

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

---

**БИОФИЗИКА ВА БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ**

**ЕСИМБЕТОВ АДИБАЙ ТЛЕПОВИЧ**

**ЎЗБЕКИСТОН ЎСИМЛИКЛАРИ АЙРИМ АЛКАЛОИДЛАРИ ВА  
ФЛАВОНОИДЛАРИНИНГ ВАЗОРЕЛАКСАНТ ТАЪСИРИНИ  
ТАВСИФЛАШ**

**03.00.08 – Одам ва ҳайвонлар физиологияси**

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc)  
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

**Тошкент - 2020**

**Фан доктори (DSc) диссертацияси автореферати мундарижаси**

**Оглавление автореферата диссертации доктора наук (DSc)**

**Content of the abstract of doctor of science (DSc)**

**Есимбетов Адилбай Глепович**

Ўзбекистон ўсимликлари айрим алкалоидлари ва флавоноидларининг  
вазорефексант таъсирини тавсифлаш.....3

**Есимбетов Адилбай Глепович**

Характеристика вазорефексантного действия некоторых алкалоидов и  
флавоноидов растений Узбекистана ..... 31

**Esimbetov Adilbay Glepovich**

Characteristics of the vasorelaxant actions of some alkaloids and flavonoids  
of plants from Uzbekistan.....58

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works..... 62

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

---

**БИОФИЗИКА ВА БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ**

**ЕСИМБЕТОВ АДИБАЙ ТЛЕПОВИЧ**

**ЎЗБЕКИСТОН ЎСИМЛИКЛАРИ АЙРИМ АЛКАЛОИДЛАРИ ВА  
ФЛАВОНОИДЛАРИНИНГ ВАЗОРЕЛАКСАНТ ТАЪСИРИНИ  
ТАВСИФЛАШ**

**03.00.08 – Одам ва ҳайвонлар физиологияси**

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc)  
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

**Тошкент - 2020**

Фан доктори (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2020.3.DSc/B116 рақам билан рўйхатга олинган.

Докторлик диссертацияси Бердақ номидаги Қорақалпоқ давлат университетида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифаси www.nuu.uz va «ZiyoNet» ахборот таълим тармоғида (www.ziynet.uz) жойлаштирилган.


Илмий маслаҳатчи:	Усманов Пулат Бекмуратович биология фанлари доктори, профессор
Расмий оппонентлар:	Кучкарова Любовь Салижановна биология фанлари доктори, профессор Алламуратов Шухратулла Иноятович биология фанлари доктори, профессор Туляганов Рустам Турсунович биология фанлари доктори, доцент
Етакчи ташкилот:	Қарши давлат университети

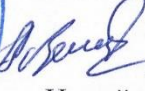
Диссертация ҳимояси Ўзбекистон Миллий университети Биофизика ва биокимё институти ҳузуридаги илмий даражалар берувчи DSc.03/30.12.2019.B.01.13 рақамли Илмий кенгашнинг 2020 йил «23» 12 соат 14<sup>00</sup> даги мажлисида бўлиб ўтади (манзил: 100174, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси, 174-уй. Тел.: (99871) 246-68-96).

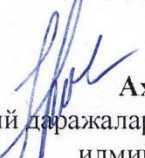
Диссертация билан Ўзбекистон Миллий университети ҳузуридаги Биофизика ва биокимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (№21 рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 100174, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси, 174-уй. Тел.: (99871) 246-68-96. e-mail: ibb-nuu@mail.ru; asrarov54@mail.ru.

Диссертация автореферати 2020 йил «11» 12 кун тарқатилди.  
(2020 йил «11» 12 даги № 1 рақамли реестр баённомаси).



 **Сабилов Равшан Заирович**  
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш  
раиси, б.ф.д., академик

 **Асраров Музаффар Исламович**  
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш  
илмий котиби, б.ф.д., профессор

 **Ахмеджанов Искандар Гулямович**  
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш қошидаги  
илмий семинар раиси, б.ф.д., профессор

## КИРИШ (Фан доктори (DSc) диссертациясининг аннотацияси)

**Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати.** Юрак-қон томир тизими касалликлари (ЮҚТК) кенг тарқалган патологиялардан бири ҳисобланиб, бугунги кунда дунёнинг ривожланган давлатлари аҳолиси орасида ўлим ва ногиронлик хавфини келтириб чиқаришида етакчи ўринлардан бирини эгаллайди (Roth et al., 2017). Замонавий маълумотларга кўра, юрак-қон томир тизими касалликлари ривожланишида силлиқ мускул хужайралари (СМХ) фаолияти,  $Ca^{2+}$  ионлари транспорти регуляцияси ва қон томирлар тонусининг бузилишлари кузатилади (Wright, Thomas, 2018). Шу сабабли артериал босимни меъёрда тутиб туришни таъминлаш ҳамда қон томирлар тонусини регуляция қилиш механизмларини ёритиб бериш замонавий фармакология ва кардиологиянинг энг муҳим вазифаларидан ҳисобланади.

Дунёнинг йирик илмий марказларида қон томирлар тонусини регуляция қилиш механизмларини ўрганишга қаратилган тадқиқотларга алоҳида аҳамият берилмоқда. Артериал гипертензия (АГ) патогенезида мембрана рецепторлари, СМХ лари  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимлари ва қон томирлари эндотелийси функциясининг бузилишлари қон томирлар тонусини оширишга жавобгар бўлган етакчи механизмлардан бири эканлиги аниқланган (Karakı et al., 1997; Touyz et al., 2018). Шу билан бирга, артериал гипертензия патогенезига бевосита боғлиқ бўлган дефект қон томирлар эндотелийси ва СМХ лари  $Ca^{2+}$  транспорт тизимлари асосий нишони эканлиги аниқланган.

Ушбу тадқиқотлар артериал гипертензияни адекват терапиясининг янги усулларини ишлаб чиқишда қон томирлар эндотелийси ва СМХ лари  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимлари функцияси бузилишини коррекция қилишга янги самарали ёндашувларни ишлаб чиқиш имконини берган.

Ўзбекистонда артериал гипертензияни даволаш учун маҳаллий ўсимлик хом ашёси асосида дори воситаларини яратишга қаратилган тадқиқотларга алоҳида аҳамият касб этмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида “Фармацевтика саноатини ривожлантириш ва аҳолини сифатли, хавфсиз ва арзон дорилар билан таъминлаш” га қаратилган вазифалар белгилаб берилган<sup>1</sup>. Белгиланган вазифаларни муваффақиятли амалга ошириш учун республика олимлари томонидан кенг кўламли тадқиқотлар олиб борилмоқда, бунда турли хил ўсимликларидан ажратилган бирикмаларнинг биологик ва фармакологик таъсирини ҳамда уларнинг асосида артериал гипертензияни олдини олиш ва даволаш учун янги дори воситалар яратиш муҳим аҳамият касб этади.

<sup>1</sup> Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сонли «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони. Ўзбекистон Республикаси конун ҳужжатлари туплами, 2017 й.,6-сон,70-модда.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича «Харакатлар стратегияси тўғрисида» ги Фармони, 2018 йил 14 февралдаги ПҚ-3532-сон «Фармацевтика саноатини жадал ривожлантириш бўйича кўшимча чора-тадбирлар тўғрисида» ги, 2019 йил 6 майдаги ПҚ-4310-сон «Тиббиёт ва фармацевтика таълими ва фан тизимини янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги, 2020 йил 10 апрелдаги ПҚ-4670-сон «Ёввойи доривор ўсимликларни муҳофаза қилиш, маданий етиштириш, қайта ишлаш ва мавжуд ресурслардан оқилона фойдаланиш чора-тадбирлари тўғрисида»ги қарорлари ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъриёв-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади

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

**Диссертациянинг мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи<sup>1</sup>.** Самарали гипертензив воситаларни аниқлаш учун ўсимлик биологик фаол бирикмаларнинг таъсир механизмларини аниқлашга қаратилган тадқиқотлар дунёнинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасаларида, жумладан, University of Alberta (Канада), University of Freiburg (Германия), New York University (АҚШ), Boston University (АҚШ), Shihezi University (Хитой), Aichi Medical University (Япония), French Institute of Health and Medical Research (Франция), Хужайра биофизикаси институти (Россия), Богомольц номидаги Физиология институти (Украина) ва бошқа илмий марказларда олиб борилмоқда.

Турли ўсимликлар айрим алкалоидлари ва флавоноидларининг вазорелаксант таъсирини оид жаҳонда олиб борилган изланишлар натижасида қатор, жумладан қуйидаги илмий натижалар олинган: силлиқ мускул хужайралари  $Ca^{2+}$  гомеостазини модуляция қилиш механизми исботланган (University of Alberta, Канада; Shihezi University; Хитой); L-тип  $Ca^{2+}$ -каналлар ( $Ca^{2+}_L$ ) ва  $Na^+/Ca^{2+}$ -алмашув функциясини регуляция қилиши аниқланган (University of Freiburg, Германия; French Institute of Health and Medical Research (Франция);  $K^+$ -каналлари ва саркоплазматик ретикулум  $Ca^{2+}$ -АТФазалари функцияларини регуляциясида хужайра ички сигнал тизимларининг алоҳида роли аниқланган (New York University, АҚШ; Aichi Medical University, Япония); турли биологик фаол бирикмалар билан силлиқ мускуллар  $Ca^{2+}$  -транспорт тизимларини фармакологик модуляция қилиш механизми яратилган (Богомольц номидаги Физиология институти, Украина).

Дунёда қон томирлар тонусини регуляция қилиш механизмларини

<sup>1</sup> Диссертациянинг мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092544390300139x>; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2824521>; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8670237> ва бошқа манбалар асосида ишлаб чиқилган.

аниқлаш бўйича қатор, жумладан, қуйидаги устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда: биологик фаол бирикмалар ёрдамида СМХ лари  $Ca^{2+}$  гомеостазини модуляция қилиш механизмларини яратиш; биологик фаол бирикмалар билан СМХ лари  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимларини регуляциясини аниқлаш; СМХ лари  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимлари функциясини модуляция қилиш ва  $K^{+}$ -каналларининг ролини аниқлаш; артериал гипертензия ва ЮҚТК патогенезида қон томирлар эндотелийси дисфункциясининг ролини баҳолаш; артериал гипертензия ва юрак қон томир касалликларининг олдини олиш ва даволаш.

**Муаммонинг ўрганганлик даражаси.** Сўнгги йилларда артериал гипертензия ва ЮҚТК ни олдини олиш ва даволашнинг янги ёндашувларини ишлаб чиқишда ўсиликлардан олинган биологик фаол бирикмаларнинг вазорелаксант таъсирини ўрганишга алоҳида эътибор қаратилмоқда. Чунки, мазкур бирикмалар турли кимёвий тузилиши ва кенг спектрда фармакологик таъсирга эга экани билан тавсифланади. Ҳозирда ўсимликлардан гипотензив таъсирга эга бўлган турли структурадаги кўплаб алкалоидлар ва флавоноидлар ажратилган ва уларнинг биологик фаоллиги тавсифланган (Luna-Vzquez et al., 2013). Шу билан бирга, ушбу бирикмаларнинг гипотензив таъсири асосида уларнинг вазорелаксант фаоллигига асосланиб, уни таъминлашда турли механизмлар иштирок этиши аниқланган (McNeill, Jurgens, 2006). Хусусан, баъзи алкалоидларнинг вазорелаксант таъсири плазмалемма мембранаси потенциалга боғлиқ ( $Ca^{2+}_L$ ) ва рецепторлар билан бошқарилувчи ( $Ca^{2+}_R$ )  $Ca^{2+}$ -каналлари орқали  $Ca^{2+}$  ионлари кириши ҳамда СР дан чиқарилишининг камайтириши билан таъминланади (Ndagijimana et al., 2013). Шу билан бирга, кўпчилик флавоноидларни вазорелаксант таъсирида мураккаб механизмлар ётиб, жумладан,  $Ca^{2+}_L$ - ва  $Ca^{2+}_R$ -каналларнинг блокадаси, шунингдек, NO-гуанилатциклаза тизими ва плазмалемма  $K^{+}$ -каналлари фаоллаштириши натижасида СМХ ларида  $[Ca^{2+}]_i$  микдорининг камайиши ва қон томирлари тонусининг пасайиши таъминланади (Woodman et al., 2005).

