

**НАМАНГАН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ  
ДАРАЖА БЕРУВЧИ PhD.28.09.2018.V.76.01  
РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**НАМАНГАН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ**

**МАМАЖАНОВ МУХТОРЖОН МУРОДУЛЛАЕВИЧ**

**МИТОХОНДРИЯЛАРНИ ФЛАВОСАН, 3,5,7,2',6'-ПЕНТАГИДРОКСИ  
ФЛАВАНОН ВА 6"-n-КУМАРОИЛПРУНИНЛАРНИНГ ТАЪСИРИГА  
РЕАКЦИЯСИ ВА ФЛАВОСАННИ АНТИТОКСИК САМАРАСИ**

**03.00.08 – Одам ва ҳайвонлар физиологияси**

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

**Наманган – 2019**

**Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси**

**Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)**

**Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)**

**Мамажанов Мухторжон Муродуллаевич**

Митохондриларни флавосан, 3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванон ва 6''-п-кумароилпрунинларнинг таъсирига реакцияси ва флавосанни антитоксик самараси.....

**5**

**Мамажанов Мухторжон Муродуллаевич**

Реакция митохондрий на действия флавосана, 3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванона и 6''-п – кумароилпрунина и антитоксический эффект флавосана.....

**21**

**Mamajanov Mukhtorjon Murodullaevich**

The mitochondrial reaction to the actions of flavosan, 3,5,7,2',6'-pentahydroxyflavanone and 6''-n-coumaroylprunin and the antitoxic effect of flavosan .....

**39**

**Эълон қилинган ишлар рўйхати**

Список опубликован

List of published works.....

**43**

**НАМАНГАН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ  
ДАРАЖА БЕРУВЧИ PhD.28.09.2018.V.76.01  
РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**НАМАНГАН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ**

**МАМАЖАНОВ МУХТОРЖОН МУРОДУЛЛАЕВИЧ**

**МИТОХОНДРИЯЛАРНИ ФЛАВОСАН, 3,5,7,2',6'-ПЕНТАГИДРОКСИ  
ФЛАВАНОН ВА 6"-n-КУМАРОИЛПРУНИНЛАРНИНГ ТАЪСИРИГА  
РЕАКЦИЯСИ ВА ФЛАВОСАННИ АНТИТОКСИК САМАРАСИ**

**03.00.08 – Одам ва ҳайвонлар физиологияси**

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

**Наманган – 2019**

**Фалсафа доктори (Doctor of Philosophy) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2017.3.PhD/B106 рақам билан рўйхатга олинган.**

Докторлик диссертацияси Наманган давлат университетида бажарилган.

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

**Илмий раҳбар:**

**Алматов Карим Тажибаевич**

биология фанлари доктори, профессор

**Расмий оппонентлар:**

**Қодиров Шокир Қодирович**

тиббиёт фанлари доктори, профессор

**Позилов Маъмуржон Комилжонович**

биология фанлари бўйича фалсафа доктори

**Етакчи ташкилот:**

Низомий номидаги Тошкент давлат педагогика университети

Диссертация ҳимояси Наманган давлат университети ҳузуридаги илмий даража берувчи PhD.28.09.2018.В.76.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2019 йил «28» феврал соат 10<sup>00</sup> даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 160119, Наманган шаҳри, Уйчи кўчаси, 316-уй. Тел.: (+99869) 227-06-12; факс: (+99869) 227-07-61; e-mail: [info@namdu.uz](mailto:info@namdu.uz)).

Диссертация билан Наманган давлат университетининг Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (14 рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 160119, Наманган шаҳри, Уйчи кўчаси, 316-уй. Тел.: (+99869) 227-29-81.)

Диссертация автореферати 2019 йил «13» феврал куни тарқатилди.  
(2019 йил «13» феврал даги № 1 рақамли реестр баённомаси)

**А.Э.Зайнабидинов**

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

**Х.Э.Эргашева**

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш илмий котиби, биология фанлари бўйича фалсафа доктори

**А.Р.Батошов**

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

## Кириш (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

**Диссертация мавзусининг дозарблиги ва зарурати.** Дунёда инсон саломатлигига ҳавф соладиган касаллик турларининг ортиб бориши табиий ўсимлик хом ашёлари асосида олинадиган доривор препаратлар ишлаб чиқариш ҳажмининг йилдан-йилга ошиб боришига олиб келмоқда. Бу ўринда, фармакологик таъсир кўлами кенг бўлган ўсимлик субстанциялари табиатининг турличалиги объектларни клиник бўлмаган тадқиқотларда синаш усуллари самарадорлигини ошириш зарурлигини кўрсатмоқда. Шунга кўра, терапевтик фаоллиги юқори бўлган ўсимлик субстанцияларини аниқлаш ва уларни лаборатория амалиётида синаш усулларини такомиллаштириш муҳим илмий ва амалий аҳамиятга эга.

Жаҳонда флавоноидларни иссиққонли ҳайвонлар организмига таъсирини баҳолаш ва халқаро стандартлар асосида уларнинг ижобий хоссаларини лаборатория амалиётида синаш усуллари самарадорлигини оширишга катта эътибор қаратилмоқда. Бу борада, жумладан, флавоноидлар турли синфларининг алоҳида касаллик тўқима медиаторлари фаолиятига таъсири аниқланди, уларни касалланган ҳужайраларидаги хемокинлар индукциясини ва простагландинлар фаолиятини ингибирлаши исботланди, флавоноидларни айрим пероксидант ферментлар фаоллигини кучсизлантириши ёки бошқа эндоген антиоксидантларни фаоллаштириши аниқланди. Таъкидлаш лозимки, турли патологияларда ҳужайра митохондрияси функционал параметрларининг ўзгариши, энг аввало, ҳужайра энергетик метаболизмининг бузилиши, дегидрогеназа ва оксидаза ферментлари фаолликларининг ўзгариши, шунингдек, митохондриядаги кальций ионлари алмашинуви ҳамда липидларнинг перекисли оксидланишига салбий таъсир этади. Бу ўринда, флавоноидларни тузилиши ва уларни хусусиятларини ҳисобга олган ҳолда уларни ҳужайра мембранаси фаолиятини бузилиши билан юзага келадиган патологик ҳолатларни коррекция қилиш учун жалб этиш, флавоноид унумларини антигипоксанти ва антитоксик самарасининг исботлаш ва шу асосда гипополипидемик ҳамда цитопротектор препаратлар ишлаб чиқиш муҳим илмий-амалий аҳамият касб этади.

Ҳозирда республикамызда доривор ўсимликлардан биологик фаол моддаларни ажратиб олиш ва маҳаллий ўсимлик хом ашёлари асосида импорт ўрнини босувчи табиий дори воситаларини яратишга алоҳида эътибор қаратилди. Мазкур йўналишда амалга оширилган дастурий чоратадбирлар асосида муайян натижаларга, жумладан, флавоноид унумлари сақловчи ўсимлик хом ашёлари асосида «Флатерон», «Рутин», «Антиаритмин», «Цитизин» препаратлари яратилди. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида<sup>1</sup> «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳолини ва тиббиёт муассасаларини арзон, сифатли дори воситалари билан таъминлаш»

<sup>1</sup> Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони.

вазифалари белгилаб берилган. Ушбу вазифалардан келиб чиққан ҳолда, ўсимлик флавоноидлари орасидан доривор ҳоссаларга эга бўлганларини ажратиб олиш, уларнинг хужайра ва мембрана фаолиятларига таъсирини баҳолаш ва даволаш амалиётига тадбиқ этиш муҳим аҳамиятга эга.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги ҳамда 2017 йил 3 майдаги ПФ-5032-сон «Нукус-фарм», «Зомин-фарм», «Косонсой-фарм», «Сирдарё-фарм», «Бойсун-фарм», «Бўстонлиқ-фарм» ва «Паркент-фарм» эркин иқтисодий зоналарини ташкил этиш тўғрисида» ги Фармонлари, 2017 йил 20 апрелдаги ПҚ-2911-сон «Республика фармацевтика саноатини жадал ривожлантириш учун қулай шарт-шароитлар яратиш чора-тадбирлари тўғрисида»ги ҳамда 2018 йил 14 февралдаги ПҚ-3532-сон «Фармацевтика тармоғини жадал ривожлантириш бўйича қўшимча чора-тадбирлар тўғрисида»ги қарорлари ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меърий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

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

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.** Флавоноидларнинг митохондрия функцияларига, организмга антиоксидантлик, антистрессор, антивирус, ингибиторлик таъсирлари бўйича тадқиқотлар хорижлик олимлар Gibellini L. et al., (2015), Tiwar N. et al. (2015), Lagoa R. et al., (2011), Kumar S. (2013) томонидан олиб борилган.

МДХ мамлакатларида Залесский В.Н. (2003), Шутов Д.В. (2008), Александрова А.Е. (2005), Ефимов Д.А. (2012), кабилар флавоноидларни антиапопстик, антигипоксанти, гепатопротектор ва кардиопротектор таъсирларини ўрганишган.

Республикада флавоноидлар таъсирининг молекуляр механизмларини ўрганишга Алматов К.Т. (1998-2017), катта ҳиссасини қўшган. У биологик тизимлардаги энзимли жараёнлар ва мембрана билан боғлиқ ферментлар реакциясининг катализи ва уларга флавоноидларнинг таъсирини ўрганиш бўйича тадқиқотларни олиб борган. Асраров М.И. (2018) турли патологик ҳолатларда митохондрия мембраналаридаги функционал ўзгаришларни ўрганиш, патологиядаги мембранавий бузилишларни ўсимлик моддалари ёрдамида коррекция қилиш йўналишида тадқиқотлар олиб бормоқда.

Флавосан, 6"-п-кумароилпрунин (КП) ва 3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванон (ПГФ) ларни таъсирида митохондриялар реакциясининг ўзгариши, флавосаннинг антигипоксанти ва антиоксик самарасининг физиологик механизмлари ҳали ўрганилмаган. Шу сабабдан ушбу илмий изланишларнинг асосий мавзусини ташкил этадиган

тадқиқотларни амалга ошириш долзарб илмий-амалий аҳамиятга эга ҳисобланади.

**Диссертация тадқиқотининг диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги.** Диссертация тадқиқоти Мирзо Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий университети илмий-тадқиқот ишлари режасининг ОТ-ФЗ-146 «Фитиаза хусусиятлари ва полифенолларни хужайра метаболизмидаги аҳамиятини ўрганиш» (2006-2011) мавзусидаги фундаментал лойиха доирасида бажарилган.

**Тадқиқотнинг мақсади** *in vitro* ва *in vivo* тажриба шароитларида флавосан, 3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванон (ПГФ) ва 6"-п-кумароилпрунинларни (КП) митохондрияларнинг функционал фаолликларига таъсирини баҳолаш ҳамда флавосанни антитоксик самарасини аниқлашдан иборат.

**Тадқиқотнинг вазифалари:**

митохондриянинг кислород истеъмолига, оксидланишли-фосфорланишга (ОФ), дегидрогеназа ва оксидазаларнинг фаолликларига флавосан, ПГФ ва КП ларни таъсирларини *in vitro* шароитида аниқлаш;

литик энзимларни митохондрия оксидазаларининг фаолликларига таъсирини флавоноидлар билан коррекциялаш;

каламушларнинг жигар митохондрияларининг кислород истеъмолига, ОФ га, Са<sup>2+</sup> ташишилишига ва липидларни перекисли оксидланишига (ЛПО) флавосанни таъсирини *in vivo* шароитида аниқлаш;

Ўрта Осиё кобра илони захарини ҳайвонларнинг ҳаётчанлиги, кислород истеъмоли, митохондрияларининг нафас олиши ва энергетик метаболизми, кальций ташилишини ва ЛПО жараёнларига таъсирларини флавосан билан коррекциялаш.

**Тадқиқотнинг объекти** сифатида оддий оқ эркак каламуш (180-200 гр.) ва сичқонлар (18-23 гр.) жигаридан ажратиб олинган жигар митохондриялари, Ўрта Осиё кобра илони (*Naja naja Oxiana Echwald*) захари, флавосан, ПГФ ва КП лар олинган.

**Тадқиқотнинг предмети** *in vitro* ва *in vivo* тажриба шароитларида митохондрияларнинг нафас олиши, ОФ, дегидрогеназа ва оксидазаларнинг фаолликлари, асосий алмашинув жараёнлари, кальций ионларининг ташилиши, ЛПО жараёнларига флавосанни таъсир механизмлари ҳисобланади.

**Тадқиқотнинг усуллари.** Тадқиқотларда дифференциал центрифугалаш, фотоэлектрокалориметрия, рН-метрия, спектрофотометрия, полярография ҳамда биокимёвий усуллардан фойдаланилган.

**Тадқиқотнинг илмий янгилиги** қуйидагилардан иборат:

*in vitro* шароитида инкубация вақтига ва муҳит ҳароратига боғлиқ равишда флавосанни жигар митохондрияси нафас коэффиенти ва оксидаза ферментлари фаолликларининг пасайтириши, аммо АДФ/О га таъсир қилмаслиги аниқланган;

КП флавоноиди таъсирида жигар митохондриясидаги ОФ самарадорлигини, АТФ синтези, оксидаза ва дегидрогеназа ферментларининг фаоллашиши аниқланган;

флавосан *in vivo* шароитида жигар митохондрияларининг кислород истеъмоли,  $Ca^{2+}$  транспорти, ЛПО жараёнларини камайтириши ва ОФ самарадорлигини ошириши исботланган;

илк бор Ўрта Осиё кобра илони захари таъсирида организмнинг бузилган функцияларини – ҳайвонларнинг яшовчанлиги, кислород истеъмоли, жигар митохондрияларининг метаболизми, ОФ самарадорлиги,  $Ca^{2+}$  аккумуляцияси ва ЛПОни флавосан билан коррекциялаш мумкинлиги исботланган.

