




Сабилов Равшан Заирович
Председатель 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 (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Заболевания сердечно-сосудистой системы, которые продолжают сохранять ведущие позиции в общей структуре заболеваемости и смертности в большинстве стран мира, являются важнейшей медико-социальной проблемой современности. Ведущим фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний является артериальная гипертензия, которая в последние годы имеет тенденцию широкого распространения¹. Учитывая это, ВОЗ разработала глобальный план действий, в котором повышению эффективности фармакотерапии этого заболевания, отводится первостепенное значение. В связи с этим создание нового поколения антигипертензивных средств и разработка новых подходов профилактики и терапии артериальной гипертензии является одной из актуальных проблем современной фармакологии и кардиологии.

Во многих научных центрах мира ведутся широкомасштабные исследования, направленные на создание нового поколения гипотензивных средств. Особое внимание при этом уделяется разработке новых подходов коррекции нарушений функции ключевых мишеней кровеносных сосудов, с которыми непосредственно связан патогенез артериальной гипертензии. При этом в качестве наиболее перспективных мишеней рассматриваются ионные каналы и внутриклеточные сигнальные системы гладкомышечных клеток, которые играют важную роль в обеспечении их функциональной активности, а их дефекты приводят к развитию артериальной гипертензии. Такой подход требует разработку наиболее эффективных способов коррекции дисфункции ключевых мишеней кровеносных сосудов и создание принципиально нового поколения гипотензивных средств для адекватной профилактики и лечения артериальной гипертензии.

В Узбекистане созданию лекарственных средств для профилактики и лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы на основе местного растительного сырья, отводится особое приоритетное значение. В Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определены важнейшие задачи направленные на «дальнейшее развитие фармацевтической промышленности и улучшение обеспеченности населения и медицинских учреждений доступными, качественными лекарственными средствами и изделиями медицинского назначения, реализация мер по недопущению необоснованного роста цен на них»². В реализации поставленных задач особую роль играют исследования, направленные на установление механизмов действия биологически активных соединений растительного происхождения с потенциальной фармакологической

¹ Rapsomaniki E, Timmis A, George J, et al. Blood pressure and incidence of twelve cardiovascular diseases: lifetime risks, healthy life–years lost, and age–specific associations in 1·25 million people. *Lancet*. 2014, vol 383, pp.1899–911.

² Указ Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 г. № УП–4947. «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан»

активностью для создания нового поколения лекарственных средств для профилактики и лечения артериальной гипертензии.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в вышеотмеченном Указе и Постановлениях 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 приоритетам направлениям развития науки и технологии республики. Данное исследование проводилось в соответствии с VI приоритетным направлением развития науки и техники республики «Медицина и фармакология».

Степень изученности проблемы. В настоящее время в качестве наиболее перспективных источников для разработки и создания новых гипотензивных средств, рассматриваются растительные флавоноиды, которые обладают широким спектром фармакологических эффектов. В процессе этих исследований из различных растений было выделено большое количество флавоноидов, обладающих выраженным релаксантным действием (Middleton et al., 2000). При этом было установлено, что большинство флавоноидов обладают потенциальным гипотензивным действием, которое в основном обусловлено их релаксантной активностью (Ellwood et al., 2019). Вместе с тем, было обнаружено, что в основе релаксантного действия большинства флавоноидов лежат комплексные механизмы, включающие модуляцию функции различных типов ионных каналов гладкомышечных клеток и эндотелия кровеносных сосудов (Ndagijimana et al., 2013).

В странах СНГ, исследования, направленные на изучение механизмов регуляции сократительной активности гладкой мускулатуры кровеносных сосудов, также находятся в центре внимания ученых. В частности, Носыревым А.В. и сотрудниками установлены особенности действия ряда биологически активных соединений на сигнальные каскады и систему оксида азота кровеносных сосудов (Носырев и др., 2006). Весомый вклад в установление роли калиевых каналов и вазоактивных факторов, таких как монооксид углерода и сероводород в механизмах регуляции сократительной активности сосудистых гладких мышц внесла группа Бирулиной Ю.Г. (Бирулина и др., 2016).

В нашей Республике ведущим Центром, где разрабатываются лекарственные средства на основе растительных соединений, является Институт химии растительных соединений (ИХРВ). Сотрудниками этого института из различных растений выделено большое количество алкалоидов и флавоноидов, обладающих антиаритмическим, спазмолитическим и

гипотензивным действием (Салимов Б.Т., Султанходжаев М.Н., Эшбакова К.А.). Механизмы лежащие в основе действия большинства из этих соединений и мишени, через которые реализуются их эффекты, охарактеризованы в лабораториях П.Б.Усманова и Р.З.Сабилова, Института биофизики и биохимии Национального Университета Узбекистана (Усманов и др. 2018).

Связанность диссертационного исследования с планом работ научно-исследовательского учреждения, где выполнялась диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательских работ проекта № ФА-Ф6-Т083 по теме «Поиск и характеристика биологически активных соединений- модуляторов Ca^{2+} -гомеостаза в клетках сердечных и гладких мышц» (2012-2016), № ФА-А11-Т057 «Создание центра высокоэффективного скрининга биологически активных соединений природного и синтетического происхождения» (2015-2017) и № ФА-А-Ф-6-004 по теме «Комплексная характеристика механизмов модуляции перспективных мишеней сердечных и гладкомышечных клеток для разработки адекватных подходов терапии сердечно-сосудистых заболеваний» (2017-2020) Института биофизики и биохимии при НУУ имени Мирзо Улугбека.

Целью исследования является сравнительная характеристика механизма релаксантного действия флавоноидов пуликарина, хризоэриола, лютеолина и их производных.

Задачи исследования:

исследовать особенности релаксантного действия флавоноидов пуликарина, хризоэриола, лютеолина и их производных в условиях калиевой и фенилэфрин-индуцированной контрактуры аорты крысы;

исследовать роль потенциал-зависимых (Ca^{2+}_L) и рецептор-управляемых (Ca^{2+}_R) Ca^{2+} -каналов, а также Na^+/Ca^{2+} -обменника и K^+ -каналов плазмалеммы ГМК, в обеспечении релаксантного действия пуликарина, хризоэриола, лютеолина и их производных;

исследовать роль Ca^{2+} -транспортирующих систем саркоплазматического ретикулула (IP_3R , Ca^{2+} -АТФаза) ГМК в обеспечении релаксантного действия пуликарина, хризоэриола, лютеолина и их производных;

исследовать роль эндотелия кровеносных сосудов в обеспечении релаксантного действия флавоноидов пуликарина, хризоэриола, лютеолина и их производных а также, провести комплексный анализ механизма действия и его зависимость от их химической структуры.

Объектом исследования являются флавоноиды пуликарин, хризоэриол и лютеолин, выделенные из растений *Inula caspica* и *Pulicaria gnaphalodes*, и их измененная химическая структура производных, а также препараты аорты крысы.

Предметом исследования является механизм релаксантного действия флавоноидов пуликарина, хризозериола, лютеолина и их производных, роль в его обеспечении Ca^{2+} -транспортирующих систем плазмалеммы и саркоплазматического ретикулума, а также внутриклеточных сигнальных систем, взаимосвязь между их структурой и релаксантной активностью.