МДХ давлатлари илмий марказларида қон томир силлиқ мускуллари қисқариш фаоллигини фармакологик модуляция қилиш механизмларини аниқлашга қаратилган тадқиқотлар ҳам диққат марказидадир. СибДТУ да М.Б.Баскаков бошчилигида қон томир силлиқ мускулларида хужайра оралик ва хужайра ички сигнализация механизмлари ҳақида янги маълумотлар олинган. Муаллифлар томонидан NO нинг меъёрдаги ва патологик ҳолатларда силлиқ мускул функциясини тартибга солувчи сифатидаги ўзига хос роли алоҳида қайд этилган (Баскаков ва бошқ., 1996). Биологик фаол бирикмаларнинг қон томирлар силлиқ мускулларининг NO-гуанилатциклаза тизими ва сигнал каскадларига таъсир механизми ҳақида қизиқарли маълумотлар В.Ф.Сагач бошчилигида бир гуруҳ олимлар томонидан тадқиқ қилинган (Сагач ва бошқ., 2006).

Флавоноидларнинг силлиқ мускулларнинг қисқариш фаоллигига таъсири механизми тўғрисида М.Н.Макарова лабораториясида кенг қўламдаги муҳим маълумотлар олинган (Макарова М.Н. ва бошқ., 2011).

Ҳар хил синифларга мансуб флавоноидларнинг эффеќтини таъминловчи ўзаро таъсирлашиш билан борадиган СМҲ лари ва қон томир эндотелийсининг аниқ нишонлари идентификация қилинган.

ЮҚТК нинг олдини олиш ва даволаш мақсадида янги дори воситаларини яратишга қаратилган тадқиќотларда Ўзбекистон олимлари томонидан олиб борилаётган ишлар алоҳида эътиборга лойиќдир. ЎЗР ФА ЎМКИ да ўсимликлардан антиаритмик, кардиопротектор ва гипотензив таъсирга эга бўлган алкалоидлар ва флавоноидлар етарли миќдорда ажратиб олинмоќда ҳамда синтезланмоќда (Юнусов М.С., Джахангиров Ф.Н., Салимов Б.Т.). Ушбу бирикмаларнинг таъсир механизмини аниқлашга катта хисса қўшган Ўзбекистон Миллий университети ҳузуридаги Биофизика ва биокимё институти ходимлари, академиклар: Б.А. Тошмухамедов, Р.З. Сабиров ва профессор П.Б. Усманов раҳбарлиги остида ўсимликдан олинган турли бирикмаларнинг юрак ва силлиқ мускуллар ион-транспорт тизимлари ҳамда ҳужайра ҳажмининг регуляциясига таъсири тавсифланган.

**Диссертация тадқиќотининг диссертация бажарилган илмий-тадқиќот муассасасининг илмий-тадқиќот ишлари режалари билан боғлиқлиги.** Диссертация тадқиќоти Ўзбекистон Миллий университети ҳузуридаги Биофизика ва биокимё институти илмий-тадқиќот ишлари режасининг ФА-А12-Т068 «Табиий биологик фаол бирикмаларнинг мембраналар ион каналлари ва рецепторлари билан ўзаро таъсирини структура-функционал хусусиятларини скрининг қилиш ва тавсифлашнинг комплекс ёндашувни ишлаб чиқиш» (2008-2012), ФА-Ф6-Т083 «Юрак ва силлиқ мускул ҳужайралари  $Ca^{2+}$ -гомеостазини биологик фаол бирикмалари-модуляторларини излаш ва тавсифлаш» (2012–2016), ФА-Ф6–004 «Юрак–қон томир касалликларини даволашга адекват ёндашишни ишлаб чиқиш учун юрак ва силлиқ мускул ҳужайраларининг истиќболли нишонларини модуляциялаш механизмларини комплекс тавсифлаш» (2017–2020) мавзусидаги илмий лойиҳалари доирасида бажарилган.

**Тадқиќотнинг мақсади** Ўзбекистонда ўсувчи ўсимлик турларидан ажратилган айрим дитерпеноид ва изохинолин алкалоидлари, шунингдек, флавоноидларининг вазорелаксант таъсир хусусиятларини аниқлашдан иборат.

**Тадқиќотнинг вазифалари:**

дитерпеноид (зонгорин, 1-О-бензоилнапеллин, зеравшанизин) ва изохинолин (F-37, криптопин, протопин) алкалоидлари, шунингдек хризин, норвогонин флавоноидларининг вазорелаксант таъсир хусусиятларини тадқиќ қилиш;

тадқиќ қилинаётган алкалоидлар ва флавоноидларнинг вазорелаксант таъсирини таъминлашда СМҲ лари плазмалеммаси  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимлари ( $Ca^{2+}_L$ - ва  $Ca^{2+}_R$ -каналлари) ролини ўрганиш;

тадқиќ қилинаётган алкалоидлар ва флавоноидларнинг вазорелаксант таъсирини таъминлашда СМҲ лари саркоплазматик ретикулум  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимлари ( $IP_3R$ ) иштирокини ўрганиш;



ўрганилаётган алкалоидлар ва флавоноидларнинг вазорелаксанти таъсирини таъминлашда қон томир эндотелий қаватининг иштирокини тадқиқ қилиш;

ўрганилаётган алкалоидлар ва флавоноидларнинг вазорелаксанти таъсирини таъминлашда СМХ лари  $K^+$ -каналлари ролини баҳолаш;

тадқиқ қилинаётган алкалоидлар ва флавоноидларнинг вазорелаксанти таъсири асосида ётувчи механизмларни аниқлаш ва натижаларни таҳлил қилиш;

экспериментал гипоксия шароитида силлиқ мускулар қисқариш фаоллигига ўрганилаётган алкалоидлар ва флавоноидларнинг таъсирини баҳолаш.

**Тадқиқотнинг объекти** каламуш аорта препаратлари, зонгорин, 1-О-бензоилнапеллин, зеравшанизин дитерпеноид алкалоидлари, F-37, криптопин, протопин изохинолин алкалоидлари ҳамда хризин, норвогонин флавоноидлари ва уларнинг кимёвий структуралари ҳисобланади.

**Тадқиқотнинг предмети** дитерпеноид алкалоидлар (зонгорин, 1-О-бензоилнапеллин, зеравшанизин), изохинолин алкалоидлар (F-37, криптопин, протопин) ҳамда хризин ва норвогонин флавоноидларининг вазорелаксанти таъсир механизми, шунингдек, уни таъминлашда плазмалемма ва СР  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимлари, СМХ лари  $K^+$ -каналлари ва эндотелийнинг ролини тадқиқ қилишдан иборат.

**Тадқиқотнинг усуллари.** Диссертация ишида аорта препаратлари қисқариш фаоллигини қайд қилиш замонавий биофизика ва электрофизиология усуллари ҳамда компьютер тизимларидан фойдаланилган. Каламуш аорта препаратларининг қисқариш фаоллигини қайд қилиш - кучланиш сенсори FT03 ва кучайтиргич P11T (Grass Technology Inc. АҚШ) билан жиҳозланган механографик қурилма ёрдамида амалга оширилди. Олинган натижаларни қайта ишлашда OriginPro v 8.5 (Origin Lab. Corporation, АҚШ) дастуридан фойдаланилди.

**Тадқиқотнинг илмий янгилиги** қуйидагилардан иборат:

дитерпеноид ва изохинолин алкалоидларининг вазорелаксанти таъсири  $Ca^{2+}$  ионларининг плазмалеммада жойлашган  $Ca^{2+}_L$ -,  $Ca^{2+}_R$ -каналлари орқали кириши ва СР  $IP_3R$  орқали чиқишининг сусайиши билан таъминланиши исботланган;

зеравшанизин алкалоидининг вазорелаксанти таъсири эндотелийга боғлиқ характерга эга бўлиб, у NO/sGC/cGMP/PKG сигнал йўлининг фаоллашиши орқали амалга ошириши аниқланган;

дитерпеноид алкалоидлар (1-О-БН, зеравшанизин), изохинолин алкалоидлари (F-37, криптопин, протопин) нинг вазорелаксанти таъсирини таъминлашида СМХ лари  $K^+$ <sub>АТФ</sub>-каналлари ролининг муҳимлиги аниқланган;

хризин, норвогонин флавоноидлари эндотелийга боғлиқ вазорелаксанти таъсирга эга бўлиб, СМХ лари  $K^+$ <sub>АТФ</sub>-каналлари ва NO/sGC/cGMP/PKG сигнал йўлининг фаоллашиши асосида таъминланиши исботланган;

айрим алкалоидлар ва флавоноидлар аорта препаратларининг гипоксия билан келиб чиқадиган бузилишларидан самарали ҳимоя қилиши ва уларнинг кучли вазопротектор таъсирига эга эканлиги аниқланган.

**Тадқиқотнинг амалий натижалари** қуйидагилардан иборат:

дигтерпеноид ва изохинолин алкалоидлар, шунингдек хризин ва норвогонин флавоноидларининг қон томирларини қисқаришини бўшаштирувчи хоссалари аниқланган бўлиб, ушбу натижалар артериал гипертензия ва юрак -қон томир касалликларининг олдини олишига асосланган;

биологик фаол моддаларнинг релаксат ва вазопротектор таъсирлари асосида юрак-қон томир касалликларини даволаш учун илмий асосланган ёндашувлар ишлаб чиқилган.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги** экспериментал натижаларини қайд қилиш, йиғиш таҳлил қилиш имконини берувчи замонавий автоматик тизимларидан фойдаланилишига асосланган. Тадқиқот натижалари илмий журналларда нашр этилганда олинган эксперт баҳолари тақдим этилган маълумотларнинг ишончлилигини қўшимча тасдиқлайди. Ишда тавсифланган хулосалар Стъудент коэффициенти, OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060–4401, АҚШ) компьютер дастурлари ёрдамида статистик қайта ишлаш натижалари асосида ишлаб чиқилган.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти дигтерпеноид ва изохинолин алкалоидлари, шунингдек флавоноидларнинг вазорелаксат таъсир механизмлари, уни таъминлашда  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимлари, эндотелий ва  $K^{+}$ -каналлари роли ҳамда уларнинг фармакологик регуляциясида янги ёндашувлар ҳақида фундаментал ғояларни ишлаб чиқиши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти алкалоидлар ва флавоноидлар эндотелийга боғлиқ ва эндотелийга боғлиқ бўлмаган кучли вазорелаксат таъсирига эгаллиги, улардан самарали антигипертензив, вазо-ва кардиопротектив воситаларнинг янги авлодини яратишда етакчи бирикмалар сифатида фойдаланиш мумкинлиги билан изоҳланади.

**Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши.** Дигтерпеноид алкалоидлар (зонгорин, 1-О-БН, зеравшанизин), изохинолин алкалоидлар (F-37, криптопин, протопин), ҳамда хризин ва норвогонин флавоноидларининг вазорелаксат таъсир механизмларини аниқлаш бўйича олинган натижалар асосида:

хризин ва норвогонин флавоноидларининг ўзига хос вазорелаксат таъсиридан «The International cooperation and exchange of the National Natural Science Foundation of China (No3111010398) and The Central Asian drug Discovery&Developments Centre of Chinese Academy of Sciences» лойиҳасида флавоноидларнинг фармакологик хусусиятларини комплекс тавсифлашда фойдаланилган (Хитой Фанлар академияси Синьцзян физика ва кимё техника интитути Арид зоналар ўсимлик ресурслари ва кимёси марказий лабораторияси, 2020 йил 21 октябрдаги маълумотномаси). Натижада

спазмолитик ва гипотензив воситаларнинг янги авлодини яратиш учун истиқболли флавоноидларни аниқлаш имконини берган;

дигтерпеноид алкалоидларнинг  $Ca^{2+}$  ионлари транспортини модуляция қилиш хоссасидан ТА-ФА-Ф-6-002 «Ажратиб чиқариши назорат қилинадиган биологик фаол оксил ва полифенол биоматериалларни конструкциялаш» лойиҳасида оксил ва полифенолларни назоратли ажралиш услубларини ишлаб чиқишда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2020 йил 28 октябрдаги 4/1255-2324–сон маълумотномаси). Натижада биологик фаол оксиллар ва полифенолларнинг назорат остида чиқарилиши учун мақбул вариантларни ишлаб чиқиш имконини берган;

дигтерпеноид ва изохинолин алкалоидларнинг  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимига специфик таъсирдан ФА-А12-Т-121 «Фитопрепаратлар ишлаб чиқиш ва яратиш: антиаритмик таъсирга эга бўлган 1-О-бензолнаппелин гидрохлорид ва дигидроатизин гидрохлорид» лойиҳасида антиаритмик дориларни ишлаб чиқишда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2020 йил 28 октябрдаги 4/1255-2326-сон маълумотномаси). Натижада ножўя таъсири кам бўлган янги антиаритмик воситаларни яратиш имконини берган.