**Тадқиқотнинг амалий натижалари** қуйидагилардан иборат:

флавоноидлар, асосан флавосан субстанцияси эндоген литик энзимлар ва илон захаридан олинган фосфолипаза  $A_2$  ферментини дегидрогеназа ва оксидазаларнинг фаол марказига етиб боришини пасайтириши йўллари аниқланган;

илон захари билан захарланишда организмни функционал параметрларини бузилишига коррекцияловчи таъсир кўрсатувчи флавосан асосида янги антитоксик ва антигипоксанти фаолликка эга дори воситаларини яратиш учун тавсиялар ишлаб чиқилган.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги** замонавий биофизик-биокимёвий тадқиқот усулларини қўллаш орқали олинган натижаларни назарий маълумотларга мос келиши, натижаларни қайта ишлашда ўртача қийматнинг ишончлилиги интервали қийматларини (Стьюдент критерияси) ҳисобга олинганлиги ҳамда маълумотларни OriginPro-7.5 дастури асосида статистик таҳлил қилинганлиги билан изоҳланади.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти митохондрияларнинг кислород истеъмоли ва ОФ ни, дегидрогеназа ва оксидазаларнинг фаолликлари, кальций ионларини ташилиши ҳамда ЛПО жараёнларини флавосан, КП ва ПГФ лар билан бошқариш мумкинлигини асосланганлиги ва флавоноид унумларини хужайра мембранаси фаолиятини бузилиши билан юзага келадиган патологик ҳолатларни коррекциялашда қўллаш мумкинлигини исботланганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти мембранага боғлиқ литик энзимларнинг фаолликларини коррекциялаш, турли токсик ва захарли моддаларни салбий таъсирини олдини олиш, стресс ва юрак-қон томир касалликларини даволашга йўналтирилган чора-тадбирларни ишлаб чиқиш ҳамда маҳаллий ўсимлик хом ашёларидан ажратиб олинган субстанциялар асосида самарали антиоксидант, антигипоксанти ва антитоксик дори воситалари яратишга хизмат қилиши билан изоҳланади.

**Тадқиқот натижаларини жорий қилиниши.** Митохондрияларни флавосан, 3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванон ва 6"-н-кумароилпрунинларнинг таъсирига реакцияси ва флавосанни антитоксик самараси бўйича олинган



илмий натижалар асосида:

флавосанни митохондрияларнинг функционал фаолликларига ижобий таъсири бўйича олинган натижалар Сургут давлат университетининг «ХМАО-Югра ҳудудидаги ёввойи ўсимликлар полифеноллари ажратиб олиш, идентификация қилишнинг инновацион технологиялари ва уларни гепатопротектор ҳоссаларини шимолнинг ёшга боғлиқ касалликларида тадқиқ қилиш» мавзусидаги лойиҳаси доирасида флавоноидларни хужайра мембраналари стабиллигини таъминлашдаги аҳамиятини аниқлашда фойдаланилган (Сургут давлат университетининг 2019 йил 28 январдаги маълумотномаси). Натижада полифеноллари ёшга боғлиқ касалликлардаги гепатопротектор таъсирини асослаш ва табиий полифеноллари юқори биологик фаолликларини баҳолаш имконини берган;

флавосаннинг митохондриялар мембранасига стабилловчи,  $Ca^{2+}$ -аккумуляциясига ингибирловчи таъсирлари ва липидларни перекисли оксидланиш жараёнини камайтирувчи ҳоссалари бўйича олган натижалари ИБ-ФА-Т008 «Флатерон субстанцияси ишлаб чиқарилишини ташкил этиш» лойиҳасида флавоноидларни организм фаолиятига таъсир этиш механизмларини асослашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2018 йил 30 апрелдаги 4/1255-1099-сон маълумотномаси). Натижада флавосаннинг хужайралар функциясига гиполлипидемик ва антисклеротик таъсир фаоллигини баҳолаш имконини берган;

флавосанни хужайра митохондрияларининг нафас олиши ва энергетик метаболизмига таъсир фаолликлари бўйича олган натижалари ИБ-ФА-Т008 «Флатерон субстанцияси ишлаб чиқарилишини ташкил этиш» лойиҳасида флавоноид ва унинг унумларидан иборат ўсимлик субстанцияларини хужайранинг гипоксия шароитидаги фаоллигини аниқлашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2019 йил 18 январдаги 4/1255-114-сон маълумотномаси). Натижада ўсимлик флавоноидларини гипоксия шароитида хужайра тузилмаларини эркин радикалли оксидланишидан ҳимоя қилиш ҳамда организм даражасида кислородни тежамкор сарфланишини таъминлашини асослаш имконини берган.

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Мазкур тадқиқот натижалари 3 та халқаро ва 7 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги.** Диссертация мавзуси бўйича жами 15 та илмий иш нашр этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий журналларда 5 та, шундан 3 таси республика ва 2 таси хорижий журналларда нашр этилган.

**Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми.** Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, ҳулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 132 бетни ташкил этган.

## ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

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

Диссертациянинг **«Организм ҳужайра ва митохондриясига флавоноидларни таъсири тўғрисида замонавий қарашлар»** деб номланган биринчи бобида замонавий адабиётлар асосида флавоноидларни физиологик ва биокимёвий жараёнларга, эркин радикалларнинг ҳосил бўлишига, митохондрияларнинг кислород истеъмоли ва энергетик метаболизмига таъсирлари ҳақидаги маълумотлар келтирилган. Бундан ташқари ҳужайраларда эркин радикалларнинг ҳосил бўлиши жараёнида митохондрияларнинг аҳамияти ва митохондрияларнинг фаолиятида  $Ca^{2+}$  ионларининг роли тўғрисидаги сўнгги адабиёт маълумотлари келтирилган. Адабиётларда келтирилишича, митохондрия функционал параметрлари фармакологик воситалар (флавоноидлар) учун махсус нишон сифатида хизмат қилиши мумкин. Бу эса организмни турли патологияларда функционал кўрсаткичларининг ўзгариши механизмларини флавоноидлар ёрдамида коррекциялаш ва янги самарали дори воситаларини яратиш ҳамда маълум бўлган препаратларнинг таъсир қилиш механизмларини ёритишга ва тасаввурларни кенгайтиришга имкон беради. Бироқ, флавоноидлар асосида яратилган дори воситалари замонавий тиббиёт талабларига тўлиқ жавоб бермайди, уларнинг аксариятини терапевтик таъсирлари хали исботланмаган.

Шу аснода, ўсимлик бирикмалари орасидан самаралироқ флавоноидларни излаб топиш янги дори воситаларини яратишда муҳим аҳамият касб этади.

Диссертациянинг **«Организм ва митохондриянинг кислород истеъмоли, эркин радикалларни ҳосил бўлиши ва кальций ташилишини аниқлаш усуллари»** деб номланган иккинчи бобида тадқиқотларни олиб бориш босқичлари, уларнинг бажарилишида фойдаланилган материаллар ва услублар келтирилган. Хусусан, каламуш жигаридан митохондрияларини дифференциал центрифугалаш усулида ажратиш, митохондрияларнинг нафас олиш тезлиги ва ОФ ни аниқлашнинг полярография усули, ЛПО маҳсулотларини, митохондрияда кальций аккумуляциясини ўлчаш, митохондрияда дегидрогеназа ва оксидазаларнинг фаолликларини аниқлаш, митохондриялардаги оксил миқдорини аниқлаш, флавосанни илон захарига қарши таъсирини аниқлаш, натижаларни статистик қайта ишлаш услуби ёритилган.

Диссертациянинг **«Митохондрияларни флавосан, 3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванон ва 6''-п-кумароилпрунинларнинг таъсирига**

**реакцияси»** деб номланган учинчи бобда митохондрияларнинг нафас олиши ва ОФ ни флавоноидлар билан бошқариш, флавоноидларни митохондрияларнинг дегидрогеназа ва оксидазаларининг фаолликларига таъсири, флавосанни организмда газ-кислород алмашинувига, жигар митохондрияларнинг нафас олиши ва ОФга таъсири, митохондрияларда  $Ca^{2+}$  аккумуляциясини ва ЛПО жараёнларини флавосан билан коррекциялаш бўйича тадқиқотларнинг натижалари берилган.

*Митохондрияларнинг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишини флавоноидлар билан бошқариши.* Проф. К.Т.Алматов ва унинг шогирдлари флавосан таркибидаги лютеолин, хризозериол, апигенин ва цинорозидларнинг митохондрия нафас олиши ва ОФга таъсирини ўрганишган. Аммо, бу флавоноидларнинг барчаси биргаликда митохондрия нафас олиши ва ОФга таъсир этиш механизмлари аниқланмаган. Шу мақсадда флавосанни митохондрияларнинг энергетик тизимига таъсири аниқланди. Флавосан *in vitro* шароитида глутаматни ОФ самарадорлигини пасайтиради, сукцинатни  $V_3$  ҳолатда оксидланишини ва Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичи бирозгига пасайтиради, аммо АДФ/О га таъсир қилмайди. Демак, флавосан биринчи навбатда НАД га боғлиқ субстратлардан электронларни нафас олиш занжири бўйлаб молекуляр кислородга узатилишини секинлаштиради. Бунинг натижасида ОФ жараёни секинлашади. Флавосан сукцинатни оксидланишига деярли таъсир қилмайди.

Кейинги тадқиқотимизда 6"-н-кумароилпрунин (КП) флавоноиднинг каламуш жигари митохондрияси нафас олиши ва ОФга таъсири аниқланди. КП нинг 20, 40 ва 60 мкг/мг миқдорлари глутамат иштирокида митохондрия нафас олиш тезлигининг  $V_3$  метаболик ҳолатига таъсир этмайди, бироқ дозага боғлиқ  $V_4$  ҳолатда оксидланиш тезлигини пасайтиради (1-жадвал).

1 - жадвал

**Митохондрияларнинг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишига КП ни таъсири ( $M \pm m$ ;  $n=8-12$ ).**

Кўрсаткичлар	Нафас тезлиги (нг $O_2$ /мин.мг оксил)			
	КП (мкг/мг оксил)			
	0	20	40	60
$V_3$ (Глутамат)	68,4±2,6	66,6±2,4	69,8±2,6	65,4±2,1
$V_4$	20,0±1,1	18,6±1,3	17,2±1,2	16,0±1,1*
НК <sub>ч</sub>	3,42±0,13	3,57±0,12	4,06±0,11**	4,07±0,12**
АДФ/О	2,54±0,06	2,70±0,06	2,86±0,07*	3,50±0,08***
$V_3$ (Сукцинат)	116,8±4,4	98,6±4,2**	92,0±4,8**	82,0±4,4***
$V_4$	26,0±2,4	22,0±2,2	20,0±2,0**	16,0±2,2***
НК <sub>ч</sub>	4,49±0,13	4,48±0,14	4,60±0,13	5,12±0,12*
АДФ/О	1,76±0,08	1,76±0,07	1,88±0,07	1,95±0,06*

**Изох:** тажриба гуруҳи қийматларининг назоратга нисбатан статистик ишончлилик даражаси: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

Ўз навбатида КП флавоноиди иштирокида  $V_4$  ҳолатдаги митохондрияларнинг нафас олишини пасайиши ОФ кўрсаткичларини оширишга олиб келади. Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичи КП нинг

назоратга нисбатан 20, 40 ва 60 мкг/мг концентрацияларида мос равишда 4,6 18,7 ва 19,3 % га ва АДФ/О қиймати эса 6,3 12,6 ва 37,8 % га ошиши кузатилди. Бу олинган натижадан КП нинг митохондрия кислород истеъмолини тежаб сарфланишига, ОФ кўрсаткичларини сезиларли даражада оширади деган хулосага келиш мумкин. Сукцинат оксидланишининг НАД га боғлиқ субстратларга нисбатан энергетик устунлиги шундан иборатки, янтар кислота оксидланганда тинчлик ҳолатидан фаол ҳолатга ўтиб қайта тикланиш жараёнини амалга ошишида ҳужайраларни юқори даражада энергия билан таъминлашидир. Митохондрия суспензиясига КП ни киритилиши сукцинатни  $V_3$  ва  $V_4$  метаболик ҳолатда оксидланиш тезлигини дозага боғлиқ ҳолда пасайишига олиб келди (1-жадвал). Бунда флавоноидни 20 мкг/мг миқдорида АДФ/О коэффиценти ва Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичи ўзгармай қолди. Бироқ, митохондрияга КП ни 40 ва 60 мкг/мг оксилга нисбатан кўшилиши АДФ/О қиймати ва нафас назоратини ортишига сабаб бўлди. Бу КП ни митохондрияни кислородни сарфлашини тежамкор тартибга ўтказишини англатади. Демак, КП флавонони митохондрияларда сукцинатни оксидланишини пасайтиради ва ФАД дан электронларни НАД га боғлиқ субстратларга ўтишини тезлаштиради, бу ўз навбатида митохондрия одатдагига нисбатан юқори энергетик даражага ўтишини англатади.

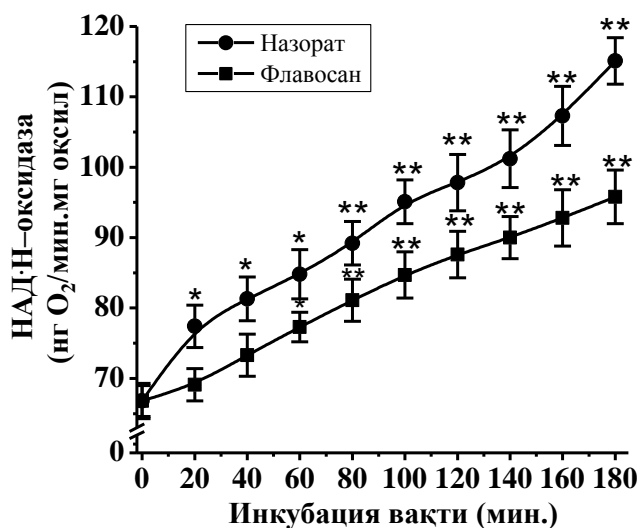
3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванон (ПГФ) митохондрияда глутаматни ҳар хил метаболик ҳолатларда оксидланиши ва ОФ га деярли таъсир қилмайди. Бу флавононнинг миқдорини кўпайиши (40 ва 60 мкг/мг оксил) глутаматни  $V_3$  ҳолатдаги оксидланишини бирозгина пасайтириб,  $V_4$  ҳолатдаги оксидланишни бирозгина ошириши натижасида Чанс бўйича нафас олишни ва АДФ/О коэффицентини бирозгина камайтирди. Митохондрияда сукцинатни оксидланишида оз миқдордаги ПГФ митохондрияда сукцинатни метаболик ҳолатларда оксидланишига таъсир қилмайди. Аммо, флаваноннинг миқдорини ошиши сукцинатни оксидланишини секинлаштирди, АДФ/О коэффицентини эса, аксинча оширди, лекин Чанс бўйича нафас олиш катталигига таъсир қилмайди. Бу ўзгаришлар митохондрияга кўшилган флаванонни миқдорини ошишига мос ҳолда тезлашди. ПГФ митохондрияда сукцинатдан протонларни НАД га қайтар ташилишини кучайтиради ва ҳужайрани АТФ га бўлган талабини қондиради.

*Флавоноидларни митохондрияларнинг дегидрогеназа ва оксидазаларини фаолликларига таъсири.* Митохондрияларнинг функционал тизимини баҳолаш учун ички мембранадаги дегидрогеназа ва оксидазаларнинг фаолликларидаги ўзгаришларни аниқлаш ўта муҳим ҳисобланади. Мембраналарнинг стабиллигини бузилиши ва қайта тикланиши турли биологик фаол бирикмаларни таъсирини мембранага боғлиқ энзимларнинг фаолликларини ўлчаш орқали аниқланади. Шу мақсадда биз каламуш жигари митохондрияларини ички мембранасида жойлашган полиэнзим тизимларининг фаолликларига флавоноидларни таъсирини ўргандик.