Методы исследования. В диссертационной работе использованы современные методы регистрации и анализа сократительной активности препаратов аорты крысы с применением компьютерных систем сбора и обработки экспериментальных данных. Регистрацию сократительной активности препаратов аорты крысы проводили механографически, используя датчик натяжения FT03 и усилитель P11T (Grass Technology Inc. USA). Статистическая обработка результатов экспериментов осуществляли с помощью программы OriginPro v 8.6 (OriginLab Corporation, USA).

Научная новизна исследования состоит в следующем:

обнаружено, что флавоноиды пуликارين, хризозериол, лютеолин и их производные обладают выраженным релаксантным действием в основе которого лежит уменьшение уровня $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в ГМК;

установлено, что в условиях КС1-индуцированной контрактуры, релаксантный эффект, исследуемых флавоноидов, в основном обеспечивается благодаря блокаде Ca^{2+}_L -каналов;

на основании, что в условиях ФЭ-индуцированной контрактуры релаксантный эффект исследуемых флавоноидов обусловлен подавлением поступления ионов Ca^{2+} через Ca^{2+}_R -каналы и ингибированием их высвобождения из СР;

установлено, что модификация структуры флавоноидов пуликарина, хризозериола и лютеолина, путем введения в их структуру ацетилных групп в положениях С(3',6), С(7,4') и С (3',4',7), соответственно, сопровождается значительным усилением релаксантной активности их производных.

Практические результаты исследования заключаются в следующем: данные, полученные при изучении зависимости релаксантной активности флавоноидов пуликарина, хризозериола, лютеолина и их производных от их химической структуры, имеют важное практическое значение,

тем не менее, он служить научной базой при разработке новых адекватных подходов создания эффективных гипотензивных средств для профилактики и лечения артериальной гипертензии.

Достоверность результатов исследования, подтверждается тем, что они получены с применением современных биофизических и физиологических методов и приборов, а также компьютерных программ, обеспечивающих их обработку и анализ их достоверности. Вместе с тем о достоверности представленных данных, свидетельствуют оценки экспертов, полученные при опубликовании результатов этих исследований в рецензируемых научных журналах. Выводы, сформулированные в работе,

сделаны на основе результатов, обработанных с использованием современных методов математической статистики.

Научная и практическая значимость результатов исследований.

Научная значимость результатов исследования заключается в существенном расширении фундаментальных знаний о механизмах, лежащих в основе релаксантного действия флавоноидов, роли $\text{Ca}^{2+}_{\text{L-}}$, $\text{Ca}^{2+}_{\text{R-}}$, K^{+} -каналов, $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ -обменника, IP_3R и эндотелия в его обеспечении, а также о новых подходах фармакологической регуляции сократительной активности гладкой мускулатуры кровеносных сосудов.

Практическая значимость результатов исследования состоит в обнаружении существенного усиления релаксантной активности исследованных флавоноидов при модификации их структуры введением ацетильных групп. Эти результаты имеют важное практическое значение, так как определяют наиболее рациональные пути дизайна структуры флавоноидов в процессе разработки эффективных кандидатов для создания новых гипотензивных средств.

Внедрение результатов исследований. На основе полученных результатов о механизме релаксантного действия флавоноидов пуликарина, лютеолина, хризоэриола и их производных:

особенности релаксантного действия исследованных флавоноидов были использованы в процессе в целевых проектах № 31110103908 «The International Cooperation and Exchange of the National Natural Science Foundation of China» в Синьцзянском техническом институте физики и химии, Академии наук Китая (Справка Синьцзянского технического института физики и химии, CAS от 25 июня 2019 г.). В результате были существенно расширены сведения о особенностях фармакологических эффектов соединений, продуцируемых растениями произрастающими в засушливых регионах;

обнаруженная релаксантная активность пуликарина, обусловленная модификацией функции Ca^{2+} -каналов L-типа и Na/Ca^{2+} -обменника, использована в процессе разработки потенциальных антиоксидантных средств в рамках проекта ФА-А11-Т040 «Создание антиоксидантного лекарственного средства «Пуликарон» на основе компонентов растения *Pulicaria gnaphalodes*» (Справка Академии наук Республики Узбекистан от 15 ноября 2019 г. № 4/1255-3036). В результате был создан препарат «Пуликарон», обладающий высокой антиоксидантной активностью и эффективным кардиопротекторным действием.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований были обсуждены на 6 международных и 4 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов. По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, из них 6 научных статей, в том числе 4 в

республиканских и 2 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 106 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 «**Характеристика гладкой мускулатуры кровеносных сосудов**» предоставлена информация об особенностях функционирования гладких мышц кровеносных сосудов, их структурной организации и роли в выполнении различных жизненно важных функций организма.

Вторая глава диссертации, озаглавленная «**Методы характеристики релаксантного действия биологически активных веществ**», содержит информацию о методах приготовления препаратов аорты крыс и оборудовании, используемого при регистрации их сократительной активности. Также предоставлена подробная информация о химических реагентах, активаторах и блокаторах ионных каналов, использованных при реализации исследований.

В третьей главе диссертации, озаглавленной «**Сравнительная характеристика релаксантного действия флавоноидов пуликарина, хризоэриола, лютеолина и их производных**», представлены результаты исследования особенностей действия пуликарина, хризоэриола, лютеолина и их производных на сократительную активность препаратов аорты крысы. В данной главе представлены результаты изучения роли потенциал-зависимых (Ca^{2+}_L) и рецептор-управляемых (Ca^{2+}_R) Ca^{2+} -каналов, а также Na^+/Ca^{2+} -обменника и K^+ -каналов плазмалеммы ГМК, в обеспечении релаксантного действия исследуемых флавоноидов.

В этих исследованиях было обнаружено, что флавоноиды пуликарин, хризоэриол, лютеолин и их производные эффективно расслабляют препараты аорты в условиях КС1 и фенилэфрин-индуцированной контрактуры, что свидетельствует о их выраженном релаксантном действии.

В частности, было установлено, что флавоноид пуликарин и его производное диацетат-пуликарин обладают выраженным доза-зависимым

релаксантным действием и эффективно подавляет силу КС1-индуцированных сокращений препаратов аорты (табл.1). При этом значение IC_{50} , концентрация, при которой пуликарин и диацетат-пуликарин подавляли сокращения на 50%, составляло 16,8 мкМ и 14 мкМ, соответственно.

Аналогичное подавление силы КС1-индуцированных сокращений препаратов аорты вызывали хризоэриол, лютеолин и их производные. При этом было обнаружено, что производные хризоэриола и лютеолина, также как и производное пуликарина диацетат-пуликарин, более существенно подавляют силу КС1-индуцированных сокращений препаратов аорты (табл.1).