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

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши.** Диссертация мавзуси бўйича жами 27 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 16 та мақола, шулардан, 13 таси республика ва 3 таси хорижий журналларда чоп этилган.

**Диссертациянинг ҳажми ва тузилиши.** Диссертация таркиби кириш, бешта боб, хулосалар, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 182 бетни ташкил этган.

## ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

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

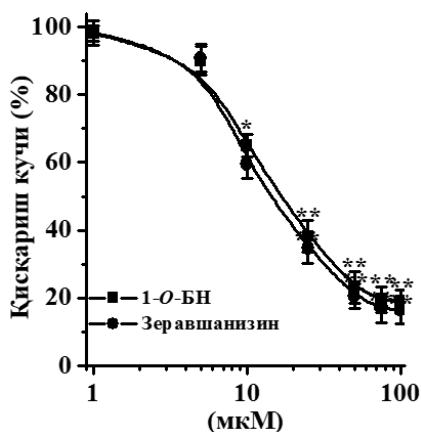
Диссертациянинг «**Қон томир силлиқ мускулларининг таркибий - функционал тузилиши ва қисқариш фаолиятини модуляция қилиш механизмлари**» деб номлаган биринчи бобида замонавий адабиётлар маълумотлари асосида қон томир СМҲ фаолиятининг хусусиятлари,

структуравий тузилишининг принциплари, уларнинг асосий ион-транспорт тизимлари ( $K^+$ -,  $Ca^{2+}$ -,  $Cl^-$ -каналлар,  $Ca^{2+}$ -АТФаза, плазмалемма  $Na^+/Ca^{2+}$ -алмашинувчиси, инозитол 3,4,5-трифосфат рецептори ( $IP_3R$ ) ва саркоплазматик ретикулум  $Ca^{2+}$ -АТФазаси), силлиқ мускулларнинг қисқариш ва бўшашиш жараёнлари асосида ётувчи молекуляр механизмлар тўғрисида маълумотлар берилган. Шунингдек, хужайра ички сигнал тизимлари ва эндотелиал омиллар билан бошқарилиш механизмлари ҳақидаги маълумотлар кўрсатилган, артериал гипертония патогенези ва бошқа юрак-қон томир тизими касалликларида силлиқ мускулларни ион-ташувчи тизимлари ва эндотелийнинг роли ҳақида маълумотлар келтирилган; артериал гипертензия ва юрак-қон томир тизими касалликларида кузатиладиган қон томир эндотелийси ва СМХ лари ион-ташувчи тизимлари функционал фаоллигининг бузилишини фармакологик коррекциялашга замонавий ёндошувлар кўрсатиб ўтилган.

Диссертациянинг «**Қон томир силлиқ мускулларининг қисқариш фаоллигини қайт қилиш услублари**» деб номланган иккинчи бобида тадқиқот ишида қўлланилган асосий услублар ҳақида маълумотлар келтирилган, каламуш аорта препаратини тайёрлаш процедураси ва уларнинг қисқариш фаоллигини қайд қилишда қўлланилган асоб-усканалар кўрсатилган. Шу билан бирга, ўрганилаётган моддаларнинг интакт ва эндотелий қавати олиб ташланган, шунингдек гипоксия шароитида аорта препаратига таъсирини ўрганиш буйича тажриба протоколлари келтирилган. Бундан ташқари, тадқиқотларни амалга оширишда фойдаланиладиган кимёвий реагентлар, ион каналлари активаторлари ва блокаторлари ҳақида маълумотлар баён қилинган.

Диссертациянинг «**Айрим алкалоидларнинг вазорелаксант таъсир хусусиятларини тавсифлаш**» деб номланган учинчи бобида дитерпеноид алкалоидлар (зонгорин, 1-О-бензоилнапеллин, зеравшанизин) ва изохинолин алкалоидлар (F-37, криптопин, протопин) нинг вазорелаксант таъсири буйича тадқиқот натижалари келтирилган.

*Гиперкалийли контрактура шароитида дитерпеноид алкалоидларнинг каламуш аорта препаратлари қисқариш фаоллигига таъсири.* Даслабки тажрибаларда барча ўрганилаётган дитерпеноид алкалоидлар каламуш аорта препаратларининг базал тонусига таъсир кўрсатмаслиги аниқланди. Аммо, гиперкалий эритмаси (50 мМ KCl) ёрдамида юзага келтирилган қисқариш кучига ўрганилаётган алкалоидлар сезиларли даражада вазорелаксант таъсир кўрсатиши аниқланди. Жумладан, 1-О-БН ва зеравшанизин алкалоидлари зонгоринга нисбатан юқори вазорелаксант таъсирга эга эканлиги аниқланди. 1-О-БН ва зеравшанизин алкалоидлари 100 мкМ концентрацияда аорта препаратларининг KCl билан чақирилган қисқариш кучини назоратга нисбатан мос равишда  $81,1 \pm 3,5\%$  ва  $83,5 \pm 4,2\%$  га камайтириши аниқланди (1-расм). Бунда, 1-О-БН ва зеравшанизиннинг  $IC_{50}$  қиймати мос равишда 19,4 мкМ ( $pD_2=4,7121$ ) ва 14,1 мкМ ( $pD_2=4,8507$ ) тенглиги аниқланди.



**1-расм. 1-О-БН ва зеравшанизин алкалоїдларининг КСІ билан чақирилган аорта препаратининг ксқариш кучига таъсири.** Ордината ўқида – аорта препарати ксқариш кучи фоизда ифодаланган, 50 мМ КСІ билан чақирилган ксқариш кучи 100% деб олинган. Абсцисса ўқида – алкалоїдларнинг концентрацияси (мкМ) ифодаланган. (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 6-7$ ).

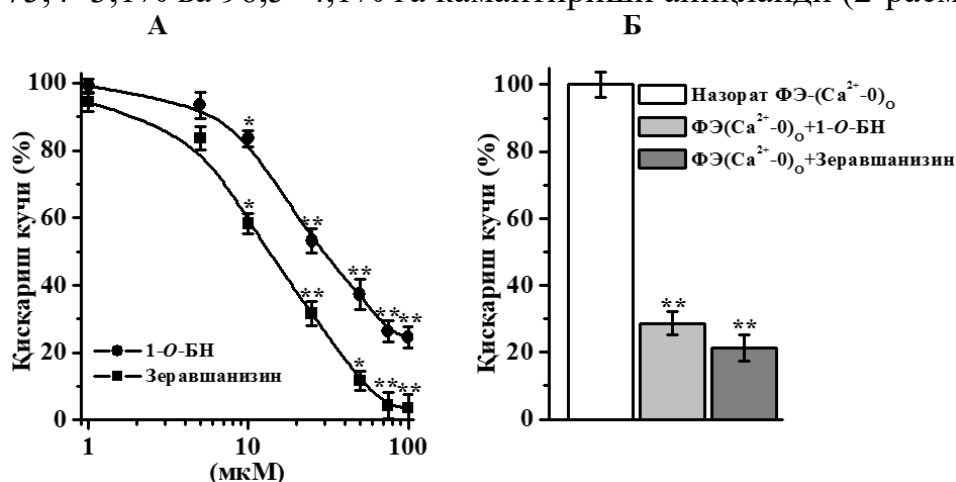
Шунга ўхшаш шароитдаги тажрибаларда зонгорин алкалоїди 100 мкМ концентрацияда аорта препаратлари ксқаришини назоратга нисбатан  $64,1 \pm 4,4\%$  га камайтирди. Бунда, зонгориннинг  $IC_{50}$  қиймати 40,5 мкМ ( $pD_2 = 4,3923$ ) ни ташкил этди.

Гиперкалий эритма билан чақирилган аорта препаратларининг ксқаришини СМХ ларига потенциалга боғлиқ  $Ca^{2+}$ -каналлар ( $Ca^{2+}_L$ ) орқали кириб келувчи  $Ca^{2+}$  ионлари таъминлайди ва олинган натижалар ўрганилаётган дитерпеноид алкалоїдларнинг кузатилаётган эффекти ушбу каналлар билан ўзаро таъсирлашиши билан амалга ошиши мумкинлигидан далолат беради. Шунингдек, гиперкалийли ксқариш шароитида алкалоїдларнинг таъсири инкубация муҳитида  $Ca^{2+}$  ионларининг мавжудлигига боғлиқ бўлиб, уларнинг концентрацияси камайиши билан бирданига пасаяди. Шу муносабат билан, ўрганилаётган алкалоїдларнинг вазорелаксант таъсирини таъминлашда  $Ca^{2+}_L$ -каналларининг ролини текшириш учун уларнинг эффекти ушбу канал блокатори верапамил иштирокида ўрганилди. Ушбу тадқиқотларда аорта препаратлари верапамил билан олдиндан инкубация қилиниши ўрганилаётган дитерпеноид алкалоїдларнинг вазорелаксант таъсирини сезиларли даражада камайиттириши аниқланди. Жумладан, 0,1 мкМ верапамилдан фойдаланганда (унинг  $IC_{50}$  мос келувчи концентрацияси) ўрганилаётган алкалоїдлар КСІ билан чақирилган аорта ксқариш кучини камайитириш қобиятини, унинг мавжуд бўлмаганлигига нисбатан кам даражада сақлаб колди. Бу тажрибаларда зонгорин алкалоїди 100 мкМ концентрацияда 0,1 мкМ верапамил фонида КСІ билан чақирилган аорта препаратлари ксқариш кучини  $10,2 \pm 3,3\%$  га камайитириши кузатилди. Шунга ўхшаш верапамил иштирокида олиб борилган тажрибаларда 1-О-БН ва зеравшанизин алкалоїдлари қўшимча равишда КСІ билан чақирилган аорта препаратлари ксқаришини мос равишда  $16,1 \pm 2,5\%$  ва  $21,3 \pm 3,9\%$  га камайтирди. Ушбу тажрибалар натижалари ўрганилаётган алкалоїдларнинг вазорелаксант таъсирини таъминлашда СМХ лари  $Ca^{2+}_L$ -каналлари иштирокининг борлигини қўшимча исботлайди.

Ушбу тажриба сериялари натижаларидан кўринадики, 1-О-БН ва зеравшанизин дитерпеноид алкалоїдлари кучли вазорелаксант таъсирга эга бўлиб, гиперкалий эритма билан чақирилган аорта препарати ксқаришини самарали бўшаштиришидан далолат беради. Шунга боғлиқ, гиперкалийли эритма билан чақирилган каламуш аорта препаратлари ксқариши асосан

СМХ лари  $\text{Ca}^{2+}_L$ -каналлари орқали кирадиган  $\text{Ca}^{2+}$  ионлари билан таъминланганлиги сабабли ўрганилаётган алкалоидларнинг вазорелаксат таъсири асосида ушбу каналларнинг блокляниши ётади деб тахмин қилиш мумкин.

Фенилэфринли контрактура шароитида дитерпеноид алкалоидларнинг каламуш аорта препаратлари қисқариши фаоллигига таъсири. СМХ лари  $\text{Ca}^{2+}$  гомеостазини бошқаришда потенциалга боғлиқ  $\text{Ca}^{2+}_L$ -каналлари билан бир қаторда плазмалемманинг  $\alpha$ -адренорецепторлар орқали фаоллашувчи рецептор-бошқарувчи  $\text{Ca}^{2+}$ -каналлари ( $\text{Ca}^{2+}_R$ ) ҳам муҳим рол ўйнайди (McFadzean, Gibson, 2002; Jackson, 2000). Шунга боғлиқ ўрганилаётган алкалоидларнинг  $\text{Ca}^{2+}_R$ -каналларига таъсирини баҳолаш учун уларнинг  $\alpha_1$ -адренорецептор агонисти ФЭ билан чақирилган аорта препаратининг қисқаришига таъсири ўрганилди. Ушбу тажрибаларда ўрганилаётган алкалоидлар ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқаришини сезиларли камайтириши аниқланди. Натижада инкубация муҳитига 1-О-БН ва зеравшанизин алкалоидларининг 100 мкМ концентрациясининг киритилиши ФЭ билан чақирилган аорта препарати қисқаришини мос равишда  $75,4 \pm 3,1\%$  ва  $96,5 \pm 4,1\%$  га камайтириши аниқланди (2-расм, А).