Флавосан миқдорга боғлиқ ҳолда НАД.Н-дегидрогеназа ва ротенонга сезгир НАД.Н-оксидазаларнинг фаолликларини секинлаштирди.

Митохондрияларни ҳар бир мг оксигенга нисбатан 10 мкг дан флавосан кўшилганда НАДН-дегидрогеназа ва ротенонга сезгир НАДН-оксидазаларнинг фаолликлари назоратга нисбатан 13,1 ва 14,3% ларга, 20 мкг да 23 ва 25% ларга ва 30 мкг да эса 41,1 ва 40% ларга пасайди. Олинган натижадан, флавосан субстратларни НАДН-дегидрогеназанинг фаол марказига етиб боришини пасайтиради деган хулосага келдик. Флавосанни митохондриялардаги сукцинатдегидрогеназа ва сукцинатоксидазаларнинг фаолликлари таъсирини аниқлаганимизда оз миқдордаги флавосан бу энзимга таъсир қилмаслигини, флавосанни миқдорини кўпайтирганда ҳам таъсири унчалик эмаслигини аниқладик. Эндоген литик энзимларни митохондрияларнинг оксидаза тизимлари фаоллигига флавосаннинг таъсири ҳам аниқланди.

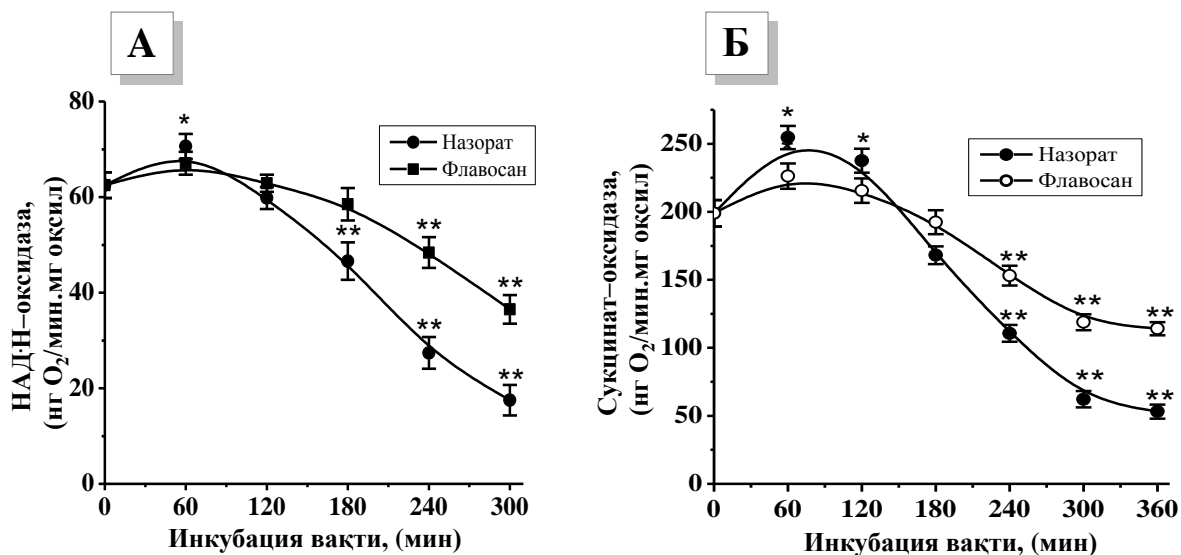
Агар, митохондрияларни 20° С шароитда инкубация қилинса вақтнинг ўтишига мос ҳолда ротенонга сезгир НАДН-оксидазанинг фаоллиги аста секин оша бошлайди ва 180 дақиқага борганда инкубациядан олдинги кўрсаткичга нисбатан 1,72 мартага ошиб кетди (1-расм).



1-расм. Флавосаннинг митохондрияларда ротенонга сезгир НАДН-оксидазанинг фаоллигига таъсири. Ордината ўқида – ротенонга сезгир НАДН-оксидазанинг фаоллиги (нг O<sub>2</sub>/мин.мг оксил); абсцисса ўқида – инкубация вақти (мин) ифодаланган (инкубация ҳарорати t=+20°С); назоратга нисбатан \* – p<0,05, \*\* – p<0,01 (n=8–10).

Митохондрияларга флавосан кўшиб инкубация қилинса ҳам бу шароитда ротенонга сезгир НАДН-оксидазанинг фаоллиги оша бошлайди, аммо бу жараён назоратга нисбатан анча секин бўлади, яъни 180дақиқада 1,43мартага ошди. Демак, флавосан эндоген литик энзимлар, эркин радикаллар ва кислороднинг фаол шаклини митохондриянинг ички мембранасига таъсирини сезиларли даражада пасайтиради. Шу сабабли НАДН ни НАДН-дегидрогеназа (НАДН-оксидаза) нинг фаол марказига етиб боришини секинлашган учун назоратга нисбатан фаолликни ошиши пастроқ бўлди (1-расм).

Инкубация шароитини 20°C дан 36,7°C га кўтарсак, ротенонга сезгир НАД.Н-оксидаза ва сукцинатоксидазанинг фаолликларини инкубация давомида ўзгариши кузатилди. Бу шароитда ҳам инкубациянинг бошланишида оксидазаларнинг фаолликлари бирозгина ошади, ammo инкубациянинг давом этишига қараб пасая бошлайди. Назоратга нисбатан флавосан қўшилган митохондрияларда оксидазаларнинг инкубациянинг бошларида ошиши ва кейинчалик инкубациянинг давом этишига мос ҳолда пасайиши секинроқ бўлади. (2-расм).



2-расм. Фловосаннинг митохондрияларда ротенонга сезгир НАДН-оксидаза (А) ва сукцинат-оксидазанинг фаоллигига таъсири (Б). Ордината ўқида – ротенонга сезгир НАДН-оксидазанинг фаоллиги (нг O<sub>2</sub>/мин.мг оксил); абсцисса ўқида – инкубация вақти (мин.) ифодаланган (инкубация ҳарорати  $t=+36,7^{\circ}\text{C}$ ); назоратга нисбатан \* –  $p<0,05$ , \*\* –  $p<0,01$  ( $n=8-10$ ).

Агар, 300 дақиқада назоратдаги митохондриялардаги ротенонга сезгир НАД.Н-оксидаза ва сукцинатоксидазанинг фаолликлари 72,0 ва 50,1% ларга пасайса, флавосан қўшилган митохондрияларда – 41,6 ва 28,2% ларгагина пасайди (2-расм, А ва Б). Олинган натижадан флавосан митохондрия ички мембранасини компактлигини оширади деган ҳулосамиз тўғри эканлигини яна бир марта тасдиқлади.

Мембранани компактлиги мембранадаги липид-липид, липид-оксил нисбатларга, биқатлам ва моноқатлам соҳаларга боғлиқ. Буни мембранага ташқаридан фосфолипаза ва протеазалар қўшиб, мембранада жойлашган энзимларни, шу жумладан митохондриянинг ички мембранасида жойлашган нафас олиш занжирининг энзимларини фаолликлари таъсирида аниқлаш мумкин. Шу сабабли, тадқиқотимизда митохондрияларга Ўрта Осиё кобра илони захаридан (илон захари) ажратиб олинган фосфолипаза А<sub>2</sub> ва флавосанларни қўшиб оксидазаларнинг фаолликларидаги ўзгаришларни аниқладик. Митохондрияларга фосфолипаза А<sub>2</sub> қўшиб 20°C да 20, 40, 60 ва 80 дақиқа инкубация қилганимизда сукцинатоксидазанинг фаоллиги 25,4; 43,6; 61,8 ва 81,0 % ларга пасайган бўлса, флавосан билан – 10,0; 23,2; 34,6 ва 52,7 % ларга пасайди. Шундай қилиб, флавосан митохондрия мембраналарида

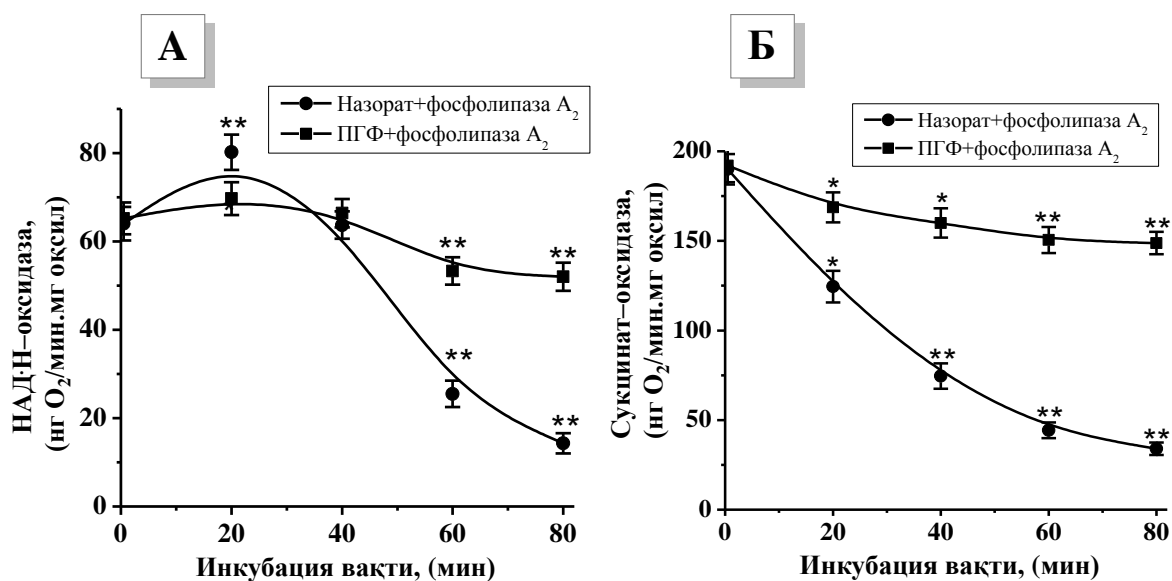
«моноқатлам» соҳаларни миқдорини камайтириб «биқатлам» соҳаларни кўпайтиради, натижада мембранага ҳар хил биологик фаол моддаларни таъсири камаяди.

6"-n-кумароилпрунин митохондрияларнинг ички мембранасида жойлашган полиэнзим тизимлари фаолликларини флавононнинг миқдорига боғлиқ ҳолда пасайтирди. Одатда мембранага боғлиқ энзимларнинг фаоллашуви - мембранани бирозгина зарарланиши натижасида энзимларининг фаол марказларига субстратни етиб боришини осонлашиши билан боғлиқ бўлса, фаоллигини пасайиши мембрана компактлигини бузилишини кучайиши билан боғлиқ. Буни текшириб кўриш учун 40 мкг КП 1 мг митохондрия оксигенига нисбатан қўшгандан кейин, митохондрияларни 20°C ҳароратда 180 дақиқа давомида инкубация қилиб ротенонга сезгир НАД.Н-оксидазининг фаоллигини текшириб кўрдик. 180 дақиқа давомида назоратдаги митохондриялардаги ротенонга сезгир НАД.Н-оксидазининг фаоллиги ошган бўлса, КП солинган митохондрияларда ортиши камроқ бўлиши аниқланди. Митохондрияларни 36,7°C ҳароратда 40 мкг КП билан инкубация қилинганда ички мембраналарда жойлашган оксидазаларнинг фаолликларини назоратдаги кўрсаткичларга нисбатан кўпроқ сақлаши маълум бўлди.

Тажрибаларда 3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванон (ПГФ) митохондрия ички мембранасида жойлашган НАДН-дегидрогеназа, ротенонга сезгир НАДН-оксидаза, сукцинат-дегидрогеназа ва сукцинат-оксидаза ферментлари фаоллигига деярли таъсир қилмаслиги аниқланди. Бироқ, митохондрия суспензияси инкубация муҳитига қўшилган ПГФ концентрацияси ортиши шароитида сукцинат-дегидрогеназа ва сукцинат-оксидаза ферментларининг фаоллиги пасайиши қайд қилинди.

Бунда ПГФ митохондрия мембранасининг барқарорлик даражасини ошириши тахмин қилинди. Шу нуқтаи назардан, навбатдаги тадқиқотимизда митохондрияларга ПГФ қўшиб, кейин устига *Naja naja Oxiana Echwald* илони захаридан ажратиб олинган фосфолипаза А<sub>2</sub> солиб 20°C да инкубация қилиб, оксидазаларнинг фаолликларидаги митохондрияларни фосфолипаза А<sub>2</sub> қўшиб инкубация қилинганда 20 дақиқада ротенонга сезгир НАД.Н-оксидазининг фаоллиги 1,25 марта ортганлигини аниқладик, ПГФ иштирокида атига 1,07% гагина ошди. Орадан 40 дақиқа ўтгандан кейин иккала гуруҳдаги митохондриялардаги оксидазининг фаоллиги инкубациядан олдинги ҳолатига қайтиши аниқланди. Тадқиқотнинг 60 ва 80 дақиқаларига борганда назоратдаги митохондрияда оксидаза фаоллиги 1,50 ва 1,78 марта пасайган бўлса, ПГФ иштирокида атиги 1,08 ва 1,20 марта пасайди (3-расм, А). Назоратдаги митохондриялардаги сукцинатоксидазининг фаоллиги фосфолипаза А<sub>2</sub> таъсирида бирданга пасая бошлади. Бунинг сабаби, НАД.Н-дегидрогеназа ички мембранани марказий қисмида жойлашганлиги учун фосфолипаза А<sub>2</sub> бу энзимнинг фаол марказига етиб бориши қийинроқ бўлади, сукцинатдегидрогеназа периферияда жойлашганлиги учун фосфолипазани фаол марказга етиб бориши тезроқ

бўлади. Тадқиқотнинг 20, 40, 60 ва 80 дақиқаларида назоратдаги митохондриялардаги сукцинатокси-дазанинг фаоллиги 1,28; 1,50; 1,64 ва 1,82 марталарга пасайган бўлса, ПГФ иштирокида – 1,07; 1,14; 1,16 ва 1,23 марталаргагина пасайди (3-расм, Б).



3-расм. ПГФ ва фосфолипаза A<sub>2</sub> нинг митохондрияларда ротенонга сезгир НАДН-оксидаза (А) ва сукцинат-оксидазанинг фаоллигига таъсири (Б). Ордината ўқида – ротенонга сезгир НАДН-оксидазанинг фаоллиги (нг O<sub>2</sub>/мин.мг оксил); абсцисса ўқида – инкубация вақти (мин.) ифодаланган (инкубация ҳарорати t=+20°C); назоратга нисбатан \* – p<0,05, \*\* – p<0,01 (n=8–10).