Таблица 1

Релаксантное действие пуликарина, хризоэриола, лютеолина и их производных в условиях КС1- и фенилэфрин- индуцированной контрактуры препаратов аорты крысы

| Флавоноиды | Релаксантный эффект % | | | | | |
|---|-----------------------|-----------|-----------|--------------|-----------|-----------|
| | КС1 (50 мМ) | | | ФЭ 1 (мкМ) | | |
| | Концентрация | E_{max} | IC_{50} | Концентрация | E_{max} | IC_{50} |
| Пуликарин | 50 мкМ | 72,8±3,1% | 26,7 мкМ | 20 мкМ | 66,6±3,3% | 8,5 мкМ |
| Диацетат-пуликарин | 40 мкМ | 83,9±3,7% | 15,6 мкМ | 20 мкМ | 79,8±3,1% | 9,1 мкМ |
| Хризоэриол | 60 мкМ | 74,8±3,2% | 23,4 мкМ | 20 мкМ | 64,4±3,6% | 7,6 мкМ |
| 5-гидрокси-3'-метокси-7,4'-диацетил оксифлаво | 45 мкМ | 83,9±3% | 17,4 мкМ | 20 мкМ | 78±3,5% | 8,9 мкМ |
| Лютеолин | 70 мкМ | 76,6±3,5% | 34,5 мкМ | 20 мкМ | 66,7±3,8% | 9,9 мкМ |
| 5-гидрокси-7,3',4'-триацетил-оксифлаво | 30 мкМ | 87,8±4% | 13,3 мкМ | 20 мкМ | 75,8±2,9% | 12,3 мкМ |

Примечание: Контрактуру препаратов аорты крысы вызывали добавлением в раствор Кребса 50 мМ КС1 и 1 мкМ фенилэфрина; E_{max} - максимальный релаксантный эффект флавоноидов; IC_{50} - концентрация флавоноидов, вызывающая 50% их максимального эффекта.

Результаты этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что исследуемые флавоноиды обладают выраженным релаксантным действием. Вместе с тем результаты этих экспериментов показали, что модификация структуры флавоноидов пуликарина, хризоэриола и лютеолина, путем введения в их структуру ацетильных групп в положениях С(3',6), С(7,4') и С(3',4',7), соответственно, приводит к значительному усилению релаксантной активности их производных. Наблюдаемое усиление релаксантной активности производных исследуемых флавоноидов, может быть связано с повышением их липофильности, при введении ацетильных групп, что может способствовать увеличению их мембранной и релаксантной активности.

В связи с тем, что сокращения препаратов аорты, индуцируемые гиперкалиевыми растворами (50 мМ KCl), в основном обеспечиваются ионами Ca^{2+} , поступающими в ГМК через Ca^{2+} -каналы, эти результаты могут свидетельствовать о том, что наблюдаемые эффекты исследуемых флавоноидов обусловлены их взаимодействием с этими каналами.

Для проверки участия Ca^{2+} -каналов в обеспечении релаксантного эффекта исследуемых флавоноидов, было изучено их влияние на сокращения препаратов аорты, индуцируемые кумулятивным добавлением CaCl_2 в безкальциевую среду, содержащую 50 мМ KCl. В этих экспериментах увеличение концентрации CaCl_2 (0-2,5 мМ) в среде инкубации сопровождалось ступенчатым ростом силы сокращения аорты, обусловленного поступлением ионов Ca^{2+} через Ca^{2+} -каналы (рис.1, А). В этих экспериментах внесение в среду инкубации исследуемых флавоноидов и их производных сопровождалось заметным подавлением развития сокращений в ответ на увеличение CaCl_2 . Как можно видеть на рис. 1, А в присутствии 50-40 мкМ пуликарин и диацетат-пуликарин сила Ca^{2+} -индуцированного сокращения препаратов аорты уменьшается на $72,8 \pm 4,2\%$ и $81,8 \pm 2,9\%$ от контроля, соответственно. Аналогичное подавление силы Ca^{2+} -индуцированных сокращений препаратов аорты вызывали хризозеириол, лютеолин и их производные.

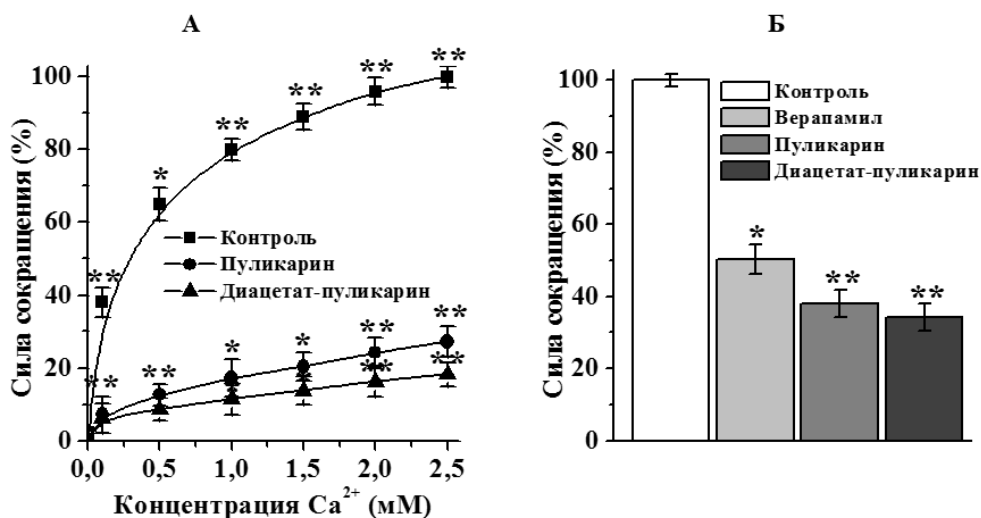


Рис. 1. Зависимость релаксантного действия флавоноидов пуликарин и диацетат-пуликарин от $[\text{Ca}^{2+}]_0$ и состояния Ca^{2+} -каналов. А-влияние пуликарин (50мкМ) и диацетат-пуликарин (40мкМ) на сокращения аорты крысы, индуцированные кумулятивным добавлением CaCl_2 в растворы Кребса не содержащих ионы Ca^{2+} . По оси абсцисс-концентрация CaCl_2 . Б- влияние верапамила (0,1 мкМ) на релаксантный эффект пуликарин (26,7мкМ) и диацетат-пуликарин (15,6 мкМ). По оси ординат - сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 50 мМ KCl и принятой за 100%. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; n=5-6).

Эти результаты указывают на то, что релаксантный эффект исследуемых флавоноидов может быть связан с блокадой Ca^{2+} -каналов, которая

сопровождается уменьшением поступления ионов Ca^{2+} в ГМК, снижением уровня $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в них и, как следствие, подавлением их сократительной активности. С целью уточнения роли Ca^{2+}_L -каналов в обеспечении релаксантного действия флавоноидов и их производных были изучены их эффекты в присутствии блокатора этих каналов верапамила (ВП). В этих экспериментах было обнаружено, что в присутствии ВП эффекты пуликарина (26,7 мкМ) и диацетат-пуликарина (15,6 мкМ) дополнительно снижались на $11,9 \pm 4,1\%$ и $15,8 \pm 4,1\%$ от контроля, соответственно (рис.1, Б.). Аналогично ВП влиял и на эффекты хризозериола, лютеолина и их производных на силу КСI-индуцируемых сокращений аорты.

Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что релаксантное действие исследуемых флавоноидов и их производных действительно связано с блокадой Ca^{2+}_L -каналов и подавлением поступления ионов Ca^{2+} в ГМК. Однако, частичное сохранение релаксантного эффекта исследуемых флавоноидов в присутствии ВП указывает на то, что в его обеспечении, наряду с блокадой Ca^{2+}_L -каналов, возможно участвуют и другие механизмы транспорта ионов Ca^{2+} в ГМК.