2-расм. 1-О-БН ва зеравшанизин дитерпеноид алкалоидларининг нормал (А) ва  $\text{Ca}^{2+}$ -ионлари мавжуд бўлмаган ( $\text{Ca}^{2+}_0$ ) (Б) Кребс эритмасида ФЭ билан чақирилган каламуш аорта препаратининг қисқариш кучига таъсири. Ордината ўқида – аорта препарати қисқариш кучи фоизда ифодаланган, 1 мкМ ФЭ ёрдамида чақирилган қисқариш кучи 100% деб олинган. Абсцисса ўқида – алкалоидларнинг концентрацияси (мкМ) ифодаланган. (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 5-6$ ).

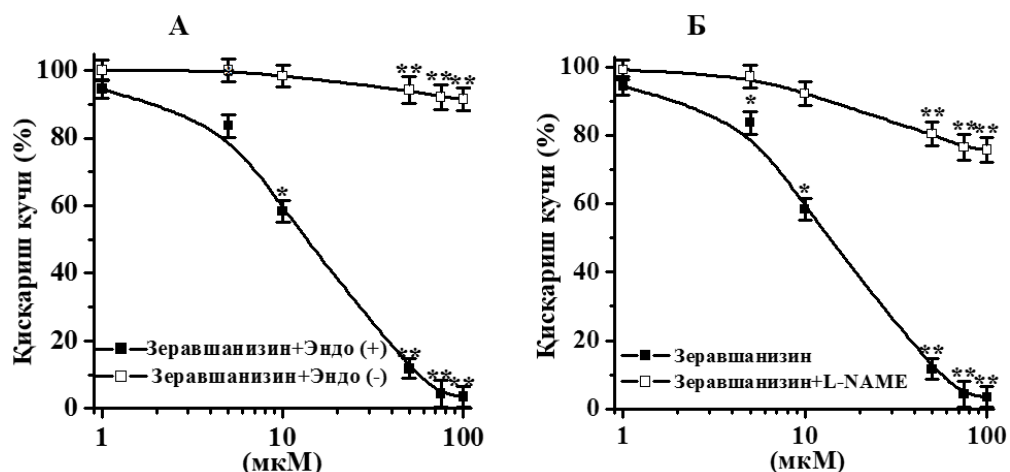
Бунда, 1-О-БН ва зеравшанизиннинг  $IC_{50}$  қийматлари мос равишда 34,7 мкМ ( $pD = 4,4596$ ) ва 21,3 мкМ ( $pD_2 = 4,6716$ ) ни ташкил этди. Шунга ўхшаш экспериментал шароитда зонгорин алкалоиди аорта препарати ФЭ билан чақирилган қисқариш кучини  $12,8 \pm 2,8\%$  га камайтирди. Ушбу олиб борилган тажрибалар натижалари ўрганилаётган дитерпеноид алкалоидларнинг вазорелаксат таъсирини таъминлашда силлиқ мускуллар қисқаришида муҳим ўрин тутувчи  $\text{Ca}^{2+}_R$ -каналларининг ҳам иштироки мавжуд эканини кўрсатади.

Шундай қилиб, бу тажриба сериялари натижалари шуни кўрсатадики, ўрганилаётган дитерпеноид алкалоидлар кучли вазорелаксат таъсирга эга

бўлиб, унинг асосида СМХ ларида  $[Ca^{2+}]_i$  миқдорининг камайиши ва силлик мускулларнинг бўшашишни келтириб чиқарувчи  $Ca^{2+}_L$ - ва  $Ca^{2+}_R$ -каналларининг блокадаси ётишидан далолат беради. Шунингдек, ФЭ билан чақирилган аорта препаратларининг қисқаришини таъминлашда инозитол 1,4,5-трифосфат рецептори ( $IP_3R$ ) ва  $Ca^{2+}$ -АТФаза (SERCA2) каби СР  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимлари ҳам муҳим рол ўйнайди (Wier et al., 1992). Шу билан бирга, ўрганилаётган алкалоидларнинг СР  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимларига таъсирини текшириш учун уларнинг асосан СР дан  $IP_3R$  орқали чиқувчи  $Ca^{2+}$  ионлари билан таъминланувчи кальцийсиз Кребс муҳитида ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқаришига таъсири ўрганилди (Tukocki et al., 2013). Ушбу тажрибаларда 1-О-БН ва зеравшанизин алкалоидлари 100 мкМ концентрацияда ФЭ билан чақирилган аорта препарати қисқариш кучини назоратга нисбатан мос равишда  $71,3 \pm 3,5\%$  ва  $78,6 \pm 3,9\%$  га камайтириши аниқланди (2-расм, Б).

Ушбу тажриба натижалари шуни кўрсатадики, ўрганилаётган дитерпеноид алкалоидлар  $Ca^{2+}$  ионлари мавжуд бўлмаган Кребс эритмаларида инкубация қилинган аорта препаратлари ФЭ билан чақирилган қисқариш кучини сезиларли даражада камайтиради. Бунда ФЭ билан чақирилган қисқариш шароитида асосан СР дан  $Ca^{2+}$  ионларининг чиқарилиши билан таъминланишини ҳисобга олсак, ўрганилаётган алкалоидларнинг вазорелаксанти эффементи уларнинг СР дан  $IP_3R$  орқали чиқувчи  $Ca^{2+}$  ионларига ҳам таъсири билан ҳам боғлиқ, деб тахмин қилиш мумкин.

*Дитерпеноид алкалоидларнинг вазорелаксанти таъсирида эндотелийнинг ролини баҳолаш.* Қон томир эндотелийси СМХ лари қисқариш фаоллигини модуляция қилишда ва қон томирлар тонусини таъминлашда муҳим ўрин тутиши қайд қилинган (Baretella, Vanhoutte, 2016). Эндотелийнинг бу функцияси бир қатор вазофаол факторларнинг ишлаб чиқилиши билан таъминланиши, улар орасида азот оксиди (NO) силлик мускулларнинг бўшашиш жарёнларини таъминлашда асосий медиатор сифатида етакчи рол ўйнайди (Baretella, Vanhoutte, 2016; Kang, 2014). Шу муносабат билан ўрганилаётган дитерпеноид алкалоидларнинг вазорелаксанти таъсирини таъминлашда эндотелийнинг иштирокини текшириш учун уларнинг эффементи пахта тампони ёрдамида механик йўл билан эндотелий қавати олиб ташланган аорта препаратларида ўрганилди. Ушбу тажрибаларда эндотелийнинг олиб ташланиши зеравшанизин алкалоидининг вазорелаксанти фаоллигига сезиларли таъсир кўрсатиши аниқланди. Жумладан, эндотелий олиб ташланган аорта препаратларида зеравшанизин алкалоиди ФЭ билан чақирилган қисқариш кучини эндотелий мавжуд препаратларда олинган назоратга нисбатан  $88,1 \pm 3,4\%$  га камайтирди (3-расм, А).



**3-расм. Эндотелийнинг олиб ташланиши (А) ва L-NAME (Б) нинг ФЭ билан чақирилган аорта препаратининг қисқариш шароитида зеравшанизин алкалоидининг вазорелаксант эффектига таъсири.** Ордината ўқида – аорта препарати қисқариш кучи фоизда ифодаланган, 1 мкМ ФЭ ёрдамида чақирилган қисқариш кучи 100% деб олинган. Абсцисса ўқида – алкалоиднинг концентрацияси (мкМ) ифодаланган. (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 6$ ).

Зеравшанизин алкалоидидан фарқлироқ эндотелийнинг олиб ташланиши 1-О-БН алкалоидининг эффектига сезиларли таъсир кўрсатмади. Ушбу натижалар зеравшанизин алкалоидининг вазорелаксант таъсирини таъминлашда эндотелий ва NO муҳим роль ўйнаши мумкинлигидан далолат беради. Шунга боғлиқ, зеравшанизин алкалоидининг вазорелаксант таъсирини таъминлашда NO иштирокини тасдиқлаш учун унинг эффектига NO синтаза ингибитори L-NAME таъсири ўрганилди. Мазкур тажрибаларда аниқландики, эндотелий мавжуд бўлган аорта препаратларини L-NAME билан олдиндан инкубация қилиш зеравшанизин алкалоидининг вазорелаксант таъсирини сезиларли даражада камайишга олиб келади. Жумладан, 100 мкМ L-NAME иштирокида зеравшанизин (100 мкМ) алкалоиди ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучини L-NAME иштирокисиз олинган назоратга нисбатан  $72,2 \pm 3,2\%$  гача камайтириши аниқланди (3-расм, Б).

Ушбу тажриба натижалари зеравшанизин алкалоидининг вазорелаксант таъсирини таъминлашда NO нинг иштирок этиши мумкинлигидан далолат беради. Ушбу тахминни гуанилатциклаза ингибитори метилен кўки билан олиб борилган тажриба натижалари тасдиқлайди. Бу тажрибаларда аорта препаратларини метилен кўки билан олдиндан инкубация қилиниши зеравшанизин алкалоидининг вазорелаксант таъсирининг камайишига олиб келди ва деярли L-NAME билан олиб борилган тажрибалардан олинган натижаларга мос келиши аниқланди.

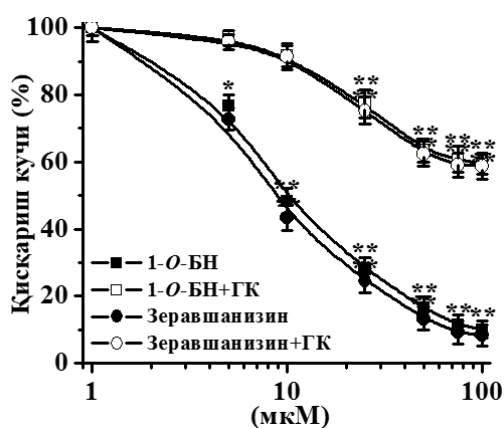
Шундай қилиб, ушбу тажрибалар серияларида олинган натижалар зеравшанизин дитерпеноид алкалоиди эндотелийга боғлиқ кучли вазорелаксант таъсирга эга эканлигидан далолат беради. Шу билан бирга, ушбу алкалоиднинг эндотелий олиб ташланган шароитда ва NO синтаза ингибитори L-NAME иштирокида вазорелаксант таъсирининг сезиларли



камайиши уни таъминлашда NO синтазанинг муҳим рол бажаришини исботлайди.

Олинган натижалар асосида хулоса қилиш мумкинки, зеравшанизин дитерпеноид алкалоиди вазорелаксанти таъсири NO синтаза ва sGC/cGMP/PKG сигнал йўлининг фаоллашиши билан боғлиқ бўлиб, плазмалемма  $Ca^{2+}_L$  ва  $Ca^{2+}_R$  – каналлари, CP  $IP_3R$  инактивацияси билан боғлиқ бўлиб, натижада, СМХ ларида  $[Ca^{2+}]_i$  концентрациясининг камайиши ва силлиқ мускулларнинг бўшашиши келиб чиқади

*Дитерпеноид алкалоидларнинг вазорелаксанти таъсирида  $K^+$ -каналларининг ролини баҳолаш.* СМХ лари  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимлари, асосан  $Ca^{2+}_L$ -каналларини фаоллигини бошқаришда мембрана потенциални назорат қилишда ва модуляциясида иштирок этувчи калий каналлари муҳим рол ўйнайди (Brayden, Murphy, 1996). Шу муносабат билан ўрганилаётган дитерпеноид алкалоидларнинг вазорелаксанти таъсири таъминлашда калий каналларининг ролини баҳолаш учун уларнинг эффектига ҳар хил типдаги калий каналлар блокаторларининг таъсири ўрганилди. Ушбу тажрибаларда  $K_{ATP}$ -канал блокатори – глибенкламид,  $K_{Ca}$ -канал блокатори – тетраэтиламмоний (ТЭА),  $K_V$ -канал блокатори – 4-аминопиридин (4-АП) ва  $K_{IR}$ -канал блокатори –  $BaCl_2$  фойдаланилди. Мазкур тажрибаларда аорта препаратларини олдиндан ушбу блокаторлар билан ишлов берилиши, фақат глибенкламид ўрганилаётган алкалоидларнинг вазорелаксанти таъсири камайтириши аниқланди. Жумладан, 50 мкМ глибенкламид иштирокида 1-О-БН ва зеравшанизин алкалоидлари КСІ билан чақирилган аорта препаратининг қисқариш кучини глибенкламид иштирокисиз олинган назоратга нисбатан мос равишда  $49,3 \pm 2,5\%$  ва  $50,5 \pm 3,1\%$  гача камайтириши аниқланди (4-расм).