Бундан, ПГФ фосфолипаза A<sub>2</sub> ни НАДН-дегидрогеназа ва сукцинатоксидазаларнинг фаол марказига етиб боришига тўсқинлик қилади деган хулосага келдик.

Диссертациянинг «Флавосанни антитоксик таъсири» деб номланган тўртинчи бобида Ўрта Осиё кобра илони захарини ҳайвонларнинг яшовчанлиги ва кислород истеъмолига таъсирини флавосан билан коррекциялаш, шунингдек, жигар митохондрияларининг нафас олиши ва ОФ га, Ca<sup>2+</sup> аккумуляциясига ва ЛПО га таъсирини фловасан ёрдамида коррекциялаш натижалари келтирилган.

Ҳайвонларнинг яшовчанлигига ва кислород истеъмолига илон захарини таъсири ва уни флавосан билан коррекциялаш. Тажриба ҳайвонларини танасига 2 мкг/кг дан захар юборилгандан кейин, орадан 1 дақиқа ўтгач ҳар хил миқдордаги флавосанни юбориб ҳайвонларнинг яшаш муддатини ўзгариши аниқланди. Назоратдаги каламушларнинг танасига 2 мкг/кг дан илон захари юборилгандан кейин орадан 43±3 дақиқа ўтгандан кейин ўлди. Захарланган каламушларнинг танасига флавосанни 250, 500, 750 ва 1000 мг/кг массага нисбатан юборилганда ҳайвонларнинг яшаш муддати назоратдаги каламушларга нисбатан 1,28; 1,97; 2,84 ва 3,95 мартага узайди. Флавосан таъсирида ана шундай тавсифдаги ўзгариш захарланган сичқонларда ҳам кузатилди. Агар, флавосансиз сичқонларнинг яшаш муддати 30±3 дақиқада тугаган бўлса, ҳайвон организмга 250, 500, 750 ва



1000 мг дан флавосан юборилса, уларнинг яшаш муддати назоратдаги хайвонларга нисбатан 1,16; 1,64; 2,53 ва 3,26 марталарга узайди. (2-жадвал).

2 - жадвал

Организмига Ўрта Осиё кобра илони захари (2 мкг/кг) юборилган хайвонларнинг яшовчанлигини флавосан таъсирида ўзгариши. ( $M \pm m$ ;  $n=6-7$ )

Флавосан (мг/кг)	Хайвонларнинг яшовчанлик давомийлиги, (мин)			
	Каламуш	%	Сичқон	%
Назорат	43±3	100	30±2	100
250	55±4**	128	35±3*	118
500	85±5***	197	49±4***	164
750	122±7***	284	76±5***	255
1000	170±10***	395	98±7***	326

**Изоҳ:** тажриба гуруҳи қийматларининг назоратга нисбатан статистик ишончлилик даражаси: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

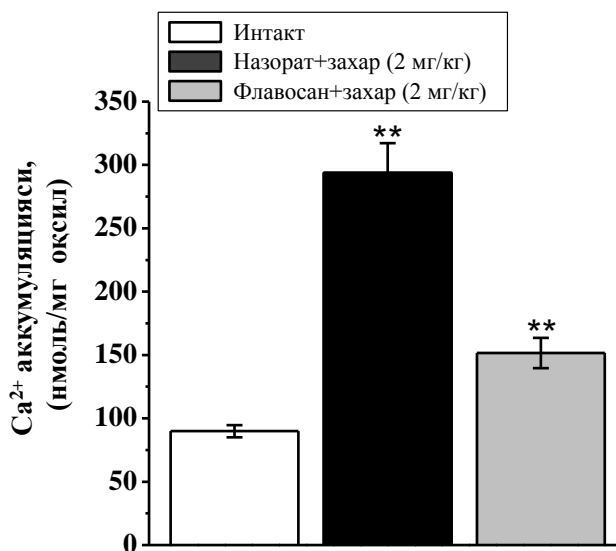
Шундай қилиб, флавосанни антитоксик таъсири Ўрта Осиё кобраси захарини хайвонларнинг организмига таъсирини сезиларли даражада пасайтириши билан намоён бўлди.

Кейинги тадқиқотимизда Ўрта Осиё кобраси захари таъсирида хайвонларнинг кислород истеъмоли қандай ўзгаришларга учраши ва бу жараёнларга флавосан таъсири ўрганилган. Каламушларнинг танасига захар юборилгандан кейин, орадан 4 дақиқа ўтгач кислород истеъмоли назоратдаги кўрсаткичга нисбатан 1,42 мартага, 10 дақиқа ўтгандан кейин эса 1,14 мартага ошди. Захарни таъсир этиш муддати ошгани сайин кислород истеъмоли аста-секин пасайиб, назоратдаги кўрсаткичга яқинлашди. Орадан 20 дақиқа ўтгандан кейин захар таъсирида каламушларнинг кислород истеъмоли назоратдаги кўрсаткичга нисбатан 1,20 мартага секинлашди. Тадқиқотнинг давом этиши кислород истеъмолини пасайишини янада жадаллаштириб юборди, яъни орадан 40 дақиқа ўтгач кислород истеъмоли назоратдаги кўрсаткичга нисбатан 1,47 мартага секинлашди. Орадан 42 дақиқа ўтгандан кейин каламуш ўлди. Захарланган хайвонларнинг танасига 500 мг/кг флавосан юборилгандан кейин, маълум бир дақиқалар (4-80 дақиқа) ўтгандан кейин кислород истеъмоли назоратдаги кўрсаткичга нисбатан секинлашди. Орадан 60 дақиқа ўтгандан кейин каламушлардаги асосий алмашинув назоратдаги кўрсаткичга нисбатан кескин камайиб, 85 дақиқага борганда хайвон ўлди.

Захарланган хайвонларнинг танасига 1000 мг кг массага флавосан юборилгандан кейин, орадан (4-165 дақиқа) вақт ўтгач, асосий алмашинув тезлиги сезиларли даражада назоратга нисбатан секинлашди ва 170 дақиқа ўтгандан сўнг хайвонлар ўлди. Флавосанни захар таъсирига қарши самараси, биринчидан тажрибанинг бошланишида хайвонлардаги асосий алмашинувни кескин секинлашиши билан кузатилса, иккинчидан, флавосан дозага боғлиқ ҳолда хайвонларнинг кислород истеъмолини секинлаштириши ва уларнинг умрини узайтириши билан намоён бўлади. Бу олинган натижалар захарнинг организмга тарқалишини секинлашганидан дарак беради.

Илон захари юборилган хайвонларнинг жигар митохондрияларининг кислород истеъмоли ва ОФ га флавосаннинг таъсири ҳам аниқланди. Демак, илон захари (2 мкг/кг) жигар митохондрияларининг ОФ ни, яъни АТФ синтезини пасайтиради. Бу ўзгаришлар митохондрияларнинг  $V_2$  ва  $V_4$  метаболик ҳолатларда оксидланишини кескин ошиб кетиши билан кузатилади. Натижада нафас кўрсаткичи ва АДФ/О коэффиценти пасаяди. Флавосан митохондрияларда фосфорланишли оксидланишга деярли таъсир қилмайди, аммо  $V_2$  ва  $V_4$  метаболик ҳолатларда оксидланишини пасайтириб соғлом хайвонлардаги кўрсаткичларга яқинлаштиради. Бу ўзгаришлар глутаматни оксидланишида Чанс бўйича нафас кўрсаткичи ва АДФ/О коэффиценти бирозгина, сукцинатда эса сезиларли даражада назоратдаги кўрсаткичларга яқинлаштиради.

Илон захарининг жигар митохондрияларида  $Ca^{2+}$  аккумуляциясига таъсирини флавосан билан коррекциялаш. Ҳар хил патологик шароитларда, митохондрияларда  $Ca^{2+}$  нинг кўп тўпланиши мембранада номахсус пораларни очилишига ва функциясини издан чиқишига олиб келади [Nuttemann M. et al., 2008]. Аммо,  $Ca^{2+}$  иони ёрдамида митохондрияларнинг бажарадиган вазифаларини бузилиши ҳалигача номаълум. Шу сабабли ҳам  $Ca^{2+}$  ни ҳужайра, органелла ва мембрана даражаларида ўрганиш долзарб муаммолардан бири ҳисобланади. Флавосанни танасига илон захари (2 мкг/кг) юборилган каламушларнинг жигари митохондрияларда  $Ca^{2+}$  ни аккумуляцияланишига таъсири ўрганилди (4-расм).



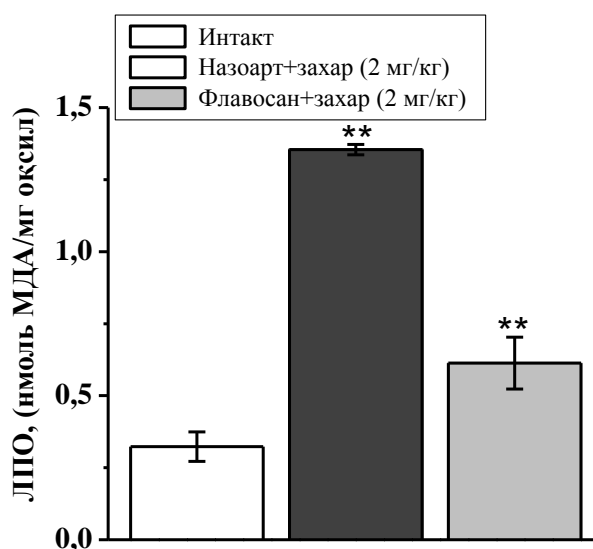
**4-расм. Флавосаннинг каламуш жигари митохондрияларида  $Ca^{2+}$  аккумуляцияси жараёнига таъсири.** Ордината ўқида –  $Ca^{2+}$  аккумуляцияси ифодаланган (нмоль/мг оксил); \*\* – назоратга нисбатан  $p < 0,01$  ( $n = 8-10$ ).

Агар, захар юборилган каламушларнинг жигари митохондрияларида  $Ca^{2+}$  ни ташилиши соғлом хайвонлардаги кўрсаткичга нисбатан 226,7% га кўпайган бўлса, флавосан ва захар юборилган хайвонларда атиги 68,7% ларга кўпайди. Демак, захар таъсирида  $Ca^{2+}$  ни жигар митохондрияларига кириши

соғлом ҳайвонлардаги кўрсаткичга нисбатан кескин кўпаяди, флавосан эса бу жараёни секинлаштиради (4-расм).

Шундай қилиб, флавосан жигар митохондрияларида нафас олиш, ОФ фаоллигини ва  $Ca^{2+}$  аккумуляциясини сусайтириши, ўз навбатида эркин радикаллар генерациясини камайтириши орқали кобра илони захарининг салбий таъсирига қаршилик кўрсатиши тахмин қилинди.

*Илон захарининг жигар митохондрияларида липидларнинг перекисли оксидланишига таъсирини флавосан билан коррекциялаш.* Тажрибаларда илон захари (2 мкг/кг) инъекция қилинган каламушлар жигари митохондрияларида малон диальдегиднинг (МДА) концентрацияси назоратга нисбатан 319,2% га ортиши, флавосан (500 мг/кг) инкубацияси шароитида эса бор-йўғи 89,7% га ортиши аниқланди. Шундай қилиб, олинган тажриба натижаларининг таҳлили флавосаннинг кобра илони захарининг организмга салбий таъсирига қаршилик кўрсатишини тасдиқлайди (5-расм). Бу ҳолат флавосан гепатоцитларда ва митохондрия мембранасида «биқатлам» соҳаларни кўпайтириши ҳисобига мембрананинг барқарорлик даражасини ошириши, ўз навбатида илон захари таркибидаги фосфолипаза  $A_2$  нинг фосфолипидларга нисбатан гидролитик фаоллигини пасайтириши ва мембранада ЛПО фаоллигини сусайтириш билан изоҳланиши мумкин.



**5-расм. Кобра илони захари (2 мкг/кг) инъекцияланган шароитда каламуш жигари митохондрияларида липидларнинг перекисли оксидланиши (ЛПО) жараёни ўзгариш динамикасини флавосан (500 мг/кг) билан коррекциялаш.** Ордината ўқида – ЛПО ифодаланган (нмоль МДА/мг оксил); \*\* – назоратга нисбатан  $p < 0,01$  ( $n=8-10$ ).

Жумладан, биомембрана структурасида «биқатлам» соҳаларнинг сони ортиши фосфолипазаларнинг фосфолипидларга нисбатан гидролитик фаоллигини ва ЛПО жараёнини сусайтириши бир қатор тадқиқотчилар ишларида қайд қилинган (Владимиров Ю.А., 1989; Алматов К.Т., 1990).

Флавосан таъсирида мембранада «биқатлам» соҳаларнинг миқдори ортиши мембрана барқарорлик даражасини оширади, ўз навбатида эркин

радикаллар ва фосфолипаза/протеазалар таъсири сусайиши қайд қилинади. Шунингдек, флавосан тўқималарда кислород истеъмоли ва митохондрияда нафас олиш тезлигини сусайтириши, яъни организмдаги метаболизм жараёнини фаол ҳолатдан нофаол ҳолатга ўтказиши ҳисобига илон захарининг тўқималар ҳужайраларида транспорт тезлиги секинлашиши ва ўз навбатида, токсик зарарланиш даражаси камайиши қайд қилинади.

## ХУЛОСАЛАР

1. Флавосан *in vitro* шароитида глутаматни оксидланишли фосфорланиш самарадорлигини пасайтиради, сукцинатни  $V_3$  ҳолатда оксидланишини ва Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичи бирозгига пасайтиради, аммо АДФ/О га таъсир қилмайди. Бу флавосанни митохондрияларда НАД га боғлиқ субстратлардан нафас олиш занжири бўйлаб электронларни молекуляр кислородга узатилишини секинлаштириши ҳисобига амалга ошиши билан ифодаланади.

2. 6"-п-кумароилпрунин *in vitro* шароитида митохондрияда сукцинатни оксидланишини пасайтиради, глутаматни  $V_4$  ҳолатдаги оксидланишини секинлаштиради, оксидланишли фосфорланиш самарадорлиги оширади.

3. 3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванон *in vitro* шароитида митохондрияда глутамат оксидланишини  $6 \pm 1,3\%$  гача пасайтириб, сукцинатни оксидланишида АДФ/О коэффицентини  $44 \pm 3,2\%$  гача ошириши сукцинатдан протонларни НАД га қайта ташилишини кучайтириши билан изоҳланади.

4. Флавоноидлар, айниқса флавосан *in vitro* шароитида митохондрияларнинг ички мембранасининг турғунлигини оширганлиги сабабли эндоген литик энзимлар ва Ўрта Осиё кобра илони захаридан олинган фосфолипаза  $A_2$  ферментини дегидрогеназа ва оксидазаларга етиб боришини ва уларни гидролизлашини пасайтиради.