Важную роль в регуляции Ca^{2+} гомеостаза в ГМК, наряду с Ca^{2+}_L -каналами, также играют рецептор-управляемые Ca^{2+} -каналы (Ca^{2+}_R), активация которых происходит при стимуляции α -адренорецепторов (McFadzean & Gibson, 2002; Jackson, 2000). В связи с этим для проверки участия Ca^{2+}_R -каналов в обеспечении релаксантного действия исследуемых флавоноидов были изучены их эффекты на сокращения препаратов аорты, индуцируемые агонистом α -адренорецепторов - фенилэфрином (ФЭ).

В этих экспериментах было обнаружено, что добавление пуликарина и диацетат-пуликарина сопровождается уменьшением силы ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты на $66,6 \pm 3,3\%$ и $79,8 \pm 3,1\%$, от контроля, соответственно (рис. 2, А). Аналогичное подавление силы ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты вызывали хризозериол, лютеолин и их производные.

Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что исследуемые флавоноиды эффективно подавляют сокращения препаратов аорты, индуцированные ФЭ, которые в основном обеспечиваются ионами Ca^{2+} поступающими через Ca^{2+}_R -каналы плазмалеммы. Это находит подтверждение в экспериментах с блокатором α -адренорецепторов - фентоламином (ФА), в которых эффекты 20 мкМ пуликарина и диацетат-пуликарина на силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшались на $12,1 \pm 4,2\%$ и $32,5 \pm 3,8\%$, от контроля, полученного в отсутствии ФА, соответственно (рис. 2, Б). Аналогичное влияние ФА оказывал и на эффекты хризозериола, лютеолина и их производных на силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты. Результаты этой серии экспериментов являются дополнительным свидетельством участия Ca^{2+}_R -каналов в обеспечении релаксантного эффекта исследуемых флавоноидов.

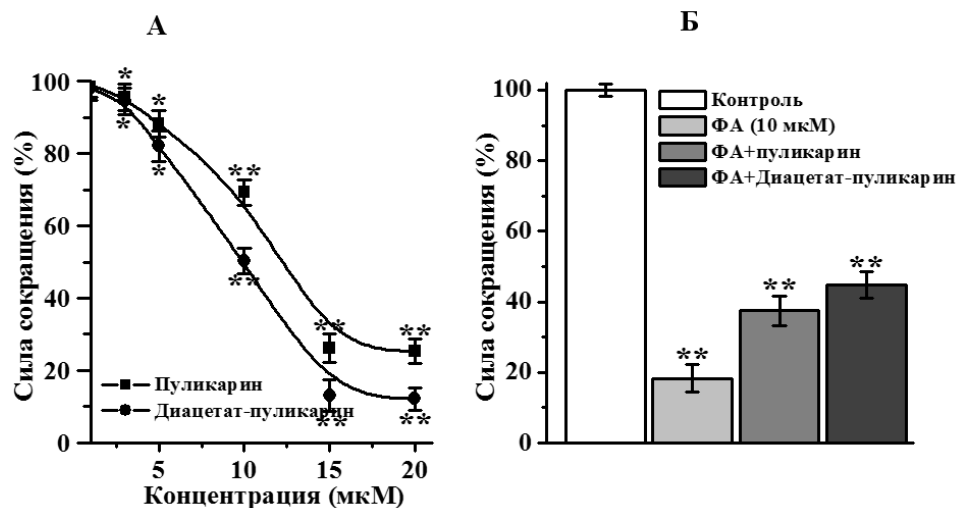


Рис. 2. Влияние флавоноидов пул리카рина и диацетат-пул리카рина на силу фенилэфрин -индуцированных сокращений препаратов аорты крысы. А -влияние пул리카рина (20 мкМ) и диацетат-пул리카рина (20 мкМ) на силу сокращений препаратов аорты, индуцируемую 1 мкМ ФЭ в присутствии 1 мкМ верапамила. По оси абсцисс-концентрация флавоноидов. Б- влияние фентоламина (10 мкМ) на релаксантный эффект пул리카рина (20мкМ) и диацетат-пул리카рина (20мкМ). По оси ординат сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 1 мкМ ФЭ в отсутствии верапамила и принятой за 100%. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n = 5-6$).

Таким образом результаты экспериментов, выполненных в условиях КС1- и ФЭ- индуцированной контрактуры, свидетельствуют о том, что исследуемые флавоноиды обладают выраженным релаксантным действием в основе которого лежит уменьшение уровня $[Ca^{2+}]_i$ в ГМК, обусловленное блокадой поступления ионов Ca^{2+} через Ca^{2+}_L - и Ca^{2+}_R -каналы.

Вместе с тем важную роль в регуляции уровня $[Ca^{2+}]_i$ в ГМК играет также Na^+/Ca^{2+} обменник, который участвует в поддержании внутриклеточного баланса ионов Ca^{2+} в гладкой мускулатуре и регуляции её сократительной активности (Philipson, 2002; Zhao et al., 2008). Для проверки участия Na^+/Ca^{2+} -обменника в релаксантном действии исследуемых флавоноидов было изучено их влияние на сокращения препаратов аорты, индуцируемые раствором Кребса не содержащим ионы Na^+ , которые обеспечиваются ионами Ca^{2+} , поступающими в ГМК через Na^+/Ca^{2+} -обменник (Zhao and Majewski, 2008; Tykocki et al., 2012). В этих экспериментах было обнаружено, что в присутствии пул리카рина и диацетат-пул리카рина сила сокращения препаратов аорты, индуцированная без- Na^+ раствором Кребса, уменьшается на $71,6 \pm 2,7\%$ и $79,5 \pm 3,1\%$ от контроля, соответственно (рис.3, А).

Аналогичное влияние на силу сокращений препаратов аорты, индуцируемую без- Na^+ раствором, оказывали хризоэриол, лютеолин и их производные. Результаты этих экспериментов указывают на то, что исследуемые флавоноиды также способны подавлять сокращения препаратов аорты, индуцируемые без- Na^+ раствором. Дополнительным подтверждением влияния исследуемых флавоноидов на транспорт ионов Ca^{2+} через

$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменник является результатом экспериментов с его блокатором - KB-R7943, в присутствии которого эффекты флавоноидов на силу сокращения препаратов аорты, индуцируемую без- Na^+ раствором Кребса, существенно снижались (рис. 3, Б). Результаты этих экспериментов являются свидетельством участия $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменника в обеспечении релаксантного эффекта исследуемых флавоноидов.