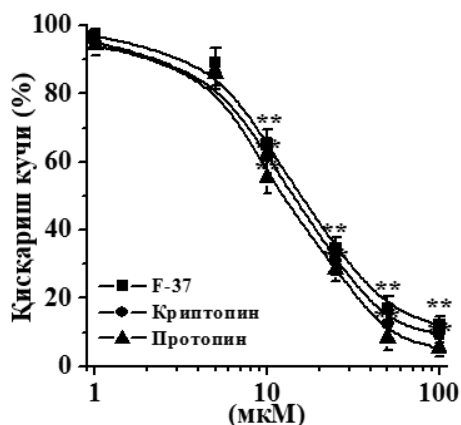


**4-расм. Каламуш аорта препаратининг КСІ билан чақирилган қисқариш шароитида 1-О-БН ва зеравшанизин алкалоидларининг вазорелаксанти фаоллигига  $K^+$ ATP-канал блокатори глибенкламид (ГК) нинг таъсири.** Ордината ўқида – аорта препарати қисқариш кучи фоизда ифодаланган, 20 мМ КСІ ёрдамида чақирилган қисқариш кучи 100% деб олинган. Абсцисса ўқида - алкалоидларнинг концентрацияси (мкМ) ифодаланган. (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 6$ ).

Шуниндек, 4-АП (1 мМ) иштирокидаги уқшаш тажрибаларда 1-О-БН ва зеравшанизин алкалоидларининг КСІ билан чақирилган аорта препарати қисқариш кучига таъсири блокатор иштирокисиз олинган назоратга нисбатан мос равишда  $22,1 \pm 2,5\%$  ва  $27,1 \pm 3,4\%$  га камайди. Шу билан бирга,  $K_{Ca}$ - ва  $K_{IR}$ -каналлари блокаторлари ТЭА ва  $BaCl_2$  билан олиб борилган тажрибалар натижалари кўрсатадики, 1-О-БН ва зеравшанизин алкалоидларининг вазорелаксанти фаоллигига сезиларли таъсир кўрсатмайди. Ушбу тажриба натижалари ўрганилаётган дитерпеноид

алкалоидларнинг вазорелаксат таъсирини таъминлашда СМХ лари  $K_{ATФ}$ -каналлари муҳим рол ўйнаши мумкинлигидан далолат беради. Алкалоидларнинг бу эффекти ушбу каналларнинг фаоллашиши билан боғлиқ бўлиб, СМХ лари мембранасининг гиперполяризацияси ва СМХ ларига келиб тушувчи  $Ca^{2+}$  ионларининг камайиши билан борадиган  $Ca^{2+}_L$ -каналларининг инактивациясига олиб келади, натижада,  $[Ca^{2+}]_i$  миқдорининг камайиши ва силлиқ мускулларнинг бўшашиши кузатилади.

*Гиперкалийли контрактура шароитида изохинолин алкалоидларининг каламуш аорта препаратлари қисқариш фаоллигига таъсири.* F-37, криптопин ва протопин изохинолин алкалоидларининг таъсири ўрганилганда улар гиперкалий эритмаси (50 мМ КСl) билан олдиндан чақирилган каламуш аорта препаратлари қисқаришини самарали бўшаштириши аниқланди. F-37, криптопин ва протопин изохинолин алкалоидларининг ушбу эффекти дозага боғлиқ бўлиб, уларнинг 100 мкМ концентрациясида КСl билан чақирилган аорта препарати қисқариш кучини мос равишда  $91,1 \pm 2,6\%$ ,  $93,5 \pm 3,2\%$  ва  $94,6 \pm 2,5\%$  га камайитириши аниқланди (5-расм).



**5-расм.** F-37, криптопин ва протопин изохинолин алкалоидларининг КСl билан чақирилган каламуш аорта препарати қисқариш кучига таъсири. Ордината ўқида – аорта препарати қисқариш кучи фоизда ифодаланган, 50 мМ КСl ёрдамида чақирилган қисқариш кучи 100% деб олинган. Абсцисса ўқида – алкалоидларнинг концентрацияси (мкМ) ифодаланган. (\*\* $p < 0,01$ ;  $n = 5$ ).

Ушбу шароитда F-37, криптопин ва протопин алкалоидлари учун  $IC_{50}$  қиймати мос равишда 15,8 мкМ ( $pD_2 = 4,8124$ ), 12,8 мкМ ( $pD_2 = 4,8961$ ) ва 11,5 мкМ ( $pD_2 = 4,9393$ ) ни ташкил этди. Шунингдек, гиперкалийли эритмалар билан чақирилган аорта препаратлари қисқариши асосан  $Ca^{2+}_L$ -каналлари орқали СМХ ларига кирадиган  $Ca^{2+}$ -ионлари билан таъминлангани сабабли ушбу натижалар ўрганилаётган изохинолин алкалоидларининг бундай эффекти ушбу каналларга уларнинг таъсири билан боғлиқлигини кўрсатиши мумкин.

Изохинолин алкалоидларининг вазорелаксат таъсирини таъминлашда  $Ca^{2+}_L$ -каналларининг иштироки, уларнинг эффекти инкубация муҳитида  $Ca^{2+}$  ионлари мавжудлигига боғлиқлиги билан ҳам исботланиши мумкин, бу уларнинг концентрациясининг камайиши билан сезиларли даражада пасайганлигини кўрсатади. Ушбу каналларнинг блокатори верапамил билан ўтказилган тажрибалар натижалари тадқиқ қилинаётган изохинолин алкалоидларнинг вазорелаксат таъсирини таъминлашда  $Ca^{2+}_L$ -каналларининг муҳим ролини қўшимча тасдиқлайди. Мазкур тажрибаларда аорта препаратлари верапамил билан дастлабки инкубациясида ўрганилаётган изохинолин алкалоидларнинг вазорелаксат таъсири сезиларли даражада камайиши кузатилди. Ушбу тажрибаларнинг натижалари ўрганилаётган изохинолин алкалоидларнинг вазорелаксат таъсирини

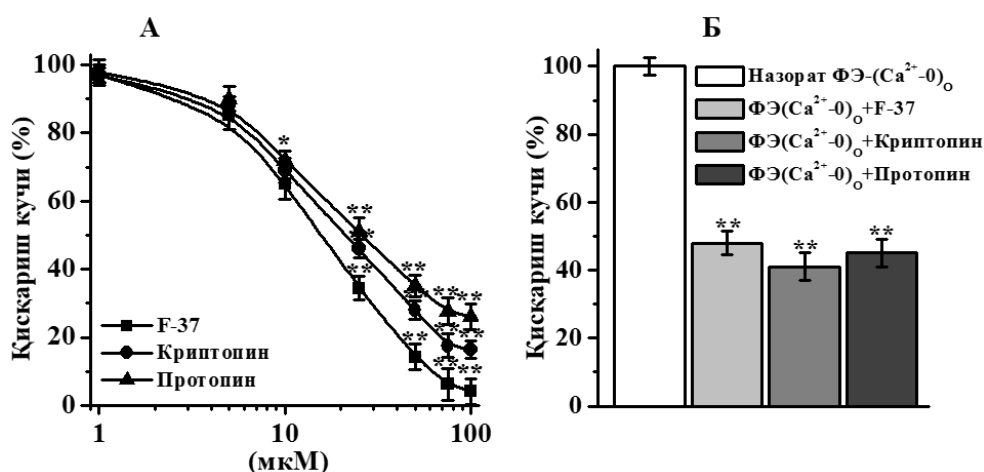
таъминлашда СМХ лари  $Ca^{2+}_L$ - каналларининг иштироки мавжуд эканлигини кўшимча исботлайди.

Шундай қилиб, ушбу тажрибалар сериялари натижалари кўрсатадики, F-37, криптопин ва протопин алкалоидлари сезиларли вазорелаксанти таъсирга эга бўлиб, ушбу таъсири  $Ca^{2+}_L$  –каналлари блокадасига асосланган бўлиши мумкин ва бунинг натижасида СМХ ларига  $Ca^{2+}$  ионлари киришининг пасайиши, унда  $[Ca^{2+}]_i$  миқдорининг камайиши ҳамда силлиқ мускулларнинг бўшаши кузатилиши мумкин.

*Фенилэфринли контрактура шароитида изохинолин алкалоидларининг каламуш аорта препаратлари қисқариш фаоллигига таъсири.* Юқорида таъкидланганидек, силлиқ мускул қисқариш фаоллиги ва СМХ лари  $Ca^{2+}$ -гомеостазини таъминлашда ва регуляциясида  $Ca^{2+}_L$ -каналлари билан бир қаторда  $Ca^{2+}_R$ -каналлари ҳам муҳим рол ўйнайди (McFadzean, Gibson, 2002; Jackson, 2000).  $\alpha$ -адренорецепторларни стимуляциясида  $Ca^{2+}_R$ -каналларининг фаоллашиши СМХ лари цитоплазмасига  $Ca^{2+}$  ионларининг киришини таъминлайди ва силлиқ мускулларнинг қисқариш жараёнини келтириб чиқарадиган  $[Ca^{2+}]_i$  ортишини таъминлайди. Шунга кўра, ўрганилаётган изохинолин алкалоидларнинг вазорелаксанти таъсирини таъминлашда  $Ca^{2+}_R$ -каналларининг ролини баҳолаш учун уларнинг  $\alpha$ -адренорецепторлар агонисти ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқаришига таъсирини ўрганилди. Ушбу тажрибаларда, тадқиқ қилинаётган изохинолин алкалоидларини инкубация муҳитига киритилиши, ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучини сезиларли даражада камайтириши кузатилди. Шу билан бирга, F-37, криптопин ва протопин алкалоидларининг бундай таъсири дозага боғлиқ бўлиб, уларнинг 100 мкМ концентрацияси ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучини мос равишда  $95,9 \pm 3,8\%$ ,  $83,6 \pm 2,6\%$  ва  $74,1 \pm 3,7\%$  га камайтириши аниқланди (6-расм, А). Ушбу шароитда F-37, криптопин ва протопин алкалоидлари учун  $IC_{50}$  қиймати мос равишда 15,7 мкМ ( $pD_2 = 4,8041$ ), 20,9 мкМ ( $pD_2 = 4,6798$ ) ва 26,4 мкМ ( $pD_2 = 4,5783$ ) га тенг бўлди.

Ушбу тажрибалар натижалари кўрсатадики, ўрганилаётган изохинолин алкалоидлар ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучини самарали пасайтиради, бу асосан СМХ ларига  $Ca^{2+}$  ионларининг плазмалемма  $Ca^{2+}_R$ -каналлари орқали кириши билан таъминланади. Шу билан бирга, ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқаришини таъминлашда СР дан чиқарилган  $Ca^{2+}$  ионлари ҳам иштирок этади. Шунга мувофиқ, тадқиқ қилинаётган изохинолин алкалоидларнинг СР дан  $Ca^{2+}$  ионларини чиқарилишига таъсирини текшириш учун инкубация муҳитида  $Ca^{2+}$  ионлари мавжуд бўлмаган шароитда уларнинг эффекти ўрганилди, бу эса асосан СР дан чиқувчи  $Ca^{2+}$  ионлари билан таъминланади (Laporte et al., 2004). Ушбу тажрибаларда, текширилаётган изохинолин алкалоидлар ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучини сезиларли даражада камайтириши аниқланди. Бунда 100 мкМ F-37, криптопин ва протопин алкалоидлари иштирокида ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари

қисқариш кучини назоратга нисбатан мос равишда  $52,1 \pm 3,6\%$ ,  $58,9 \pm 3,1\%$  ва  $54,8 \pm 4,1\%$  га камайтириши аниқланди (6-расм, Б).