5. Флавосан жигар митохондрияларининг кислород истеъмолини,  $Ca^{2+}$  ни аккумуляцияланиши ва липидларнинг перекисли оксидланишини пасайтириб, АДФ/О коэффицентини глутамат билан ошириши, флавоноидларни мембранани стабиллигини ошириб *in vivo* шароитида ҳайвонларнинг кислород истеъмолини пасайтиришидан далолат беради.

6. Флавосан Ўрта Осиё кобра илони захари таъсирида митохондрияларнинг нафас олишини камайтириши,  $Ca^{2+}$  ни аккумуляцияси ва эркин радикалларнинг ҳосил бўлиш тезлигини секинлаштириши, оксидланишли фосфорланиш самарадорлигини ошириши флавосанни физиологик гомеостазни бузмасдан, организмни фаол метаболик ҳолатдан пассивроқ метаболик ҳолатга ўтказишини изоҳлайди.

7. *Thermopsis alterniflora* ўсимлигидан ажратиб олинган флавоноидлар асосида антитоксик, антигипоксанти ва антиоксидант фаолликларга эга бўлган дори воситаларини яратиш тавсия этилади.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ PhD.28.09.2018.В.76.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ  
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ПРИ НАМАНГАНСКОМ  
ГОСУДАРСТВЕННОМ УНИВЕРСИТЕТЕ**

---

**НАМАНГАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**МАМАЖАНОВ МУХТОРЖОН МУРОДУЛЛАЕВИЧ**

**РЕАКЦИЯ МИТОХОНДРИЙ НА ДЕЙСТВИЯ ФЛАВОСАНА, 3,5,7,2',6'-  
ПЕНТАГИДРОКСИФЛАВАНОНА И 6''-n-КУМАРОИЛПРУНИНА И  
АНТИТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ФЛАВОСАНА**

**03.00.08 – Физиология человека и животных**

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

**Наманган - 2019**

**Тема диссертации доктора философии (Doctor of Philosophy) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за В2017.3.PhD/В106.**

Диссертация выполнена в Наманганском государственном университете

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

<b>Научный руководитель:</b>	<b>Алматов Карим Тажибаевич</b> доктор биологических наук, профессор
<b>Официальные оппоненты:</b>	<b>Қодиров Шокир Қодирович</b> доктор медицинских наук, профессор <b>Позилов Маъмуржон Комилжонович</b> доктор философии (PhD) по биологическим наукам
<b>Ведущая организация:</b>	Ташкентский государственный педагогический университет имени Низомий

Защита диссертации состоится «28» февраля 2019 года в 10<sup>00</sup> часов на заседании Научного совета PhD.28.09.2018.В.76.01 при Наманганском государственном университете (Адрес: 160119, г. Наманган, ул. Уйчи, 316-дом. (+99869) 227-06-12; факс: (+99869) 227-07-61; e-mail: info@namdu.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Наманганского государственного университета (зарегистрировано под № 14). Адрес: 160119, г. Наманган, ул. Уйчи, 316-дом. Тел.: (+99869) 227-29-81.)

Автореферат диссертации разослан: «13» февраля 2019 г.  
(реестр протокола рассылки № 1 от «13» февраля 2019 г.)

**А.Э.Зайнабидинов**

Председатель научного совета по присуждению ученых степеней, д.б.н.

**Х.Э.Эргашева**

Ученый секретарь научного совета по присуждению ученых степеней, доктор философии по биологическим наукам.

**А.Р.Батошов**

Председатель научного семинара при научном совете по присуждению ученых степеней, д.б.н.

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

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** Увеличение количества заболеваний, которые угрожают здоровью человека в мире, приводит к ежегодному увеличению объема производства лекарственных препаратов на основе натурального растительного сырья. В то же время, разнообразие природы растительных субстанций, обладающие широким спектром фармакологических эффектов, указывает на необходимость повышения эффективности методов тестирования объектов в неклинических исследованиях. Соответственно, выявление высокотерапевтической растительных субстанций и усовершенствование методов их тестирования в лабораторной практике имеет важное научное и практическое значение.

В мире уделяется большое внимание оценке влияния флавоноидов на организм теплокровных организмов и повышению эффективности методов тестирования на основе международных стандартов их положительных свойств в лабораторной практике. В связи с этим установлено влияние различных классов флавоноидов на деятельность специфических тканевых медиаторов отдельных болезней, доказано их ингибирование индукции хемокинов и деятельности простагландинов больных клеток, выявлено ослабления активности некоторых пероксидантных ферментов или активации других эндогенных антиоксидантов флавоноидами. Следует отметить изменение функциональных параметров клеточных митохондрий при различных патологиях, прежде всего, отрицательно влияет на нарушение клеточного энергетического метаболизма, изменение активности ферментов дегидрогеназы и оксидазы, а также обмен ионов кальция в митохондриях и перекисное окисление липидов. В связи с этим, принимая во внимание структуру и свойства флавоноидов, привлечение их к коррекции патологических состояний, вызванных нарушением деятельности клеточных мембран, доказательство антигипоксантажного и антитоксического эффектов флавоноидов и разработка на этой основе гиполипидемических и цитопротекторных препаратов имеет большое научно-практическое значение.

В настоящее время в нашей республике особое внимание уделяется выделению биологически активных веществ из лекарственных растений и созданию импортозамещающих натуральных лекарственных средств на основе местного растительного сырья. На основе программных мер, принятых в этом направлении, в том числе, на основе растительного сырья, содержащих производные флавоноидов созданы препараты «Флатерон», «Рутин», «Антиаритмин», «Цитизин». В Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан<sup>2</sup> намечены задачи по дальнейшему развитию фармацевтической промышленности, обеспечение населения и медицинских учреждений доступными и качественными лекарственными

---

<sup>2</sup> Указ Президента Республики Узбекистан от 07.02.2017 № УП-4947 «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан»

средствами. Выходя из этих задач, имеет важное значение выделение флавоноидов растений, которые обладают лечебными свойствами, оценка их влияния на клеточную и мембранную деятельности и их применение в лечебной практике.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных Указом Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года УП-4947 «О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» и УП-5032 от 3 мая 2017 года о создании свободных экономических зон «Нукус-Фарм», «Зомин-Фарм», «Косонсой-Фарм», «Сирдарё-Фарм», «Бойсун-Фарм», «Бўстонлик-Фарм» и «Паркент-Фарм», Постановления Президента Республики Узбекистан от 20 апреля 2017 года ПП-2911 «О создании благоприятных условий для интенсивного развития фармацевтической промышленности республики» и ПП-3532 «О дополнительных мерах по усиленному развитию фармацевтической промышленности» от 14 февраля 2018 г, а также других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

**Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики.** Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологии республики – VI. «Медицина и фармакология».

**Степень изученности проблемы.** Исследования влияния флавоноидов на функций митохондрий, антиоксидантной, антистрессорной, антивирусной и ингибирующего влияний на организм проводились зарубежными учеными Gibellini et al., (2015), Tiwar N. et al. (2015), Lagoa R. и др. (2011), Kumar S. (2013).

В странах СНГ Залесский В.Н. (2003), Шутов Д.В. (2008), Александрова А.Е. (2005), Ефимов Д.А. (2012) изучали антиапоптотическое, антигипоксантающее, гепатопротекторное и кардиопротекторное действие флавоноидов.

Изучению молекулярных механизмов флавоноидов в нашей республике большой вклад внёс Алматов К.Т. (1998-2017). Он провел исследования по ферментативным процессам в биологических системах и катализу мембранной ферментативной реакции и влиянию флавоноидов на них. Асраров М.И. (2018) ведёт исследования по направлению исследования функциональных изменений мембран митохондрий при различных патологических состояниях, коррекции патологических мембранных нарушений растительными веществами.

Изменение митохондриальных реакций под влиянием флавоноидов, 6"-н-кумароилпрунина (КП) и 3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванона (ПГФ), физиологические механизмы антигипоксантающей эффективности и антиоксидантная эффективность флавоноидов еще не изучены. Поэтому проведение исследований, являющихся основным предметом этих исследований, имеет большое научно-практическое значение.



**Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ высшего образовательного учреждения, где выполнена диссертация.** Диссертационное исследование выполнено в рамках фундаментального проекта ОТ-ФЗ-146 «Свойства фтиазы и изучение значения полифенолов в метаболизме клетки» (2006-2011) плана научно-исследовательских работ Национального университета Узбекистана имени Мирзо Улугбека.

**Целью исследования** является определение влияния флавоноидов, 3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванона и 6'-n-кумароилпрунина на функциональную активность митохондрий в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, а также определение антиоксидантного эффекта флавоноидов.

**Задачи исследования:**

выявить влияние флавоноидов, ПГФ и КП на потребления кислорода митохондриями, ОФ, активность дегидрогеназы и оксидаз в условиях *in vitro*;

корректировать влияние литических ферментов на активность оксидаз митохондрий флавоноидами;

выявить влияние флавоноидов на потребление кислорода митохондрий печени крыс, ОФ, перенос кальция и ПОЛ в условиях *in vivo*;

корректировать флавоноидом влияние яда Среднеазиатской кобры на жизнеспособность животных, потребление кислорода, дыхание митохондрий и энергетический метаболизм, транспорт кальция и процессы ЛПО.

**Объектом исследования** являлись митохондрии печени, выделенные из печени белых крыс-самцов (180-200 г) и мышей (18-23 г), яд Среднеазиатской кобры (*Naja naja Oxiana Echwald*), флавоноид, ПГФ и КП.

**Предметом исследования** являлись выявление механизмов влияния флавоноидов на дыхание митохондрий, ОФ, активность дегидрогеназы и оксидаз, процессы основного обмена, транспорт кальция, процессы ПОЛ в условиях *in vitro* и *in vivo* опытах.

**Методы исследования.** В ходе исследования использованы дифференциального центрифугирования, фотоэлектрокалориметрии, рН-метрия, спектрофотометрия, полярография, широко применяемые в современной биофизике и физиологии, а также биохимические методы.

**Научная новизна исследования** состоит в следующем:

выявлено в *in vitro* условиях, в соответствии с продолжительностью инкубации и температуры среды флавоноид снижает дыхательный коэффициент и активность оксидантных ферментов, но не влиял на АДФ/О;

выявлена активация эффективности ОФ митохондрий, синтеза АТФ, оксидантных и дегидрогеназных ферментов под влиянием флавоноида КП;

доказано в *in vivo* условиях флавоноид снижал потребление кислорода, транспорт  $Ca^{2+}$ , процессы ПОЛ и повышал эффективность ОФ;

впервые доказаны нарушенные функции организма – живучесть животных, потреблению кислорода, эффективность ОФ, аккумуляция  $Ca^{2+}$  и перекисное окисление липидов можно корректировать флавоноидом.

**Практические результаты исследования** заключаются в следующем:

выявлены пути снижения доступа эндогенных литических ферментов и фермента фосфолипаза А<sub>2</sub>, полученный из яда змеи к активному центру дегидрогеназы и оксидазы флавоноидами, главным образом субстанцией флавосан;

разработаны рекомендации по созданию новых антитоксических и антигипоксантажных препаратов на основе флавосана, который корригирует функциональные параметры организма при отравлении змеиным ядом.

**Достоверность результатов исследования** подтверждается тем, что они получены с применением современных биофизических и биохимических методов исследования. Каждый эксперимент проводился как минимум в 6 кратном повторении. Обработка полученных данных статистически анализировалась на компьютерной программе *OriginPro 7.5* с вычислением промежуточных значений интервала достоверности среднего значения с помощью критерия Стьюдента.

**Научная и практическая значимость результатов исследования.** Научная значимость результатов исследования обусловлена возможностью регуляции потребления кислорода и ОФ, активации дегидрогеназ и оксидаз, транспорта ионов кальция митохондрий, а также процессов ПОЛ флавосаном, КП и ПГФ и подтверждением возможности использования флавоноидных производных при коррекции патологических состояний, возникающих с нарушением деятельности клеточных мембран.

Практическое значение результатов объясняется коррекцией активности мембранозависимых литических энзимов, предотвращением отрицательного влияния различных токсических и ядовитых веществ, разработкой мер, направленных на лечение стресса и сердечнососудистых заболеваний, а также созданию антиоксидантных, антигипоксантажных и антитоксических лекарственных средств на основе субстанций, выделенных из сырья местных растений.

**Внедрение результатов исследования.** На основании полученных данных по изучению реакции митохондрий на влияние флавосана, 3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванона и 6"-н-кумароиллпрунинов и антитоксическому эффекту флавосана:

результаты, полученные по положительному влиянию флавосана на функциональные активности митохондрий использованы при выявлении значения флавоноидов в обеспечении стабильности клеточных мембран в рамках проекта по теме «Инновационные технологии извлечения, идентификации полифенолов дикоросов ХМАО-Югры и исследование их геропротекторных свойств при возраст-ассоциированных заболеваниях на Севере» (Справка Сургутского государственного университета от 28 января 2019 года). В результате это дало возможность обосновывать геропротекторное влияние полифенолов в зависимых с возрастом заболеваниях и оценивать высокую биологическую активность природных полифенолов;

результаты, полученные по стабилизирующему влиянию на мембраны митохондрий, ингибирующему влиянию на аккумуляцию  $Ca^{2+}$  и снижающим свойствам процесса перекисного окисления липидов флавосана использованы при обосновании механизма влияния флавоноидов на деятельность организма в проекте Иб-ФА-Т008 «Организация производства субстанции Флатерон» (Справка №4/1255-1099 Академии Наук Республики Узбекистан от 30 апреля 2018 года). В результате это дало возможность оценить гипополипидемическое и антисклеротическое влияния флавосана на клеточные функции;

результаты, полученные, по влиянию флавосана на дыхание митохондрий клетки и энергетический метаболизм использованы, в проекте Иб-ФА-Т008 «Организация производства субстанции Флатерон» при выявлении активности растительных субстанций, состоящий из флавоноида и его производных в условиях гипоксии клетки (Справка №4/1255-144 Академии Наук Республики Узбекистан от 18 января 2018 года). В результате это дало возможность обосновывать обеспечение растительными флавоноидами защиту клеточных структур от свободно радикального окисления в условии гипоксии и экономного расхода кислорода на уровне организма.

**Апробация результатов исследования.** Результаты данного исследования обсуждены на 3 международных и 7 республиканских научно-практических конференциях.

**Опубликованность результатов исследования.** По теме диссертации опубликовано всего 15 печатных работ, их них 5 научных статей, в том числе 3 в республиканских и 2 в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертаций.