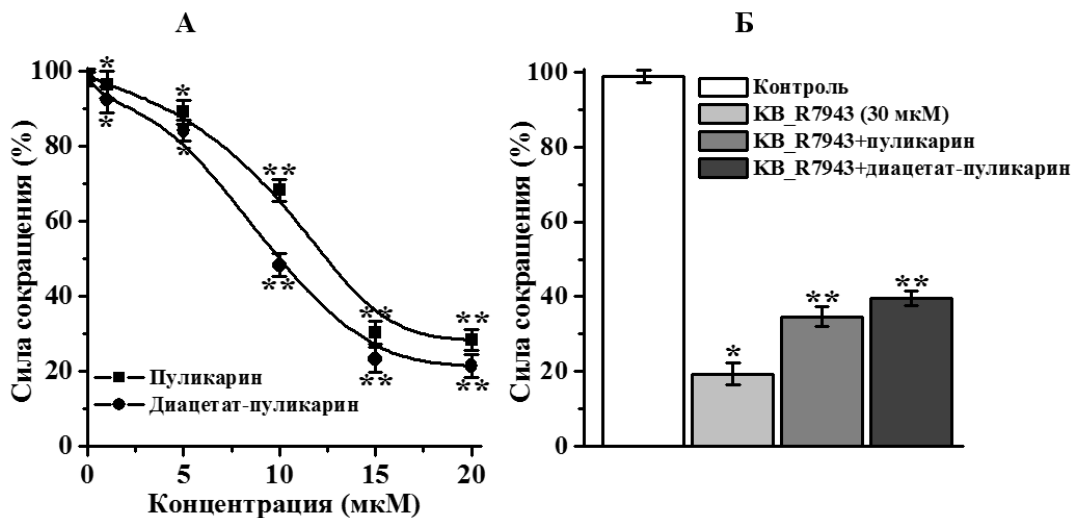


Рис. 3. Влияние флавоноидов пуликарина и диацетат-пуликарина на силу сокращений препаратов аорты крысы, индуцируемую без- Na^+ раствором Кребса. А-влияние пуликарина и диацетат-пуликарина на силу сокращения препаратов аорты, индуцируемую раствором Кребса без ионов Na^+ . По оси абсцисс концентрация флавоноидов. Б-влияние блокатора $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменника KB-R7943 (30 мкМ) на эффекты пуликарина (20 мкМ) и диацетат-пуликарина (20 мкМ) на силу сокращения препаратов аорты крысы, индуцированную без- Na^+ раствором Кребса. По оси ординат сила сокращения аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной без Na^+ раствором и принятой за 100%. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n = 5-6$).

Анализ данных, полученных в этой серии экспериментов, позволил заключить, что релаксантное действие, исследуемых флавоноидов, связано не только с блокадой $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ - и $\text{Ca}^{2+}_{\text{R}}$ -каналов, но и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника плазмолеммы ГМК. Важную роль в регуляции $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ - и $\text{Ca}^{2+}_{\text{R}}$ -каналов, а также $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника плазмолеммы ГМК играют калиевые каналы, которую они обеспечивают благодаря модуляции мембранного потенциала (Murphy & Braayden, 1996).

В связи с этим для проверки возможного участия калиевых каналов в обеспечении релаксантного действия исследуемых флавоноидов их эффекты были изучены в присутствии блокаторов потенциал-зависимых (K_V) и АТФ-зависимых ($\text{K}_{\text{АТФ}}$) калиевых каналов - тетраэтиламмония (ТЭА) и глибенкламида. При этом было обнаружено, что в присутствии 1 мМ ТЭА, эффекты 30 мкМ пуликарина и его производного диацетат-пуликарина, на силу KCl -индуцированного сокращения препаратов аорты уменьшаются всего на $13 \pm 3,2\%$ и $10,8 \pm 3,8\%$ от контроля, соответственно (рис. 4, А).

Аналогично ТЭА влиял и на эффекты хризозериола, лютеолина и их производных на силу КС1-индуцированного сокращения препаратов аорты.

При этом было обнаружено, что более существенное влияние на релаксантный эффект исследуемых флавоноидов оказывал блокатор $K_{ATФ}$ -каналов глибенкламид. При этом было установлено, что в присутствии 12 мкМ глибенкламида, эффекты 30 мкМ пуликарина и его производного диацетат-пуликарина, на силу КС1-индуцированного сокращения препаратов аорты уменьшаются на $18,8 \pm 3,2\%$ и $23,2 \pm 3,9\%$ от контроля, соответственно (рис. 4, Б). В аналогичных экспериментах глибенкламид аналогично влиял и на релаксантные эффекты хризозериола, лютеолина и их производных.

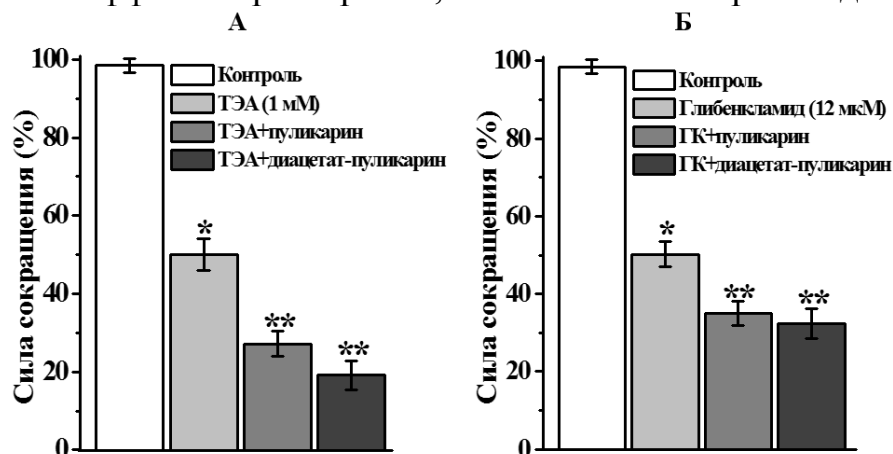


Рис. 4. Влияние блокаторов K^+ -каналов тетроэтиламмоний и глибенкламида на релаксантный эффект флавоноидов пуликарина и диацетат-пуликарина в условиях КС1-индуцированной контрактуры препаратов аорты крысы. А - влияние ТЭА (1 мМ) на эффекты пуликарина (30 мкМ) и диацетат-пуликарина на силу сокращения препаратов аорты, индуцированную 20 мМ КС1. Б- влияние глибенкламида (12 мкМ) на эффекты пуликарина и диацетат-пуликарина на силу сокращения препаратов аорты, индуцированную 20 мМ КС1. По оси ординат сила сокращения аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 20 мМ КС1 и принятой за 100%. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n = 5-7$).

Эти данные могут указывать на то, что $K_{ATФ}$ -каналы ГМК играют важную роль в обеспечении релаксантного действия исследуемых флавоноидов. При этом, взаимодействуя с $K_{ATФ}$ -каналами и активируя их, флавоноиды могут способствовать гиперполяризации мембраны ГМК, сопровождаемой инактивацией Ca^{2+}_L -каналов, снижением $[Ca^{2+}]_i$ и расслаблением гладкой мускулатуры.

В четвертой главе диссертации, озаглавленной «Изучение роли Ca^{2+} -транспортирующих систем саркоплазматического ретикулума и эндотелия в обеспечении релаксантного действия флавоноидов пуликарина, хризозериола, лютеолина и их производных» представлены результаты исследования действия пуликарина, хризозериола, лютеолина и их производных на функцию Ca^{2+} -транспортирующих систем саркоплазматического ретикулума и эндотелия кровеносных сосудов.

Учитывая важную роль Ca^{2+} -транспортирующих систем саркоплазматического ретикулума, в обеспечении сократительной активности ГМК (Wier et al., 1992), были изучены эффекты флавоноидов на сокращения препаратов аорты, индуцируемые ФЭ, в безкальциевых растворах Кребса, которые в основном обеспечиваются ионами Ca^{2+} , высвобождаемыми из СР через IP_3R (Tykocski et al., 2013). При этом было обнаружено, что в присутствии 20 мкМ пуликарина и диацетат-пуликарина сила ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшается на $64,5 \pm 3,3\%$ и $77,7 \pm 3,4\%$ от контроля, соответственно. Аналогичное подавление силы ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты вызывали хризозеириол, лютеолин и их производные.