**6-расм. F-37, криптопин ва протопин изохинолин алкалоидларининг нормал (А) ва кальцийсиз (Ca<sup>2+</sup>-0)<sub>o</sub> (Б) Кребс эритмаларида фенилэфрин билан чақирилган каламуш аорта препарати қисқариш кучига таъсири.** Ордината ўқида – аорта препарати қисқариш кучи фоизда ифодаланган, 1 мкМ ФЭ ёрдамида чақирилган қисқариш кучи 100% деб олинган. Абсцисса ўқида – алкалоидларнинг концентрацияси (мкМ) ифодаланган. (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n=6$ ).

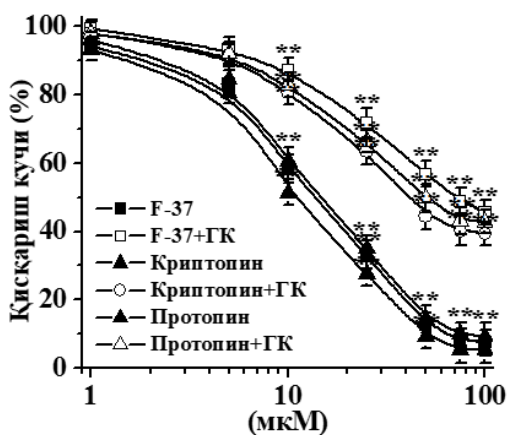
Ушбу тажриба натижалари кўрсатдики, ўрганилаётган изохинолин алкалоидлари Ca<sup>2+</sup> ионлари мавжуд бўлмаган Кребс эритмаси шароитда ФЭ билан юзага келган аорта препаратининг қисқаришига сезиларли таъсир кўрсатади. Инкубация муҳитидан Ca<sup>2+</sup> ионлари мавжуд бўлмаган шароитда ФЭ билан чақирилган қисқариш асосан СР дан чиқувчи Ca<sup>2+</sup> ионлари билан боғлиқ бўлиб, ушбу натижалар ўрганилаётган алкалоидлар СР дан Ca<sup>2+</sup> ионлари чиқарилишига таъсир қилиши мумкинлигини кўрсатади.

Шундай қилиб, ушбу тажрибалар сериясида олинган натижалар кўрсатадики, F-37, криптопин ва протопин изохинолин алкалоидлари аниқ вазорелаксант таъсирига эга бўлиб, бунда Ca<sup>2+</sup><sub>R</sub>-каналлари орқали Ca<sup>2+</sup> ионлари кириши ва уларнинг СР дан чиқишининг камайиши муҳим рол ўйнаши мумкин.

*Изохинолин алкалоидларининг вазорелаксант таъсирида эндотелийнинг ролини баҳолаш.* Юқорида кўрсатилганидек, СМХ лари қисқариш аппарати ва Ca<sup>2+</sup>-транспорт тизимлари фаолияти модуляциясида эндотелий муҳим рол ўйнайди (Baretella, Vanhoutte, 2016). Шу нуқтаи назардан, ўрганилаётган изохинолин алкалоидларнинг вазорелаксант таъсирини таъминлашда эндотелийнинг иштирокини текшириш учун эндотелий олиб ташланган аорта препаратларига уларнинг таъсири ўрганилди. Ушбу тажрибаларда эндотелийни олиб ташланиши ўрганилаётган алкалоидларнинг вазорелаксант фаоллигига сезиларли таъсир кўрсатмаганлиги аниқланди ва уларнинг таъсири эндотелий функциясига боғлиқ эмаслигинда далолат беради.

*Изохинолин алкалоидларининг вазорелаксант таъсирида K<sup>+</sup>-каналларининг ролини ўрганиш.* Юқорида кўрсатиб ўтилганидек, калий каналлари СМХ ларининг мембрана потенциалини назорат қилишда Ca<sup>2+</sup>-

транспорт тизимларини ва айниқса  $Ca^{2+}_L$ -каналларини регуляциясида муҳим рол ўйнайди (Brayden, Murphy, 1996). Шунингдек, изохинолин алкалоидларининг вазорелаксат таъсирида  $K^+$ -каналларининг ролини баҳолаш учун, уларнинг эффекига турли хил  $K^+$ -каналлари блокаторларининг таъсири ўрганилди. Ушбу тажрибаларда ўрганилаётган изохинолин алкалоидларининг вазорелаксат фаоллигига фақат  $K_{ATФ}$ - ва  $K_{Ca}$ -каналларининг блокаторлари сезиларли таъсир кўрсатиши аниқланди. Бунда, 50 мкМ глибенкламид иштирокида F-37 (100 мкМ), криптопин (100 мкМ) ва протопин (100 мкМ) алкалоидларининг эффеки KCl билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучини блокатор бўлмаган ҳолатдаги назоратга нисбатан мос равишда  $38,1 \pm 3,5\%$ ,  $33,3 \pm 3,4\%$  ва  $37,7 \pm 3,4\%$  га камайитириши аниқланди (7-расм). Шунингдек, ТЭА (1 мМ) иштирокида олиб борилган тажрибаларда F-37 (100 мкМ), криптопин (100 мкМ) ва протопин (100 мкМ) алкалоидларининг KCl билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучига таъсирини блокатор бўлмаган ҳолатдаги назоратга нисбатан мос равишда  $21,2 \pm 3,9$ ,  $18,2 \pm 3,3$  ва  $22,5 \pm 3,8\%$  га камайитирди.



**7-расм. Каламуш аорта препаратининг KCl билан чақирилган қисқариш шароитида F-37, криптопин ва протопин алкалоидларининг вазорелаксат фаоллигига  $K^+_{ATФ}$ -канал блокатори глибенкламид (ГК) нинг таъсири.** Оордината ўқида – аорта препарати қисқариш кучи фоизда ифодаланган, 20 мМ KCl ёрдамида чақирилган қисқариш кучи 100% деб олинган. Абсцисса ўқида-алкалоидларнинг концентрацияси ифодаланган (мкМ). (\*\*p<0,01; n=6).

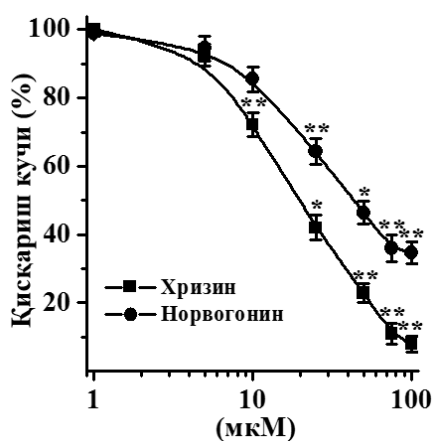
Ушбу тажрибалар натижалари кўрсатадики, СМХ лари  $K_{ATФ}$ - ва  $K_{Ca}$ -каналлари ўрганилаётган алкалоидларнинг вазорелаксат таъсирини таъминлашда муҳим рол ўйнайди. Шу билан бирга, ўрганилаётган алкалоидларнинг  $K_{ATФ}$ - ва  $K_{Ca}$ -каналлари билан ўзаро таъсири ва уларни фаоллаштириши СМХ лари мембранасининг гиперполяризациясига олиб келиши мумкин, бу эса  $Ca^{2+}_L$ -каналларининг инактивацияси,  $[Ca^{2+}]_i$  миқдорининг пасайиши ва силлиқ мускулларнинг бўшашишига олиб келади.

Умуман олганда, ушбу тажрибалар сериясида олинган натижалар кўрсатадики, F-37, криптопин ва протопин изохинолин алкалоидлари эндотелийга боғлиқ бўлмаган кучли вазорелаксат таъсирига эга эканлиги кўзатилди. Олинган маълумотларни таҳлил қилиб, тадқиқ қилинган изохинолин алкалоидларнинг вазорелаксат таъсири асосида мураккаб механизмлар ётади, шу жумладан плазмалемма  $Ca^{2+}_L$  ва  $Ca^{2+}_R$ -каналлари, ҳамда CP  $IP_3R$  блокадасига асосланган бўлиши мумкин деган хулосага келишимизга имкон беради. Ушбу блокада натижасида плазмалемма  $Ca^{2+}_L$  ва  $Ca^{2+}_R$ -каналлари орқали  $Ca^{2+}$  ионларининг киришини сусайтириши ҳамда CP дан уларнинг чиқишини камайитириши мумкин, бу эса СМХ ларида  $[Ca^{2+}]_i$  миқдорининг камайишига ва уларнинг вазорелаксациясига олиб келади. Шу

билан бирга, СМХ лари  $K_{ATP}$ - ва  $K_{Ca}$ -каналлари блокаторлари глибенкламид ва ТЭА ўрганилган алкалоидларнинг вазорелаксат эффектнинг камайишига олиб келади, бу эса уни таъминлашда ушбу каналларнинг иштирокидан далолат беради.

Диссертациянинг «**Айрим флавоноидларнинг вазорелаксат таъсир хусусиятларини тавсифлаш**» деб номланган тўртинчи бобида хризин ва норвогонин флавоноидларининг вазорелаксат таъсири буйича тадқиқот натижалари келтирилган.

*Хризин ва норвогонин флавоноидларининг гиперкалийли контрактура шароитида каламуш аорта препаратлари қисқариш фаоллигига таъсири.* Дастлабки тажрибаларда хризин ва норвогонин флавоноидларида вазорелаксат таъсир кузатилиб ва КСІ билан чақирилган каламуш аорта препаратлари қисқаришини самарали равишда бўшаштириши аниқланди. Бунда, хризин ва норвогониннинг таъсири дозага боғлиқ булиб, 100 мкМ концентрацияда КСІ билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучини назоратга нисбатан мос равишда  $92,1 \pm 2,3\%$  ва  $65,3 \pm 3,1\%$  га камайириши аниқланди (8-расм).



**8-расм. Хризин ва норвогонин флавоноидларининг КСІ билан чақирилган каламуш аорта препарати қисқариш кучига таъсири.** Ордината ўқида – аорта препарати қисқариш кучи фоизда ифодаланган, 50 мМ КСІ ёрдамида чақирилган қисқариш кучи 100% деб олинган. Абсцисса ўқида – флавоноидларнинг концентрацияси (мкМ) ифодаланган. (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 5$ ).

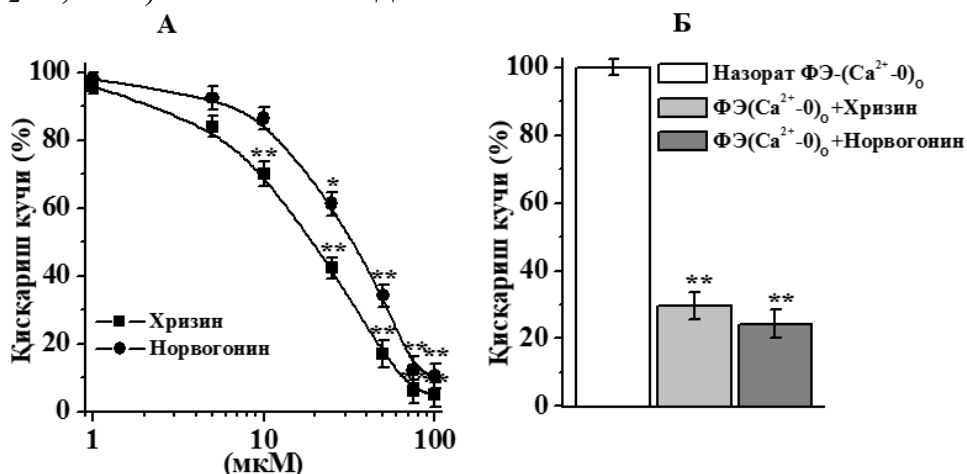
Ушбу шароитда хризин ва норвогониннинг  $IC_{50}$  қиймати 19,7 мкМ ( $pD_2 = 4,7055$ ) ва 30,1 мкМ ( $pD_2 = 4,5214$ ) ни ташкил этди. Ушбу тажрибалар натижалари кўрсатадики, ўрганилаётган флавоноидлар дастлабки гиперкалийли эритма билан чақирилган аорта препаратлари қисқаришини самарали бўшаштиради ва бу уларнинг СМХ лари  $Ca^{2+}_L$ -каналларига таъсири мавжуд эканини кўрсатади.