**Структура и объем диссертации.** Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, выводов, списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 132 страниц.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ**

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

В первой главе диссертации, озаглавленной «Современные взгляды о влиянии флавоноидов на клетки и митохондрий организма» приведены данные о влиянии флавоноидов на физиологические процессы, образование свободных радикалов, потребление кислорода митохондрий и

энергетический метаболизм. Кроме того, приведены данные новейшей литературы о значении митохондрий в формировании свободных радикалов в клетках и о роли кальция в функционировании митохондрий.

Согласно литературным данным, функциональные параметры митохондрий могут служить специальной мишенью для фармакологических средств (флавоноидов). Это даёт возможность организму исправлять функциональные изменения при различных патологиях с помощью флавоноидов и создавать новые эффективные лекарственные средства, раскрывать механизмы известных лекарств и расширять их восприятие.

Однако лекарственные средства, созданные на основе флавоноидов не полностью соответствуют требованиям современной медицины, и многие из них не доказали свою терапевтическую эффективность.

В связи с этим поиск более эффективных флавоноидов среди растительных соединений имеет важное значение в создании новых лекарств.

Во второй главе диссертации, озаглавленной **«Методы определения потребления кислорода организмом и митохондриями, образования свободных радикалов и транспорта кальция»** приводятся этапы проведения исследования, материалы и методы, использованных при их выполнении. В частности, выделение митохондрий из печени крыс с помощью дифференциального центрифугирования, полярографический метод определения скорости дыхания митохондрий и ОФ, измерение продуктов ПОЛ, накопления кальция в митохондриях, выявления активности дегидрогеназы и оксидазы в митохондриях, определения содержания белка в митохондриях и статистическая обработка результатов.

В третьей главе диссертации, озаглавленной **«Реакция митохондрий на влияние флавосана, 3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванона и 6''-п-кумароилпрунинов»** даются результаты исследования о регуляции дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий флавоноидами, влиянии флавоноидов на активность дегидрогеназы и оксидазы митохондрий, дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий печени, влиянии флавосана на газоокислородный обмен организма, дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий печени, коррекции аккумуляции кальция и процессов ПОЛ митохондрий с помощью флавосана.

*Регуляция дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий флавоноидами.* Проф. К.Т. Алматов и его ученики исследовали влияние лютеолина, хризозериола, апигенина и цинарозида, входящие в состав флавосана на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий. Однако совместное влияние всех этих флавонов на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий не выяснены. С этой целью было определено влияние флавосана на энергетическую систему митохондрий. Флавосан в *in vitro* условия снижает эффективность ОФ глутамата, несколько снижает окисление сукцината в  $V_3$  состоянии и дыхательный контроль по Чансу, однако не влияет на АДФ/О.

Значит, флавосан в первую очередь замедляет перенос электронов по

дыхательной цеп от НАД-зависимых субстратов на молекулярный кислород. В результате этого процесс ОФ замедляется. Флавосан почти не влияет на окисление сукцината.

В следующем эксперименте выяснилось влияние флавонона 6"-н-кумароилпрунина (КП) на дыхание и ОФ митохондрий печени крыс (таблица 1). 20, 40 и 60 мкг/мг концентрации КП при участии глутамата не влияет на метаболическое состояние  $V_3$  скорости дыхания митохондрий, однако дозозависимо снижает скорость окисления в состоянии  $V_4$ . В свою очередь при участии флавоноида КП снижение дыхания митохондрий в состоянии  $V_4$  приводит к снижению показателей ОФ. Дыхательный контроль по Чансу в концентрациях КП 20, 40 и 60 мкг/мг увеличивается на 4,6; 18,7 и 19,3 % соответственно и коэффициент АДФ/О на 6,3, 12,6 и 37,8 %, соответственно от уровня контроля. От полученных результатов можно прийти к такому выводу, что КП приводит к экономному потреблению кислорода и заметно увеличивает показатели ОФ. Биологическое значение энергетического преимущества окисления сукцината по сравнению с НАД-зависимыми субстратами заключается в том, что при окислении янтарной кислоты в осуществлении восстановительных процессов от состояния покоя на активное состояние, клетки обеспечиваются высокой энергией (1 таблица). Добавление КП в суспензию митохондрий привело дозозависимому снижению скорости окисления сукцината в метаболических состояниях  $V_3$  и  $V_4$ . При этом 20 мкг/мг концентрация флавоноида не повлияла на коэффициент АДФ/О и дыхательный контроль по Чансу. Однако добавление 40 и 60 мкг КП на мг белка митохондрий привело к повышению значения АДФ/О и дыхательного контроля по Чансу (таблица 1).

1 - таблица

**Влияние КП на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий**  
( $M \pm m$ ;  $n = 8-12$ ).

Показатели	Скорость дыхания (нг $O_2$ /мин.мг белка)			
	КП, мкг/мг белка			
	0	20	40	60
$V_3$ (Глутамат)	68,4 $\pm$ 2,6	66,6 $\pm$ 2,4	69,8 $\pm$ 2,6	65,4 $\pm$ 2,1
$V_4$	20,0 $\pm$ 1,1	18,6 $\pm$ 1,3	17,2 $\pm$ 1,2	16,0 $\pm$ 1,1*
ДК <sub>ч</sub>	3,42 $\pm$ 0,13	3,57 $\pm$ 0,12	4,06 $\pm$ 0,11**	4,07 $\pm$ 0,12***
АДФ/О	2,54 $\pm$ 0,06	2,70 $\pm$ 0,06	2,86 $\pm$ 0,07*	3,50 $\pm$ 0,08***
$V_3$ (Сукцинат)	116,8 $\pm$ 4,4	98,6 $\pm$ 4,2**	92,0 $\pm$ 4,8***	82,0 $\pm$ 4,4***
$V_4$	26,0 $\pm$ 2,4	22,0 $\pm$ 2,2	20,0 $\pm$ 2,0**	16,0 $\pm$ 2,2***
ДК <sub>ч</sub>	4,49 $\pm$ 0,13	4,48 $\pm$ 0,14	4,60 $\pm$ 0,13	5,12 $\pm$ 0,12*
АДФ/О	1,76 $\pm$ 0,08	1,76 $\pm$ 0,07	1,88 $\pm$ 0,07	1,95 $\pm$ 0,06*

**Примечание:** степень статистической достоверности значений экспериментальной группы по сравнению с контролем: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

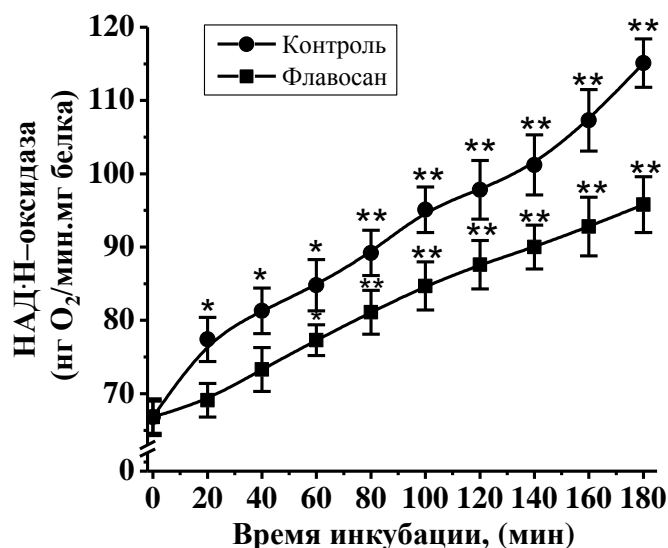
Это означает, что КП приводит митохондрии на экономный режим потребления кислорода. Значит, флавонон КП снижает окисления сукцината в митохондриях и усиливает перенос электронов от ФАД на НАД-зависимые

субстраты, это в свою очередь означает переход митохондрий от обычного состояния на высокоэнергетический уровень.

3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванон (ПГФ) почти не влиял на окисление глутамата в различных метаболических состояниях и ОФ митохондрий. Повышение содержания этого флавонона (40 и 60 мкг/мг белка) несколько снижает окисление глутамата в состоянии  $V_3$  и в результате заметного повышения окисления в состоянии  $V_4$  дыхательный контроль по Чансу и коэффициент АДФ/О несколько снизилось. При окислении сукцината в митохондриях малое количество ПГФ не влияет на окисление сукцината в митохондриях в различных метаболических состояниях. Однако, повышение содержания флавонона замедляет окисление сукцината, а коэффициент АДФ/О, наоборот повышает, но не влияет на величину дыхательного контроля по Чансу. Эти изменения ускорились в соответствии с повышением содержания флаванона, добавленного митохондриям. ПГФ усиливает обратный перенос протонов от сукцината на НАД в митохондриях и удовлетворяет требованиям клетки на АТФ.

*Влияние флавоноидов на активность дегидрогеназы и оксидаз митохондрий.* Чтобы оценить функциональную способность митохондрий изучение изменений активности дегидрогеназ и оксидаз внутренней мембраны митохондрий является очень важной задачей. Стабильность мембраны, нарушение ее структуры и восстановление, влияние различных биологически активных веществ определяется измерением активностей мембраносвязанных энзимов. В этих целях мы изучали, влияние флавоноидов на активность поли энзимных систем, расположенных во внутренней мембране митохондрий печени крыс. Флавосан в зависимости от содержания замедляет активность НАДН-дегидрогеназ и ротенон чувствительной НАД-оксидаз. При добавлении по 10 мкг флавосана на каждый мг белка митохондрий активность НАДН-дегидрогеназы и ротенон чувствительной НАД-оксидаз снижается на 13,1 и 14,3%, по 20 мкг на 23 и 25%, по 30 мкг на 41,1 и 40% соответственно от уровня контроля. От полученного результата можно прийти к такому выводу, что флавосан снижает достижение субстратов на активный центр НАДН-дегидрогеназы. При изучении влияния флавосана на активности сукцинатдегидрогеназы и сукцинатоксидазы митохондрий, было выявлено, что малое количество флавосана не влияет на этот энзим, а при повышении концентрации флавосана эффект оказался не заметным. Также выявлено влияние флавосана на активность оксидазных систем митохондрий эндогенных литических энзимов.

При инкубации митохондрий в 20°C в соответствии с течением времени активность ротенон чувствительной НАДН-оксидазы постепенно повышается и к 180 минуте повышается на 1.72 раз по сравнению с показателем до инкубации (рис.1).



**Рис. 1. Влияние флавосана на активность ротенон-чувствительной НАДН-оксидазы в митохондриях.** По оси ординаты – активность ротенон-чувствительной НАДН-оксидазы (нг O<sub>2</sub>/мин.мг белка); по оси абсциссы – время инкубации (температура инкубации  $t=+20^{\circ}\text{C}$ ); относительно контроля \* –  $p<0,05$ , \*\* –  $p<0,01$  ( $n=8-10$ ).

При инкубации митохондрий с добавлением флавосана в этих условиях также увеличивается активность ротенон чувствительной НАДН-оксидазы, однако этот процесс течёт намного медленнее контроля, т.е. в 180 минуте повысилась на 1,43 раза. Значит, флавосан заметно снижает влияние эндогенных литических энзимов, свободных радикалов и активных форм кислорода на внутреннюю мембрану митохондрий. Поэтому из-за замедления достижения НАДН к активному центру НАДН-дегидрогеназы повышение активности по сравнению с контролем бывает ниже.

Если повысить инкубационное условие от  $20^{\circ}\text{C}$  до  $36,7^{\circ}\text{C}$ , наблюдается изменение активности ротенон чувствительной НАДН-оксидазы и сукцинатоксидазы в ходе инкубации (рис.2). В этих условиях в начале инкубации активность оксидаз немного повышается, но с течением инкубации активность оксидаз начинает снижаться. По сравнению с контролем при добавлении флавосана повышение оксидаз митохондрий в начале инкубации и в дальнейшем с течением инкубации снижение бывает медленнее. Если в 300 минуте в контрольных митохондриях активности ротенон чувствительной НАДН-оксидаз и сукцинатоксидазы снижается на 72,0 и 50,1%, в митохондриях с флавосаном на 41,6 и 28,2%. Полученный результат ещё раз доказывает правильность нашего предположения о повышении компактности внутренней мембраны митохондрий флавосаном (рис.2, А и Б).

Компактность мембраны зависит от соотношений липид-липид, липид-белок и от бислойных и монослойных участков. Это можно определить с добавлением экзогенных фосфолипаз и протеаз на мембраны, в том числе мембранных энзимов и под влиянием активности энзимов дыхательной цепи внутренней мембраны митохондрий.

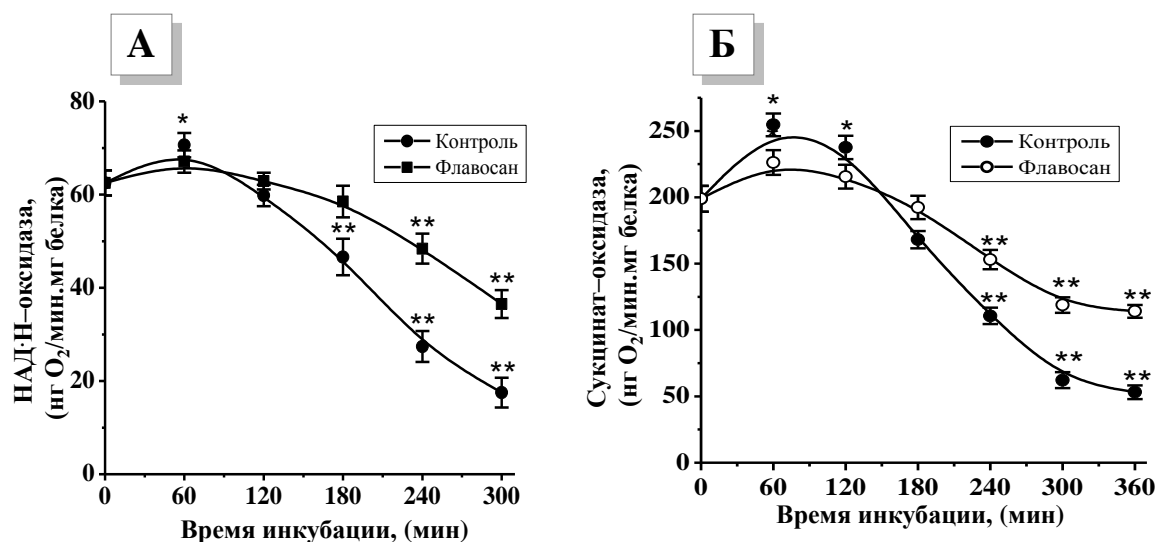


Рис. 2. Влияние флавосана на активности ротенон-чувствительной НАДН-оксидазы (А) и сукцинат-оксидазы (Б) в митохондриях. По оси ординаты – активность ротенон-чувствительной НАДН-оксидазы (нг O<sub>2</sub>/мин.мг белка); по оси абсциссы – время инкубации (температура инкубации  $t=+36,7^{\circ}\text{C}$ ); относительно контроля \* –  $p<0,05$ , \*\* –  $p<0,01$  ( $n=8-10$ ).