Эти результаты свидетельствуют о том, что исследуемые флавоноиды эффективно подавляют сокращения препаратов аорты, индуцируемые ФЭ в растворах Кребса не содержащих ионы Ca^{2+} , которые обеспечиваются в основном ионами Ca^{2+} высвобождаемыми из СР через IP_3R . Дополнительное подтверждение влияния флавоноидов на высвобождение ионов Ca^{2+} из СР было получено с кофеином, который усиливает высвобождение ионов Ca^{2+} из последнего (Watanabe et al., 1992). В этих экспериментах, предварительная инкубация препаратов аорты с 20 мкМ пуликарина и диацетат-пуликарина сопровождалась снижением силы сокращений препаратов аорты, индуцируемой кофеином, на $80,3 \pm 2,6\%$ и $88,1 \pm 2,1\%$ от контроля, соответственно. Аналогичное подавление силы кофеин-индуцированных сокращений препаратов аорты вызывали хризозеириол и лютеолин, а также их производные. Эти результаты являются дополнительным свидетельством того, что исследуемые флавоноиды могут подавлять сокращения препаратов аорты, индуцированные ФЭ и кофеином, путем ингибирования высвобождения ионов Ca^{2+} из СР через IP_3R . Эти данные указывают на то, что релаксанта́нный эффект исследуемых флавоноидов также может быть связан с модификацией функции IP_3R , обеспечивающего высвобождение ионов Ca^{2+} из СР.

Важную роль в регуляции сократительной активности ГМК играют эндотелиальные клетки, которые продуцируя ряд вазоактивных факторов, обеспечивают модуляцию функционального состояния ГМК и поддержание сосудистого тонуса (Baretella & Vanhoutte, 2016). Центральную роль при этом играет оксид азота (NO), который синтезируется в эндотелиальных клетках синтазой NO (NOS) и является ключевым медиатором процесса расслабления гладкой мускулатуры кровеносных сосудов (Bredt & Snyder, 1994; Francis et al., 2010). В связи с этим для проверки возможного участия эндотелия в обеспечении релаксанта́нного действия исследуемых флавоноидов, были изучены их эффекты на препаратах аорты с удаленным эндотелием. В этих экспериментах было установлено, что на препаратах с удаленным эндотелием, пуликарин (20 мкМ) и его производное диацетат-пуликарин (20 мкМ) подавляют силу ФЭ-

индуцированных сокращений на $29,5 \pm 3,7\%$ и $33,3 \pm 3,7\%$, в то время, как на препаратах с интактным эндотелием этот эффект флавоноидов составлял $74,6 \pm 3,1\%$ и $88,0 \pm 3,1\%$, соответственно (рис. 5, А).

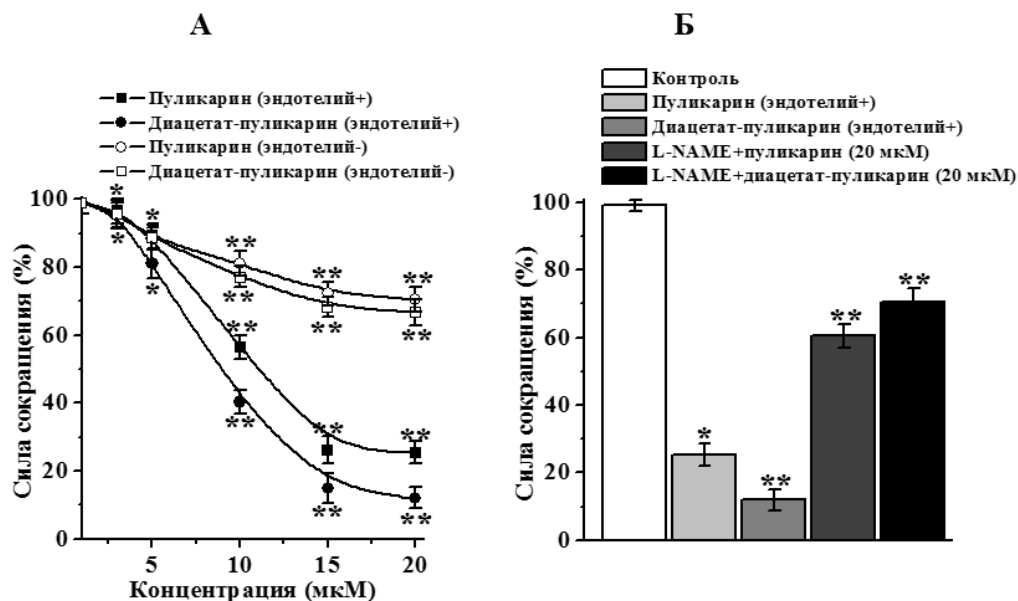


Рис. 5. Зависимость релаксантного действия флавоноидов пуликарина и диацетат-пуликарина от функциональной активности эндотелия. А. Влияние флавоноидов пуликарина и диацетат-пуликарина на силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты с интактным (+) и с удаленным (-) эндотелием. По оси абсцисс-концентрация флавоноидов. Б. Влияние L-NAME (100 мкМ) на эффекты пуликарина и диацетат-пуликарина на силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты. По оси ординат - сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 1мкМ ФЭ, и принятой за 100%. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n = 5$).

Удаление эндотелия, аналогично сказывалось и на релаксантных эффектах флавоноидов хризозериола, лютеолина и их производных. Результаты этих экспериментов могут свидетельствовать о важной роли эндотелия в обеспечении релаксантного действия исследуемых флавоноидов. Это находит подтверждение в экспериментах с ингибитором NO-синтазы - L-NAME (структурного аналога L-аргинина). В этих экспериментах, было обнаружено, что в присутствии 100 мкМ L-NAME, эффекты пуликарина (20 мкМ) и его производного диацетат-пуликарина (20 мкМ) на силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшаются от $74,6 \pm 3,1\%$ и $88,0 \pm 3,1\%$ до $39,4 \pm 3,5\%$ и $29,3 \pm 3,2\%$, соответственно (рис.5, Б).

Аналогичное влияние оказывал L-NAME и на эффекты флавоноидов хризозериола, лютеолина и их производных, причем его присутствие более существенно сказывалось на эффектах последних.

Результаты, этой серии экспериментов, убедительно свидетельствуют о том, что исследуемые флавоноиды и их производные обладают выраженным релаксантным действием, имеющим эндотелий-зависимый характер. Подавление релаксантного эффекта флавоноидов при удалении эндотелия и в

присутствии L-NAME свидетельствует о важной роли NO-синтазы в его обеспечении.