Тадқиқ қилинаётган флавоноидларнинг вазорелаксат таъсирини таъминлашда  $Ca^{2+}_L$ -каналлари иштироки инкубация муҳитида  $Ca^{2+}$  ионларининг мавжудлигига боғлиқлиги билан тасдиқланади. Мазкур флавоноидларнинг вазорелаксат таъсирини таъминлашда  $Ca^{2+}_L$ -каналларининг ролини қўшимча тасдиқлаш учун ушбу каналларнинг блокатори верапамил иштирокида тажрибалар олиб борилди. Ушбу тажрибаларда аорта препаратларини верапамил билан олдиндан инкубация қилиниши ўрганилаётган флавоноидларнинг вазорелаксат таъсирини сезиларли камайишига олиб келди. Жумладан, верапамилнинг  $IC_{50}$  қийматига мос бўлган 0,1 мкМ концентрацияси мавжуд шароитда хризин ва норвогонин КСІ билан чақирилган аорта препарати қисқариш кучини назоратга нисбатан мос равишда  $15,1 \pm 3,7\%$  ва  $16,4 \pm 3,4\%$  га қўшимча камайириши аниқланди.

Ушбу натижалар кўрсатадики, верапамил билан  $Ca^{2+}_L$ -каналлари блокадаси шароитида ушбу флавоноидларнинг вазореаксанти таъсири сезиларли даражада камаяди, бу эса уларнинг ушбу каналлар орқали  $Ca^{2+}$  ионлари оқимига таъсири мавжудлигини исботлайди. Шу билан бирга, верапамил билан  $Ca^{2+}_L$ -каналлари блокадаси шароитида ўрганилаётган флавоноидларнинг вазорелаксанти таъсирининг давомийлиги, уларнинг СМХ ларига кирадиган  $Ca^{2+}$  ионларининг бошқа йўллариغا ҳам таъсири борлигини кўрсатади.

*Хризин ва норвогонин флавоноидларининг фенилэфрин контрактураси шароитида каламуш аорта препаратлари қисқариш фаоллигига таъсири.* Ушбу тадқиқотларда ўрганилаётган флавоноидлар бу экспериментал шароитларда ҳам кучли вазорелаксанти фаолликка эга эканлиги аниқланди. Жумладан, ўрганилаётган флавоноидлар ФЭ билан чақирилган каламуш аорта препаратлари қисқариш кучини самарали ва дозага боғлиқ равишда бўшаштириши аниқланди.

Ушбу 100 мкМ хризин ва норвогонин иштирокида тажрибаларда аорта препаратининг ФЭ билан чақирилган қисқариши кучи назоратга нисбатан мос равишда  $94,7 \pm 3,7\%$  ва  $89,6 \pm 3,5\%$  га камаяди (рис. 9, А). Бунда хризин ва норвогониннинг  $IC_{50}$  қиймати мос равишда 16,8 мкМ ( $pD_2=4,7746$ ) ва 31,1 мкМ ( $pD_2=4,5072$ ) ни ташкил этди.



**9-расм. Хризин ва норвогонин флавоноидларининг нормал (А) ва кальцийсиз ( $Ca^{2+}$ -)₀ (Б) Кребс эритмаларида фенилэфрин билан чақирилган каламуш аорта препарати қисқариш кучига таъсири.** Ордината ўқида – аорта препарати қисқариш кучи фоизда ифодаланган, 1 мкМ ФЭ ёрдамида чақирилган қисқариш кучи 100% деб олинган. Абсцисса ўқида – флавоноидларнинг концентрацияси (мкМ) ифодаланган. (\* $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ;  $n=6$ ).

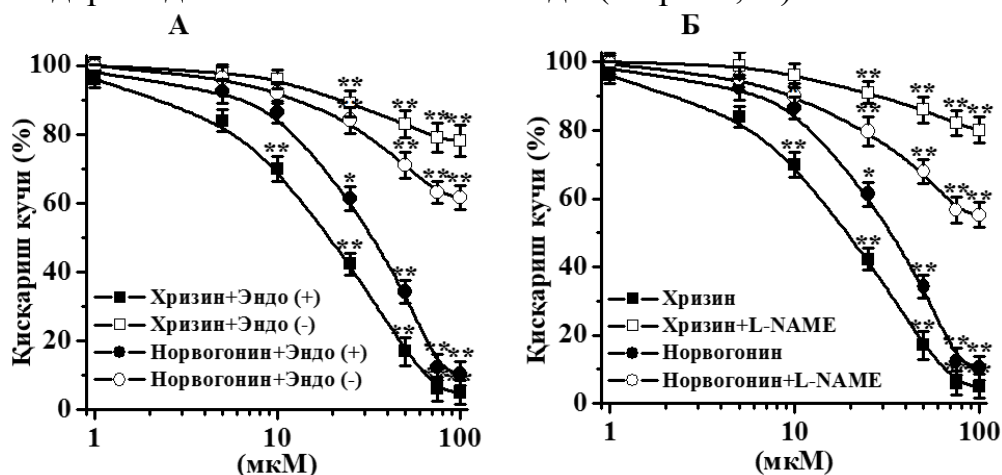
Ушбу тажрибалар натижалари кўрсатадики, ўрганилаётган флавоноидлар ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқаришини самарали бўшаштиради ва СМХ ларига  $Ca^{2+}$  ионларининг плазмалемма  $Ca^{2+}_R$ -каналлари орқали киришини сусайтиради. Ушбу натижалар ўрганилаётган флавоноидларнинг вазорелаксанти эффектини таъминлашда  $Ca^{2+}_L$ -каналлари билан бирга плазмалемма  $Ca^{2+}_R$ -каналларининг ҳам иштироки борлигини кўрсатади.

Шунингдек, ФЭ билан чақирилган аорта препаратининг қисқаришида  $IP_3R$  рецептори орқали СР дан  $Ca^{2+}$  ионларининг чиқарилиши ҳам иштирок этади. Шунга боғлиқ, ўрганилаётган флавоноидларнинг СР дан  $Ca^{2+}$  ионларининг чиқарилишига таъсирини текшириш учун, уларнинг  $Ca^{2+}$  ионлари мавжуд бўлмаган инкубация муҳитида ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучига таъсири ўрганилди. Жумладан, ушбу тажриба шароитида аорта препаратлари хризин (100 мкМ) ва норвогонин (100 мкМ) билан олдиндан инкубация қилиниши ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучини назоратга нисбатан мос равишда  $29,6 \pm 3,9\%$  ва  $24,2 \pm 4,2\%$  га камайтириши аниқланди (9-расм, Б).

Ушбу тажрибалар натижалари кўрсатадики, хризин ва норвогонин флавоноидлари  $Ca^{2+}$  ионлари мавжуд бўлмаган Кребс эритмаларида ФЭ томонидан чақирилган аорта препаратлари қисқаришини самарали камайтиради. Шунингдек, ушбу шароитда ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқариши асосан  $Ca^{2+}$  ионларининг СР дан  $IP_3R$  орқали чиқарилиши билан таъминланишини ҳисобга олсак, ушбу натижалар хризин ва норвогониннинг СР  $IP_3R$  фаоллигига таъсиридан далолат беради.

Умуман олганда, ушбу тажрибалар сериясида олинган натижалар кўрсатадики, хризин ва норвогонин флавоноидларининг вазорелаксант таъсири асосида  $[Ca^{2+}]_i$  миқдорининг пасайиши, уларнинг плазмалемма  $Ca^{2+}_L$  – ва  $Ca^{2+}_R$  – каналлари орқали кириб келиши, шунингдек,  $IP_3R$  орқали СР дан чиқарилишининг сусайиши билан боғлиқ амалга ошиши ётади.

*Хризин ва норвогонин флавоноидларининг вазорелаксант таъсирида эндотелийнинг ролини баҳолаш.* Ушбу ФЭ билан чақирилган қисқариш шароитидаги тажрибаларда қаламуш аорта препаратларидан эндотелийнинг олиб ташланиши хризин ва норвогониннинг вазорелаксант таъсирини сезиларли даражада пасайишига олиб келди (10-расм, А).



10-расм. Эндотелийнинг олиб ташланиши (А) ва L-NAME (Б) нинг ФЭ билан чақирилган аорта препаратининг қисқариш шароитида хризин ва норвогонин флавоноидларининг вазорелаксант эффеќтига таъсири. Ордината ўќида – аорта препарати қисқариш кучи фоизда ифодаланган, 1 мкМ ФЭ ёрдамида чақирилган қисқариш кучи 100% деб олинган. Абсцисса ўќида – флавоноидларнинг концентрацияси (мкМ) ифодаланган. (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ;  $n = 6$ ).



Жумладан, эндотелийнинг олиб ташланиши натижасида ФЭ билан чақирилган аорта препарати қисқариш кучига хризин (100 мкМ) ва норвогонин (100 мкМ) нинг таъсирини эндотелий интакт препаратларда олинган назоратга нисбатан мос равишда  $73\pm 3,9\%$ , ва  $51,3\pm 3,9\%$  га камайтирди.

Эндотелий олиб ташланган аорта препаратларида ФЭ билан чақирилган қисқариш кучига хризин ва норвогонин флавоноидларининг таъсири камайишининг кўзатилиши ўрганилаётган флавоноидларнинг вазорелаксанти таъсирини таъминлашда эндотелийнинг муҳим рол ўйнашидан далолат беради. Юқорида кўрсатиб ўтилганидек, эндотелий бир қатор вазофаол факторларни ишлаб чиқаради, шундан NO қон томирларнинг тонусини тартибга солишда ва силлиқ мускулларнинг бўшаш жараёнларини таъминлашда етакчи рол ўйнайди (Kohlgruber et al., 2017). Шуни ҳисобга олган ҳолда ўрганилаётган флавоноидларнинг вазорелаксанти эффекти NO-синтаза ингибитори L-NAME иштирокида ўрганилди.

Ушбу тажрибалар натижалари кўрсатдики, интакт аорта препаратларини олдиндан 100 мкМ L-NAME билан инкубация қилиниши ўрганилаётган флавоноидларнинг вазорелаксанти таъсирининг сезиларли даражада камайишига олиб келади. Жумладан, 100 мкМ L-NAME иштирокида ФЭ билан чақирилган аорта препарати қисқариш кучига хризин (100 мкМ) ва норвогониннинг (100 мкМ) таъсири мос равишда  $74,8\pm 3,8\%$  ва  $44,8\pm 3,6\%$ , га камайди (10-расм, Б).

Ушбу экспериментларнинг натижалари кўрсатадики, аорта препаратларини NO-синтаза ингибитори – L-NAME билан олдиндан инкубация қилиниши ўрганилаётган флавоноидларнинг вазорелаксанти фаоллигининг сезиларли пасайишига олиб келади. Хризин ва норвогонин флавоноидларининг вазорелаксанти эффекти эндотелийга боғлиқ бўлиб, эҳтимол уларнинг таъсири NO/sGC/cGMP/PKG сигнал йўлининг фаоллашиши билан таъминланиши мумкин.

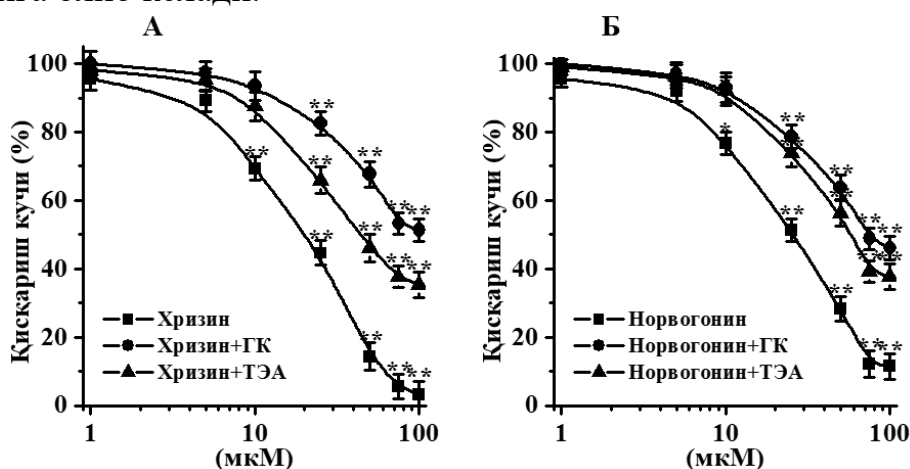
Ўрганилаётган флавоноидларнинг вазорелаксанти таъсирини таъминлашда NO/sGC/cGMP/PKG сигнал йўлининг иштирокини гуанилатциклаза ингибитори - метилен кўки билан олиб борилган тажрибалар қўшимча тасдиқлайди ва уларнинг таъсири сезиларли даражада камайганлиги аниқланди. Бунда, ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучи L-NAME га нисбатан сезиларли фарқ қилмайди.