Поэтому в наших экспериментах мы изучали изменения активностей оксидаз с добавлением в митохондрии фосфолипазы A<sub>2</sub> яда среднеазиатской кобры (змеиный яд) и флавосана. При инкубации митохондрий в 20°C в 20, 40, 60 и 80 минутах с добавлением фосфолипазы A<sub>2</sub> активность сукцинат-оксидазы снизилась на 25,4; 43,6 и 61,8%, а с флавосаном на 10,0; 23,3; 34,6 и 52,7%, соответственно. Значит, флавосан снижая содержание «монослойных» участков митохондриальной мембраны увеличивает содержание «бислойных» участков, в результате снижается влияние различных биологически активных веществ на мембраны.

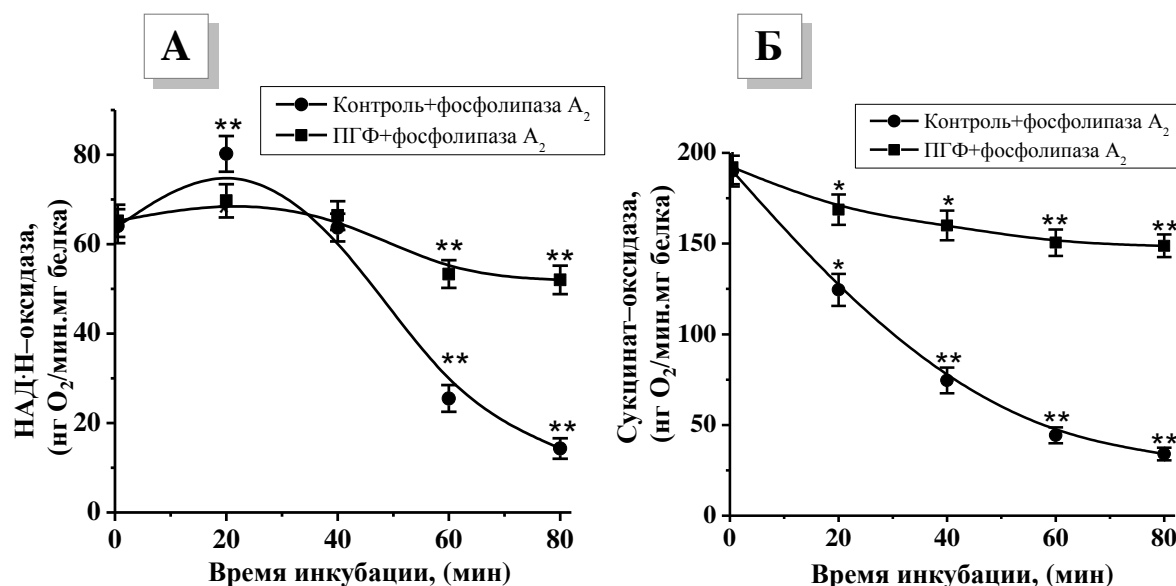
6"-n-кумароилпрунин снижает активности полиэнзимных систем внутренней мембраны митохондрий в зависимости от содержания флавонона. Обычно активация мембраносвязанных энзимов зависит от облегчения достижения субстратов на активный центр энзимов в результате малейшего нарушения мембраны, а снижение активности связано с усилением нарушения компактности мембраны. Чтобы проверить это после добавления 40 мкг КП на 1 мг митохондриального белка, митохондрии инкубировались при 20°C в течение 180 мин и проверялась активность ротенон чувствительной НАДН-оксидазы. В течение 180 минут в контрольных митохондриях активность ротенон чувствительной НАДН-оксидазы повысилась, и такая же активность наблюдалась у КП добавленных митохондриях. При инкубации митохондрий в температуре 36,7°C с 40 мкг КП, стало очевидным, что оксидазы внутренней мембраны сохраняют свою активность дольше чем контрольные показатели.

3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванон (ПГФ) не влияет на активности НАДН-дегидрогеназы, ротенон чувствительной НАДН-оксидазы, сукцинатдегидрогеназы и сукцинатоксидазы, расположенных во внутренней



мембране митохондрий. Однако, повышение содержания добавленного в митохондрий ПГФ снижает активности сукцинатдегидрогеназы и сукцинатоксидазы.

ПГФ повышает стабильность мембраны митохондрий. С этой точки зрения, в следующем эксперименте к митохондриям добавляли ПГФ, затем на него вливали выделенной из яда *Naja naja Oxiana Echwald* фосфолипаза  $A_2$  и после  $20^\circ\text{C}$  инкубации выявляли изменение активности оксидаз. При инкубации контрольных митохондрий добавлением фосфолипазы  $A_2$  в 20 минуте активность ротенон чувствительной НАДН-оксидазы повысилась на 1,25 раза, а с участием ПГФ всего лишь на 1,07 раза. По истечении 40 минут было выявлено, что активность оксидаз митохондрий обеих групп возвращается на пред инкубационное состояние. К 60 и 80 минутам опыта активность оксидаз контрольных митохондрий снизилась на 1,50 и 1,78 раза, а с участием ПГФ всего лишь на 1,08 и 1,20 раза (рис. 3. А).



**Рис. 3. Влияние ПГФ и фосфолипазы  $A_2$  на активности ротенон-чувствительной НАДН-оксидазы (А) и сукцинат-оксидазы (Б) в митохондриях.** По оси ординаты – активность ротенон-чувствительной НАДН-оксидазы (нг  $O_2$ /мин.мг белка); по оси абсциссы – время инкубации (температура инкубации  $t=+20^\circ\text{C}$ ); относительно контроля \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  ( $n=8-10$ ).

Активность сукцинатоксидазы контрольных митохондрий начала резко снижаться под влиянием фосфолипазы  $A_2$ . Причина этого является расположение НАДН-дегидрогеназы в центральной части внутренней мембраны и трудность достижения фосфолипазы  $A_2$  к активному центру этого фермента, а из-за периферического расположения сукцинатдегидрогеназы фосфолипаза  $A_2$  быстрее достигает к активному центру.

В 20, 40, 60 и 80 минутах эксперимента активность сукцинатоксидазы контрольных митохондрий сократилась на 1,28; 1,50; 1,64 и 1,82 раза, а с участием ПГФ только на – 1,07; 1,14; 1,16 и 1,23 раза (Рис. 3, Б). Из этого можно прийти к такому выводу, что ПГФ препятствует достижению

фосфолипазы  $A_2$  к активным центрам НАДН-дегидрогеназы и сукцинатоксидазы. (Рис. 3,А, Б).

В четвёртой главе диссертации, озаглавленной «**Антитоксическое влияние флавосана**» приводятся результаты коррекции флавосаном влияния яда среднеазиатской кобры на живучесть и потребление кислорода, а также коррекция с помощью флавосана дыхания и ОФ митохондрий печени, аккумуляции  $Ca^{2+}$  и ПОЛ.

*Влияние змеиного яда на живучесть животных и потребление кислорода и его коррекция с помощью флавосана.* После введения в тела подопытных животных 2 мкг/кг яда, изучалось изменения продолжительности жизни животных с введением различной дозы флавосана по истечении минуты (таблица 2).

**Таблица 2**

**Изменение живучести животных, получивших яд среднеазиатской кобры (2 мкг/кг) под влиянием флавосана ( $M \pm m$ ;  $n = 6-7$ )**

Флавосан (мг/кг)	Продолжительность живучести животных, (мин)			
	Крыса	%	Мышь	%
Контроль	43±3	100	30±2	100
250	55±4**	128	35±3*	118
500	85±5***	197	49±4***	164
750	122±7***	284	76±5***	255
1000	170±10***	395	98±7***	326

**Примечание:** степень статистической достоверности значений экспериментальной группы по сравнению с контролем: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

После введения 2 мкг/кг яда змеи в тела контрольных крыс, по истечении 43±3 минут они погибали. При введении 250, 500, 750 и 1000 мг/кг флавосана в тела отравленных крыс, продолжительность жизни животных увеличилась на 1,28; 1,97; 2,84 и 3,95 раз, по сравнению с контрольными крысами. Под влиянием флавосана вышеупомянутые изменения наблюдались и у отравленных мышей (таблица 2).

Если без флавосана продолжительность жизни мышей закончилась за 30±3, то при введении флавосана по 250, 500, 750 и 1000 мг в организм животных, продолжительность их жизни по сравнению с контрольными животными увеличилась на 1,16, 1,64; 2,53 и 3,26 раза. Таким образом, антитоксическое влияние флавосана проявляется в заметном снижении влияния яда среднеазиатской кобры на организм животных.

В нашем следующем эксперименте приводятся результаты полученные по изменениям потребления кислорода животных под влиянием яда среднеазиатской кобры и влиянию флавосана на эти процессы. После введения яда в тела крыс, по истечении 4 минут потребление кислорода повысилось на 1,42 раза, а через 10 минут на 1,14 раза от уровня контроля. По мере увеличения периода влияния яда потребление кислорода постепенно снижается и приближается к показателям контроля. По истечении 20 минут

под влиянием яда потребление кислорода крыс замедляется на 1,20 раз от уровня контроля. Продолжение эксперимента ещё более усилило снижение потребления кислорода, т.е. по истечении 40 мин потребление кислорода замедлилось на 1,47 раз по сравнению с показателями контроля. В 42 минуте опыта крысы погибли. После введения 500 мг/кг флавосана в тела отравленных животных, по истечении определённых минут (4-80 мин) потребление кислорода замедляется относительно показателей контроля. По истечении 60 минут основной обмен крыс резко снижается относительно контроля и к 85 минуте животные погибли.

После введения 1000 мг/кг флавосана в тела отравленных животных, по истечении времени (4-165 мин.) скорость основного обмена ощутимо снизилось по сравнению с контролем и в 170 минуте животные начали погибать. Эффект флавосана против влияния яда, во-первых выражается в резком замедлении основного обмена животных в начале опыта, во-вторых проявляется дозозависимым замедлением основного обмена животных и продлением их жизни флавосаном. Полученные результаты свидетельствуют о замедлении распространения яда в организме.

Также было изучено влияние флавосана на потребление кислорода и окислительное фосфорилирование митохондрий печени животных, получивших змеиный яд. Следовательно, змеиный яд (2 мкг/кг) снижает ОФ, т.е. синтез АТФ митохондрий печени. Эти изменения наблюдаются резким повышением окисления в метаболических состояниях  $V_2$  и  $V_4$  митохондрий. В результате дыхательный контроль и коэффициент АДФ/О снижается. Флавосан почти не влияет на окислительное фосфорилирование митохондрий, однако снижая окисление в метаболических состояниях  $V_2$  и  $V_4$ , приближает к показателям здоровых животных. Эти изменения при окислении глутамата несколько приближают дыхательный контроль по Чансу и коэффициент АДФ/О, а с сукцинатом ощутимо приближают к показателям контроля.

*Коррекция флавосаном влияния змеиного яда на аккумуляцию кальция в митохондриях печени.* В различных патологических условиях, в чрезвычайном накоплении кальция в митохондриях приводит к открытию неспецифических пор в мембране и потере важных функций митохондрий [Huttemann M. et al., 2008]. Однако нарушения митохондриальных функций с помощью иона кальция всё ещё неизвестно. Поэтому изучение  $Ca^{2+}$  на уровне клетки, органеллы и мембраны является одной из актуальных проблем. Было изучено влияние флавосана на аккумуляцию  $Ca^{2+}$  митохондриях печени крыс, получивших змеиный яд (2 мкг/кг) (рис. 4). Если в митохондриях печени отравленных ядом крыс перенос  $Ca^{2+}$  по сравнению с показателями здоровых животных увеличивается на 226,7%, то у животных отравленных ядом и получивших флавосан увеличивается всего лишь на 68,7%. Значит, под влиянием яда приток  $Ca^{2+}$  в митохондрии печени резко увеличивается по сравнению с показателями здоровых животных, а флавосан замедляет этот процесс (рис. 4).

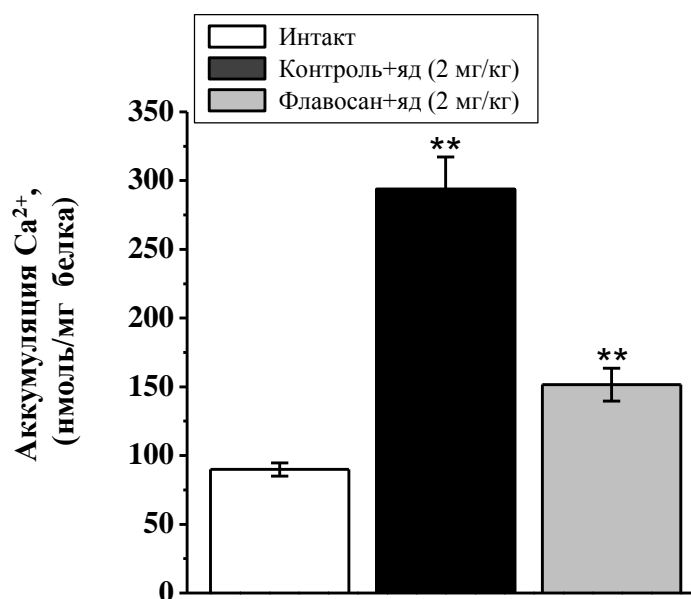


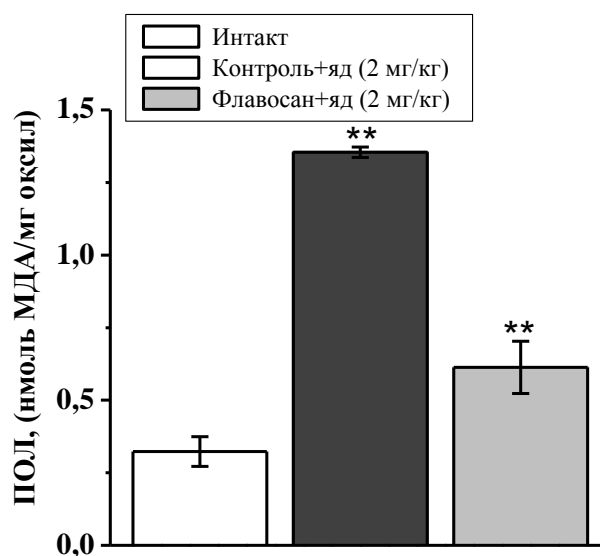
Рис. 4. Влияние флавоанана на процесс аккумуляции Ca<sup>2+</sup> в митохондриях печени крыс. По оси ординаты – аккумуляция Ca<sup>2+</sup> (нмоль/мг белка); \*\* –  $p < 0,01$  по сравнению с контролем ( $n=8-10$ ).