Таким образом данные полученные в этих исследованиях свидетельствуют о том, что флавоноиды пуликарин, хризоэриол, лютеолин и их производные обладают выраженным релаксантным действием, в обеспечении которого участвуют множественные механизмы. В основе этого действия исследуемых флавоноидов лежит уменьшение уровня $[Ca^{2+}]_i$ в ГМК, которое в условиях KCl-индуцированной контрактуры обусловлено блокадой Ca^{2+}_L -каналов. В условиях ФЭ-индуцированной контрактуры, вызываемое исследуемыми флавоноидами уменьшение уровня $[Ca^{2+}]_i$ в ГМК, может обеспечиваться благодаря подавлению поступления ионов Ca^{2+} через Ca^{2+}_R -каналы и ингибированию их высвобождения из СР. Существенное снижение релаксантного действия исследуемых флавоноидов при удалении эндотелия и в присутствии L-NAME, свидетельствует об участии в его обеспечении NO и sGC/cGMP/PKG сигнального пути. Активируя NO-синтазу и sGC/cGMP/PKG сигнальный путь, эти флавоноиды могут обеспечить инактивацию Ca^{2+}_L и Ca^{2+}_R -каналов плазмалеммы, а также IP_3R саркоплазматического ретикулума, сопровождаемую уменьшением уровня $[Ca^{2+}]_i$ в ГМК. Важный вклад в обеспечение релаксантного действия этих флавоноидов могут вносить и K^+_{ATP} каналы, активируя которые они могут вызывать гиперполяризацию мембраны ГМК и инактивацию Ca^{2+}_L -каналов. Инактивация Ca^{2+}_L -каналов, в свою очередь, может сопровождаться уменьшением поступления ионов Ca^{2+} в ГМК, снижением уровня $[Ca^{2+}]_i$ в них и их расслаблением. Все обнаруженные эффекты исследуемых флавоноидов, в условиях KCl- и ФЭ-индуцированной контрактуры, были более выражены у их производных, что объясняется наличием в их структуре ацетильных групп, благодаря которым может обеспечиваться высокая липофильность и, соответственно, их мембранная и релаксантная активность. При этом, модификация структуры флавоноида лютеолина, путем введения в его структуру трех ацетильных групп в положениях С (3',4',7), приводила к наиболее существенному (на 15-20%) усилению эффектов 5-гидрокси-7,3',4'-триацетилоксифлавона во всех экспериментальных условиях.

ВЫВОДЫ

1. Флавоноиды пуликарин, хризоэриол, лютеолин и их производные обладают выраженным релаксантным действием, в основе которого лежит уменьшение уровня $[Ca^{2+}]_i$ в гладкомышечных клетках, в обеспечении, которого задействованы множественные механизмы.

2. В условиях KCl-индуцированной контрактуры, вызываемое исследуемыми флавоноидами уменьшение уровня $[Ca^{2+}]_i$ в гладкомышечных

клеток, в основном обеспечивается благодаря подавлению поступления ионов Ca^{2+} через $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ - каналы плазмалеммы

3. В условиях фенилэфрин-индуцированной контрактуры, вызываемое исследуемыми флавоноидами уменьшение уровня $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в гладкомышечных клетках, может обеспечиваться благодаря подавлению поступления ионов Ca^{2+} через $\text{Ca}^{2+}_{\text{R}}$ -каналы и ингибированию их высвобождения из саркоплазматик ретикулум через IP_3R .

4. Релаксанта́нный эффект исследуемых флавоноидов имеет эндотелий-зависимый характер и связан с активацией NO/sGC/cGMP/PKG сигнального пути, сопровождаемой инактивацией $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ и $\text{Ca}^{2+}_{\text{R}}$ - каналов плазмалеммы гладкомышечных клеток, а также IP_3R саркоплазматического ретикулума.

5. Модификация структуры флавоноидов пуликарина, хризое́рола и лютеолина, путем введения в их структуру ацетильных групп в положениях $\text{C}(3',6)$, $\text{C}(7,4')$ и $\text{C}(3',4',7)$, сопровождается значительным усилением релаксанта́нной активности их производных.

6. Усиление релаксанта́нной активности производных исследуемых флавоноидов связано с наличием в их структуре ацетильных групп, благодаря, которым обеспечивается их высокая липофильность и, соответственно, мембранная и релаксанта́нная активность.

7. Производное флавоноида лютеолина, 5-гидрокси-7,3',4'-триацетилоксифлаво́н, обладающий наиболее выраженной релаксанта́нной активностью, является перспективным соединением-лидером для разработки и создания на его основе новых эффективных гипотензивных средств.

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

INSTITUTE OF BIOPHYSICS AND BIOCHEMISTRY

OMONTURDIYEV SIROJIDDIN ZOIROVICH

**COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE MECHANISM OF
ACTION OF SOME FLAVONOIDS AND THEIR DERIVATIVES ON THE
CONTRACTILE ACTIVITY OF RAT AORTIC SMOOTH MUSCLE**

03.00.08 - Physiology human and animals

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

Tashkent - 2021

This dissertation of PhD has been registered with the number B2019.4.PhD/B403 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 is posted in three (Uzbek, Russian, English (resume)) languages on the website of the Scientific Council and on the website of «ZiyoNet» information and educational portal.


| | |
|-------------------------------|--|
| Scientific supervisor: | Usmanov Pulat Bekmurotovich doctor of biological sciences, professor |
| Official opponents: | Pozilov Mamurjon Komiljonovich doctor of biological sciences Kulkaraev Abdusalim Karimovich candidate of medical sciences |
| Leading organisation: | Karshi State University |


The defence of the dissertation will take place on «20» January 2021 year 14⁰⁰ at the meeting of the scientific council DSc.03/30.12.2019.B.01.13 of scientific degrees at the Institute of Biophysics and biochemistry at the National University of Uzbekistan at the following Address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Students town, University St. 174. Phone: (+99871) 246-68-96.


The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of Institute of Biophysics and biochemistry, National University of Uzbekistan (registration number № 22). Address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Students town, University St. 174. Phone: (+99871) 246-68-96, e-mail ibb-nuu@mail.ru

The abstract of dissertation is distributed on «5» January 2021.
(Protocol at the register № _____ dated « _____ » _____ 2021)




Sabirov Ravshan Zairovich
Chairman of scientific degrees awarding
of the scientific council, D.B.Sc., academician


Asrarov Muzaffar Islamovich
Scientific secretary of scientific degrees awarding
of the scientific council, D.B.Sc., professor.


Axmedjanov Iskandar Gulymovich
Chairman of the seminar of scientific degrees
awarding of the scientific council, D.B.Sc., professor

INTRODUCTION (abstract of PhD dissertation)

The aim of the study is a comparative characteristic of the mechanism of action of some flavonoids and their derivatives on the contractile activity of the smooth musculature of the rat's aorta.

The object of the study is the flavonoids pulicarin, chrysoeryol, and luteolin isolated from the plant's *Inula caspica* and *Pulicaria gnaphalodes*, and their derivatives, as well as a preparation of the rat aorta.

The scientific novelty of the research is as follows: it was found that the flavonoids pulicarin, chrysoeriol, luteolin, and their derivatives have a pronounced relaxing effect based on a decrease in the level of $[Ca^{2+}]_i$ in the SMC;

it was found that under the conditions of KCl-induced contracture, the relaxant effect of the studied flavonoids is mainly due to the blockade of Ca^{2+}_L -channels;

it was shown that under the conditions of PE-induced contracture the relaxant effect of the studied flavonoids is due to the suppression of the influx of Ca^{2+} ions through the Ca^{2+}_R -channels and inhibition of their release from the SR;

it was found that the modification of the structure of the flavonoids pulicarin, chrysoerol, and luteolin by introducing acetyl groups into their structure at positions C (3', 6), C (7, 4'), and C (3', 4', 7), respectively, accompanied by a significant increase in the relaxant activity of their derivatives.