Таким образом, предположено снижение дыхания митохондрий печени, активности ОФ и аккумуляции Ca<sup>2+</sup> флавоананом, в свою очередь за счет снижения генерации свободных радикалов он препятствует отрицательному действию яда кобры.

*Коррекция флавоананом влияния змеиного яда на перекисное окисление липидов в митохондриях печени.* В экспериментах было выявлено, что инъекция яда змеи (2 мкг/кг) содержание малонового диальдегида (МДА) увеличилось на 319,2%, а в условии инкубации флавоананом (500 мг/кг) всего на 89,7% (рис. 5). Таким образом, анализ полученных результатов подтверждает, что флавоанан противоречит негативному воздействию яда кобры на организмы. Это можно объяснить повышенной стабилизацией мембраны из-за увеличения «бислоиных» участков мембран гепатоцитов и митохондрий, что, в свою очередь, может снизить гидролитическую активность фосфолипазы А<sub>2</sub> в фосфолипидах в яде змеи и ослабить активность ПОЛ в мембране.

В частности, в работах ряда исследователей отмечено, что увеличение количества «бислоиных» областей в биомембранной структуре привело к снижению гидролитической активности фосфолипаз и процесса ПОЛ в фосфолипидах (Владимиров Ю.А., 1989; Алматов К.Т., 1990).

Увеличение количества «бислоиных» сфер в мембране под действием флавоанана улучшает стабильность мембраны, тем самым уменьшая действие свободных радикалов и фосфолипаз/протеаз.



**Рис. 5. Коррекция динамики изменения процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) в митохондриях печени крысы флавосаном (500 мг/кг) в условии инъекции яда кобры (2 мкг/кг). По оси ординаты – ПОЛ (нмоль МДА/мг белка); \*\* – относительно контроля  $p < 0,01$  ( $n = 8-10$ ).**

Также флавосан уменьшает потребление кислорода в тканях и частоту дыхания митохондрий, что означает, что скорость транспорта в клетках ткани уменьшается и, в свою очередь, снижает уровень токсического повреждения вследствие инактивации метаболического процесса из активного состояния.

## ВЫВОДЫ

1. Флавосан в условиях *in vitro* снижает эффективность окислительного фосфорилирования глутамата, несколько снижает окисление сукцината в состоянии  $V_3$  и показатель дыхания по Чансу, но не влияет на АДФ/О. Это объясняется тем флавосан снижает перенос электронов по дыхательной цепи от НАД зависимых субстратов до молекулярного кислорода.
2. В *in vitro* условиях 6"-п-кумароилпрунин уменьшает окисление сукцина в митохондриях, замедляет окисление глутамата в состоянии  $V_4$ , повышает эффективность окислительного фосфорилирования.
3. 3,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванон в *in vitro* условиях снижает окисления глутамата до  $6 \pm 1,3\%$  в митохондриях, увеличение коэффициента АДФ/О до  $44 \pm 3,2\%$  объясняется усилением обратного переноса протонов от сукцината на НАД.
4. Вследствие того, что флавоноиды, особенно флавосан повышает устойчивость внутренней мембраны митохондрий в *in vitro* условиях, снижают достижение эндогенных литических энзимов и фермента фосфолипазы  $A_2$  яда среднеазиатской кобры к дегидрогеназам и оксидазам и их гидролиз.

5. Флавосан снижает потребление кислорода, аккумуляцию кальция и перекисное окисление липидов митохондрий печени, повышает коэффициент АДФ/О глутаматом, флавоноиды увеличивают стабильность мембраны и в *in vivo* условиях снижает потребление кислорода животными.
6. Флавосан снижает дыхание митохондрий под влиянием яда Среднеазиатской кобры, замедляет рост аккумуляцию  $Ca^{2+}$  и свободных радикалов, повышает эффективность окислительного фосфорилирования, флавосан переводит организм из активного метаболического состояния в пассивное метаболическое состояние, не разрушая физиологический гомеостаз.
7. На основе флавоноидов, выделенных из растения *Thermopsis alterniflora* рекомендуется создание лекарственных средств с антитоксической, антигипоксантажной и антиоксидантной активностью.

**SCIENTIFIC COUNCIL PhD.28.09.2018.B.76.01 ON AWARDING  
SCIENTIFIC DEGREE AT NAMANGAN STATE UNIVERSITY**

---

**NAMANGAN STATE UNIVERSITY**

**MAMAJANOV MUKHTORJON MURODULLAEVICH**

**THE MITOCHONDRIAL REACTION TO THE ACTIONS OF  
FLAVOSAN, 3,5,7,2',6' -PENTAHYDROXYFLAVANONE AND 6''-n-  
COUMAROYLPRUNIN AND THE ANTITOXIC EFFECT OF FLAVOSAN**

**03.00.08 – Human and animal physiology**

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

**Namangan - 2019**

**The theme of Doctor of Philosophy (PhD) dissertation is registered in the Higher Attestation Commission under the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan for B2017.3.PhD/B106.**

The dissertation has been prepared at the Namangan State University

The dissertation abstract in three languages (Uzbek, Russian, English (summary)) is available on the web page of the Scientific Council ([info@namdu.uz](mailto:info@namdu.uz)) and Ziyonet information and educational portal ([www.ziyonet.uz](http://www.ziyonet.uz)).

**Scientific director:** Almatov Karim Tajibayevich  
doctor of biological sciences, professor

**Official opponents:** **Kodirov Shokir Kodirovich**  
doctor of medical sciences, professor

**Pozilov Mamurjon Komilovich**  
doctor of Philosophy (PhD)

**Leading organization:** **Tashkent State pedagogical university**

The defense of the thesis will be held on «28» february 2019 at 10<sup>00</sup> hours at the meeting of the Scientific Council PhD.28.09.2018.B.76.01 at Namangan State University (Address: 160119, Namangan, Uychi St., 316-house. (+99869) 227-06-12; fax: (+99869) 227-07-61; e-mail: [info@namdu.uz](mailto:info@namdu.uz)).

The dissertation is available at the Information Resource Center of Namangan State University (registered under No. 14). Address: 160119, Namangan, st. Uychi, 316-house. Tel: (+99869) 227-29-81.

The dissertation abstract is sent out: «13» february 2019  
(registry of the distribution protocol No. 1 dated «13» february 2019)

A.E. Zaynabiddinov  
Chairman of the Scientific Council  
for awarding scientific degrees, DSc

H.E. Ergasheva  
Scientific Secretary of the Scientific Council  
for awarding scientific degrees,  
PhD in biological sciences

A.R. Batoshov  
Chairman of the Scientific Seminar  
Council for awarding scientific degrees, DSc



## INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

**The aim of the research work** was to research influence of flavosanol, 3,5,7,2',6'-pentahydroxyflavanone (PHF) and 6"-n-coumaroylprunin (CP) on respiration of mitochondria and OP, *in vitro* and flavosanol activity on the basal metabolism of animals, mitochondrial respiration, energy metabolism,  $\text{Ca}^{2+}$  accumulation and lipid peroxidation under *in vivo* conditions, as well as the detection of the anti-toxic effect of flavosanol.

**The objects of the research work** are white male rats, weighing 180-200 g and liver mitochondria, isolated from rat liver, central Asian cobra venom, flavosanol, PHF and CP.

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

it was revealed a decrease in the respiratory coefficient and activity of oxidase enzymes under the influence of flavosanol, depending on the incubation time and ambient temperature *in vitro*;

it was revealed activation of the efficiency of liver mitochondrial OP, ATP synthesis, oxidase enzymes and dehydrogenases under the influence of flavonoid CP;

it was proven to reduce oxygen consumption and body temperature of animals (not observed during sleep and death), reduced oxygen consumption by liver mitochondria,  $\text{Ca}^{2+}$  transport, lipid peroxidation processes, and increased effectiveness of OP under the influence of flavosanol;

it was revealed that flavosanol firstly increases the oxygen consumption of animals, mitochondrial respiration and then decreases, the effectiveness of OP, on the contrary, increases and approaches the control readings against the background of the negative effect of the venom of the snake on the organism.

**Implementation of the research results:** Based on the scientific results, obtained by the reaction of mitochondria on the effect of flavosanol, 3,5,7,2',6'-pentahydroxyflavanone and 6"-n-coumaroylprunin and the antitoxic effect of flavosanol:

The results obtained on the positive effect of flavosanol on the functional activities of mitochondria were used to identify the values of flavonoids in ensuring the stability of cell membranes in the framework of the project "Isolation of wild plant polyphenols in the KhMAD-Ugra, innovative identification technologies and their investigation in northern diseases associated with age" (Certificate of Surgut State University dated January 28, 2019). As a result, this made it possible to substantiate the geroprotective effect of polyphenols in age-dependent diseases and to evaluate the high biological activity of natural polyphenols;

The results obtained on the stabilizing effect on mitochondrial membranes, the inhibitory effect on  $\text{Ca}^{2+}$  accumulation and the reducing properties of the lipid peroxidation process of flavosanol were used to substantiate the mechanism of influence of flavonoids on the body's activity in the I6-FA-T008 project "Organization of the production of the Flaterone substance" (Reference № 4/1255-1099 Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan from April 30,

2018). As a result, this made it possible to evaluate the hypolipidemic and anti-sclerotic effects of flavosan on cellular functions;

The results obtained on the effect of flavosan on cell mitochondrial respiration and energy metabolism were used in the I6-FA-T008 Project “Organization of the production of the Flaterone substance” in identifying the activity of plant substances consisting of flavonoid and its derivatives under cell hypoxia conditions (Reference № 4/1255-144 of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan dated January 18, 2018). As a result, this made it possible to substantiate the provision of plant flavonoids to protect cellular structures from free radical oxidation under the condition of hypoxia and the economical consumption of oxygen at the level of the organism.

**The structure and volume of the thesis.** The structure of the thesis consists of introduction, 4 chapters, conclusions, references. The volume of the thesis is 132 pages

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

**I бўлим (I часть; Part I)**

1. Мамажанов М.М., Алматов К.Т., Хушбактова З.А., Сыров В.В. Влияние 6"-кумароилпрунина на энергетический метаболизм митохондрий // Ўзбекистон биология журналы. – Тошкент, 2013. –№5. – Б. 9-12. (03.00.00; №5).
2. Мамажанов М.М., Алматов К.Т. 6"-кумароилпрунинни митохондрияларнинг дегидрогеназа ва оксидазаларининг фаолликларига таъсири // Инфекция, иммунитет и фармакология. – Ташкент, 2014. –№4. – Б. 71-76. (03.00.00; №7).
3. Мамажанов М.М., Алматов К.Т. 3,5,7,2<sup>1</sup>,6<sup>1</sup>-пентагидроксифлаванон билан митохондриялардаги дегидрогеназа ва оксидазаларининг фаолликларини бошқариш // Назарий ва клиник тиббиёт журналы. – Тошкент, 2015. –№1. – Б.35-39. (03.00.00; №4).
4. Mamajanov M. M., Almatov K.T., Niyazmetov B. A. Influence of 6<sup>n</sup>-cumaroilprunine on the respiration and energetic function of mitochondria // European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences, 2016. –№ 3(11). – P. 82-84. (№5 Global Impact Factor; IF-0.377).
5. Mamajanov M.M., Mirzakulov S.O., Almatov K.T., Botirov E.Kh. Correction of physical-biochemical processes in the organism by flavosan // European science review. – Vienna, 2017. – №11-12. – P. 15-24. (03.00.00; №6).

**II бўлим (II часть; Part II)**

6. Мамажанов М.М., Хушбактова З.А., Алматов К.Т. Влияние флавосана на основной обмен и энергетический метаболизм митохондрий некоторых органов крыс // Актуальные проблемы биологии, экологии и почвоведения: тезисы докладов республиканской конференции. – Ташкент, 2006. – С. 74.
7. Рахимова Ш., Мамажанов М.М. Гипоксияда флавосанни асосий алмашинувга таъсири // Актуальные проблемы биологии, экологии и почвоведения: тезисы докладов республиканской конференции. – Ташкент, 2006. – С. 83.
8. Алматов К.Т., Мамажанов М.М., Хушбактова З.А. Антиядовые действие флавосана // Физикавий-кимёвий биология ва биотехнологиянинг истиқболлари: республика илмий-амалий анжуман материаллари. – Андижон, 2007. – Б. 276-277.
9. Алматов К.Т., Мамажанов М. М., Хушбактова З. А., Ширинова И.А., Клемешева Л.С. Действие флавосана на основной обмен животных отравленных ядом среднеазиатской кобры *Naja naja Oxiana* Echwald // Физикавий-кимёвий биология ва биотехнологиянинг истиқболлари:

республика илмий-амалий анжуман материаллари. –Андижон, 2007.– Б. 274-276.

10. Мирзакулов С.О., Мамажанов М.М. Влияния вексинала на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий // Материалы XLVIII международной научной студенческой конференции. – Новосибирск, 2010. – С. 39.

11. Мамажанов М. М., Хушбактова З. А., Клемешева Л. С., Алматов К.Т. Влияние 2,5,7,2',6'-пентагидроксифлаванона на энергетической функции митохондрий и их коррекции этиленгликол-бис-(2-аминоэтиловый эфир)-N,N-тетрауксусной кислотой // Сборник тезисов докладов республиканской студенческой научно-практической конференции молодёжи Узбекистана. – Ташкент, 2013.– С. 48.

12. Мамажанов М. М., Алматов К.Т. Митохондрияларни 36,7<sup>0</sup> да инкубация қилинганда липидларнинг перекисли оксидланиши жараёнини ўзгариши ва уни флавосан билан коррекциялаш // Физик – кимёвий биологиянинг долзарб муаммолари: республика илмий-амалий анжуман материаллари. – Тошкент, 2015. –Б.183-185.

13. М. М. Мамажанов, С. О. Мирзакулов., К. Т. Алматов 6<sup>11</sup>-кумароилпрунинни митохондрияларда липидларнинг перекисли оксидланишига таъсири // Биология ва экологиянинг долзарб муаммолари: республика илмий-амалий анжумани материаллари. – Тошкент, 2015.– Б 128-131.

14. Мамажанов М.М., Алматов К.Т. Влияние цинорозида и термозозида на энергетический метаболизм митохондрий // Теоретические и прикладные проблемы современной науки и образования: Материалы международной научно-практической конференции. – Курск, 2016. – С. 206-210.

15. Мамажанов М.М., Алматов К.Т. Регуляция влияния 6"-кумароилпрунина на энергетическую функцию митохондрий с этиленгликол-бис-(2-аминоэтиловый эфир)-N,N-тетрауксусной кислотой // Теоретические и прикладные проблемы современной науки и образования: Материалы международной научно-практической конференции. – Курск, 2016. – С. 202-206.