Implementation of research results. Based on the results obtained on the mechanism of the relaxant action of the flavonoids pulicarin, luteolin, chrysoeriol, and their derivatives:

the features of the relaxant action of the investigated flavonoids were used in the implementation of project No. 31110103908 «The International Cooperation and Exchange of the National Natural Science Foundation of China» at the Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, the Chinese Academy of Sciences (Reference from the Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, CAS from June 25, 2019). As a result, information on the characteristics of the pharmacological effects of compounds produced by plants growing in arid regions was significantly expanded;

the detected relaxant activity of pulicarin, due to the modification of the function of the L-type Ca^{2+} channels and the Na^+/Ca^{2+} -exchanger, was used at the Institute of Plant Chemistry of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, in the process of developing potential antioxidant agents within the framework of the FA-A11-T040 project «Creation of an antioxidant drug» Pulicarine «Based on the components of the plant *Pulicaria gnaphalodes*» (Reference of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan dated November 15, 2019 No. 4/1255-3036). As a result, the drug «Pulicarine» was developed and created, which has a high antioxidant activity and an effective cardioprotective effect.

The structure and volume of the thesis. The structure of the thesis consists of an introduction, four chapters, conclusions, and a list of references. The volume of the thesis is 106 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Омонтурдиев С.З., Мирзаева Ю.Т., Усманов П.Б., Комилов Б.Ж., Эшбакова К.А. Хризозериол флавоноидининг каламуш аорта препаратига релаксант таъсир механизми // Инфекция, иммунитет и фармакология. - 2017. - №2. - Б. 150-154. (03.00.00; №7).

2. Омонтурдиев С.З., Усманов П.Б., Хушматов Ш.С., Мирзаева Ю.Т., Рустамов Ш.Ю., Комилов Б.Ж. 3',4',5,7-тетрагидрокси-флавоноидининг релаксант таъсирини ўрганиш // Инфекция, иммунитет и фармакология. - 2017. - №4. - С. 46-51. (03.00.00; №7).

3. Омонтурдиев С.З., Усманов П.Б., Бакирова Ш.З., Зарипов А.А., Хушматов Ш.С., Комилов Б.Ж. Влияние флавоноида хризозериола на сократительную активность гладкомышечных клеток аорты крысы // Тошкент тиббиёт академияси ахборотномаси. - 2019. - №3. - С. 60-63. (03.00.00; №16).

4. Омонтурдиев С.З., Усманов П.Б., Хушматов Ш.С., Эшбакова К.А., Комилов Б.Ж. Релаксантное действие флавоноида диацетат-пуликарина на сократительную активность гладкомышечных клеток аорты крысы // Universum: химия и биология (Россия): - 2019. - № 9/63. - С. 5-9. (02.00.00 №1).

5. Омонтурдиев С.З., Мирзаева Ю.Т., Рахмонова Ч.Ф., Эшбакова К.А., Усманов П.Б. Пуликарин флавоноидининг каламуш аорта силлиқ мускул препаратига релаксант таъсирини ўрганиш // Инфекция, иммунитет и фармакология. - 2020. - №2. - С. 121-128. (03.00.00; №7).

II бўлим (II часть; II part)

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

7. Омонтурдиев С.З., Хушматов Ш.С., Усманов П.Б., Тошматов З.О., Эшбакова К.А. Релаксантное действие флавоноида лютеолина на сократительную активность гладких мышц аорты крысы // Акад А. Қосимовнинг 75 йиллигига бағишланган «Ўзбекистонда биотехнологиянинг ривожланиши ва истиқболлари» мавзусидаги илмий-амалий анжуман материаллари. - Андижон, - 2012. - Б. 146-148.

8. Омонтурдиев С.З., Хушматов Ш.С., Усманов П.Б., Тошматов З.О., Эшбакова К.А. Эндотелий-зависимое релаксантное действие флавоноида пуликарина // Международная конференция молодых ученых

«Экспериментальная и теоретическая биофизика». - Пущино (Россия), - 2012. - С. 43-44.

9. Омонтурдиев С.З., Усманов П.Б., Комилов Б.Ж., Эшбакова К.А. // Изучение механизма релаксантного действия флавоноида 5,7,4'-тригидрокси-3'-метоксифлавона (хризоеврола). Сборник тезисов Международной научной конференции. Актуальные проблемы развития биоорганической химии - Ташкент. - 2013. - С.104-105.

10. Омонтурдиев С.З., Рустамов Ш.Ю., Комилов Б.Ж. Действие флавоноида хризоеврола на сократительную активность гладкомышечных клеток аорты крысы // XVIII Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина - человек и его здоровье». - Санкт-Петербург. - 2015. - С. 393-394.

11. Omonturdiev S.Z., Mirzaeva Y.T., Usmanov P.B., Komilov B.J., Eshbakova K.A. Effects of flavonoid chrysoeriol on contractile activity of smooth muscle cells of rat aorta // 11 th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Turkey. October 1-4 in Antalya, - 2015. - P. 259.

12. Omonturdiev S.Z., Zaynabiddinov A.E., Esimbetov A.T., Komilov B.J. Studying the effect of flavonoid luteolin on $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ - exchanger in smooth muscle cells of rat aorta // Scientific Conference of PhD. Students of FAFR and FBFS, SUA in Nitra. (Slovak University of Agriculture in Nitra). - Slovak Republic, 10th November, - 2016. - P. 39.

13. Омонтурдиев С.З., Зайнобиддинов А.Э., Рустамов Ш.Ю., Махмудов Р.Р. Влияние флавоноида лютеолина на $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник гладкомышечных клеток аорты // Актуальные проблемы современной медицины и Фармации, Сборник тезисов Международной научной конференции. Минск: БГМУ, - 2017. - С. 1492.

14. Омонтурдиев С.З., Мирзаева Ю.Т., Усманов П.Б., Эшбакова К.А. Каламуш аорта силлиқ мускул препаратига пуликарин флавоноидининг таъсирини ўрганиш // Биофизика ва биокимёнинг ютуқлари ва истиқболлари. - Тошкент. - 2019. - Б. 67-69.

15. Омонтурдиев С.З., Комилов Б.Ж., Усманов П.Б., Зарипов А.А., Бакирова Ш.З. 5-гидрокси-3'-метокси-7,4'-диацетил-флавоноининг каламуш аорта силлиқ мускулига таъсирини ўрганиш // Биофизика ва биокимёнинг ютуқлари ва истиқболлари. - Тошкент. - 2019. - Б. 69-71.

16. Омонтурдиев С.З., Рахмонова Ч.Ф., Зарипов А.А., Эшбакова К.А., Усманов П.Б. Релаксантное действие флавоноида диацетат-пуликарина на $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник гладкомышечных клеток аорты // Биофизика ва биокимё муаммолари илмий конференция материаллари. Конференция академик Тошмухаммедов Бекжон Ойбековичнинг 85-йиллик ва академик Саатов Талъат Саатовичнинг 80-йиллик таваллудига бағишланади. Тошкент. -2020. - Б. 116-117.

Автореферат «ЎзМУ хабарлари» журнали таҳририятида таҳрирдан ўтказилди (21.12.2020 й.).