Шундай қилиб, ушбу тажрибалар сериясида олинган натижалар хризин ва норвогонин флавоноидлари кучли эндотелийга боғлиқ вазорелаксанти таъсирга эга эканлигини кўрсатди. Бунда, NO синтаза ва гуанилатциклазанинг ингибирланиши шароитида флавоноидларнинг вазорелаксанти таъсирининг сезиларли даражада камайиши уларнинг СМҲларида NO/sGC/cGMP/PKG сигнал йўлига таъсиридан далолат беради. Ушбу флавоноидлар NO/sGC/cGMP/PKG сигнал йўлини фаоллаштириш орқали  $Ca^{2+}$  ионларини плазмалеммадаги  $Ca^{2+}_L$  ва  $Ca^{2+}_R$ -каналлари орқали киришинининг сусайиши, шунингдек, CP дан чиқарилишининг

ингибирланиши натижасида СМХ ларида  $[Ca^{2+}]_i$  концентрациясининг камайишига ва силлиқ мускулларнинг бўшашига олиб келади.

*Хризин ва норвогонин флавоноидларининг вазорелаксант таъсирида  $K^+$ -каналларининг ролини ўрганиш.* Ушбу эксперимент натижаларидан кўринадики, аорта препаратини  $K^+_{ATP}$ -каналлари блокатори-глибенкламид ва  $K^+_{Ca^{2+}}$ -канал блокатори – ТЭА билан олдиндан инкубация қилиниши, ўрганилаётган флавоноидларнинг вазорелаксант таъсирининг сезиларли камайишига олиб келди. Жумладан, 50 мкМ глибенкламид ва 10 мМ ТЭА иштирокида КСІ билан чақирилган аорта препаратининг қисқариш кучига хризиннинг (100 мкМ) таъсири назоратга нисбатан мос равишда  $48,7 \pm 3,4\%$  ва  $32,2 \pm 3,7\%$  га камайганлиги аниқланди (11-расм, А). Шунингдек, 50 мкМ глибенкламид ва 10 мМ ТЭА иштирокидаги экспериментал шароитда КСІ билан чақирилган аорта препарати қисқариш кучига норвогониннинг (100 мкМ) таъсири назоратга нисбатан мос равишда  $34,6 \pm 4,3\%$  и  $26,3 \pm 3,7\%$  га камайганлиги кузатилди (11-расм, Б).

Ушбу тажриба натижалари хризин ва норвогонин флавоноидларининг вазорелаксант фаоллигини таъминлашда СМХ лари  $K^+_{ATP}$  ва  $K^+_{Ca}$ -каналларининг ҳам иштирок этишидан далолат беради. Шундай қилиб, ушбу каналларнинг флавоноидлар билан фаоллашиши СМХ лари мембранасининг гиперполяризациясини келтириб чиқаради, натижада СМХ лари  $Ca^{2+}_L$ -каналлари инактивацияси,  $[Ca^{2+}]_i$  миқдорининг камайиши ва уларнинг бўшашишига олиб келади.



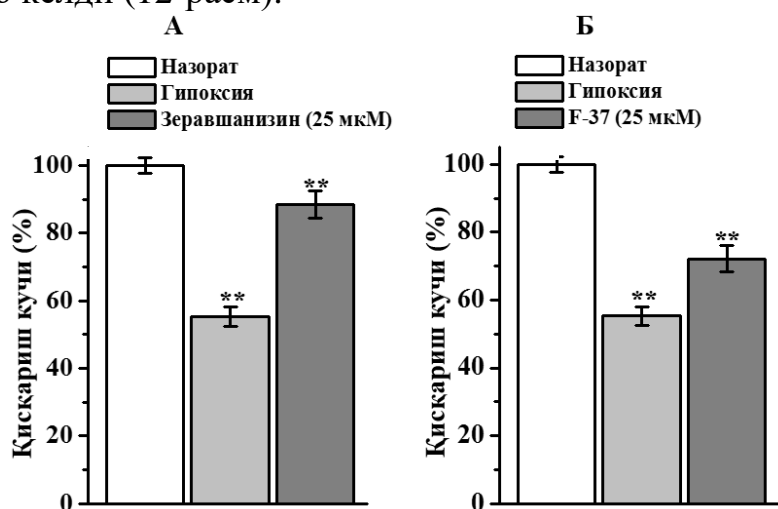
11-расм. Каламуш аорта препаратининг КСІ билан чақирилган қисқариш шароитида хризин (А) ва норвогонин (Б) флавоноидларининг вазорелаксант фаоллигига  $K^+_{ATP}$ -канал блокаторлари глибенкламид (ГК) ва  $K^+_{Ca}$ -канал блокатори тетраэтиламмоний (ТЭА) нинг таъсири. Ордината ўқида – аорта препарати қисқариш кучи фоизда ифодаланган, 20 мМ КСІ ёрдамида чақирилган қисқариш кучи 100% деб олинган. Абсцисса ўқида – флавоноидларнинг концентрацияси (мкМ) ифодаланган. (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 7$ ).

Умуман олганда, ушбу эксперимент серияларидан олинган маълумотларнинг таҳлили кўрсатдики, хризин ва норвогонин флавоноидлари комплекс механизмларга асосланган эндотелийга боғлиқ кучли вазорелаксант таъсирга эгаллиги кўзатилди. Жумладан, КСІ билан чақирилган қисқариш шароитида олинган тажриба натижалари флавоноидларнинг

вазореаксант таъсири плазмалеммадаги  $Ca^{2+}_L$ -каналлари блокадаси билан амалга ошиши мумкинлигини кўрсатади. Шу билан бирга, ФЭ билан чақирилган қисқариш шароитида олинган тажриба натижалари ушбу флавоноидларнинг вазореаксант таъсири плазмалеммадаги  $Ca^{2+}_R$  – канали ва СР даги  $IP_3R$  нинг блокадаси билан боғлиқ бўлиши мумкинлигидан далолат беради. Эндотелийнинг олиб ташланиши натижасида ушбу флавоноидлар вазореаксант таъсирининг сезиларли даражада камайиши, уни таъминлашда СМХ лари NO/sGC/cGMP/PKG сигнал йўлининг иштирокини кўрсатади. Шу билан бирга ушбу флавоноидларнинг вазореаксант таъсирини таъминлашда  $K^+_{ATP}$  и  $K^+_{Ca}$ -каналлари ҳам маълум ҳисса қўшиши мумкин, уларнинг фаоллашиши натижасида СМХ лари мембранаси гиперполяризациясини келтириб чиқариши, СМХ ларига келиб тушувчи  $Ca^{2+}$  ионларининг камайишини таъминловчи  $Ca^{2+}_L$ -каналларининг инактивацияси билан борадиган  $[Ca^{2+}]_i$  миқдорининг камайиши ва силлиқ мускулларнинг бўшашишига олиб келиши мумкин.

Диссертациянинг «**Айрим алкалоидлар ва флавоноидларнинг вазопротектив потенциални баҳолаш**» деб номланган бешинчи бобида алкалоидлар ва флавоноидларнинг гипоксия шароитидаги вазопротектор таъсири буйича тадқиқот натижалари келтирилган.

*Дитерпеноид ва изохинолин алкалоидлари ҳамда флавоноидларнинг гипоксия шароитида каламуш аорта препаратлари қисқариш фаоллигига таъсирини ўрганиш.* Ўрганилаётган алкалоидлар ва флавоноидларнинг вазопротектор таъсирини баҳолаш, ҳаво (95%  $N_2$ , 5%  $CO_2$ ) аралашмасига эга Кребс эритмасида аорта препаратларини инкубация қилиш орқали олинган экспериментал гипоксия (*in vitro*) модели ёрдамида амалга оширилди (Бирулина, 2015). Ушбу экспериментларда каламуш аорта препаратлари 60 мин давомида гипоксик Кребс эритмасида перфузия қилиниши ФЭ билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш кучининг сезиларли даражада пасайишига олиб келди (12-расм).



12-расм. Зеравшанизин (А) ва F-37 (Б) алкалоидларининг гипоксия шароитида ФЭ билан чақирилган каламуш аорта препарати қисқаришига таъсири. Ордината ўқида – аорта препарати қисқариш кучи фоизда ифодаланган, 1 мкМ ФЭ ёрдамида чақирилган қисқариш кучи 100% деб олинган. (\*\*p<0,01; n=6).

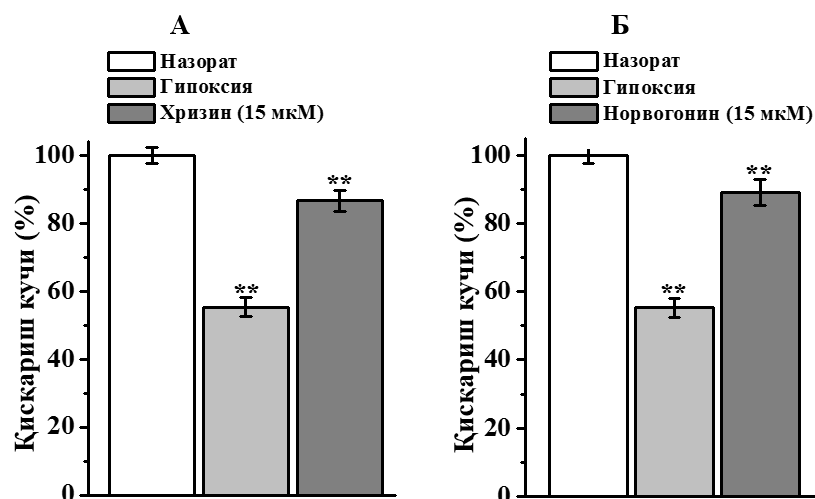
Ушбу экспериментларда аорта препарати ўрганилаётган дитерпеноид алкалоидлар билан олдиндан инкубация қилиниши гипоксиянинг қисқариш фаоллигига салбий таъсирини сезиларли даражада камайтириши аниқланди. Жумладан, ушбу эффект зеравшанизин алкалоидада яққол кўзатилиб, 25 мкМ концентрацияда ФЭ билан чақирилган аорта препарати қисқаришига гипоксиянинг таъсирини  $33,1 \pm 4,1\%$  га камайтирди (12 -расм, А).

Шунга ўхшаш, изохинолин алкалоидлари билан олиб борилган тажрибаларда юқори эффект F-37 алкалоидада кўзатилиб, 25 мкМ концентрацияда ФЭ билан чақирилган аорта препарати қисқаришига гипоксиянинг таъсирини  $16,9 \pm 3,8\%$  га камайтирди (рис.12, Б).

Ушбу тажрибалар натижалари кўрсатадики, зеравшанизин ва F-37 алкалоидлар аорта препаратлари қисқариш фаолиятига гипоксия билан чақирилган салбий таъсирини самарали камайтириши мумкин. Юқорида кўрсатилганидек, гипоксия шароитида қон томир СМХ ларининг қисқариш фаоллигининг камайиши плазмалеммадаги  $Ca^{2+}_L$ - ва  $Ca^{2+}_R$ -каналлари, шунингдек, CP  $IP_3R$  рецепторлари функциясининг бўзилиши билан амалга ошади (Dhalla et al., 2000). Буни ҳисобга олган ҳолда, зеравшанизин ва F-37 алкалоидларининг вазорелаксат таъсири  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимларининг ( $Ca^{2+}_L$ -,  $Ca^{2+}_R$ -каналлари ва CP  $IP_3R$  - рецепторлари) модификацияси билан боғлиқлигини эътиборга олиб, бундай модификация натижасида уларнинг гипоксия шароитида вазопротектор таъсирини амалга оширишини таъминлайди.

Шу билан бирга, зеравшанизиннинг вазопротектор таъсирини таъминлашда NO/sGC/cGMP/PKG сигнал йўлининг фаоллашиши ҳам муҳим роль ўйнайди, бу эса СМХ ларида плазмалемма ва CP даражасида  $Ca^{2+}$  ионлари транспортини меъёрлаштиришга имкон беради, шу билан СМХ ларида  $[Ca^{2+}]_i$  концентрациясини тиклашига ва уларнинг қисқариш фаоллигига ёрдам беради. Шунингдек, гипоксия шароитида ўрганилаётган алкалоидларнинг кузатилаётган эффекти СМХ лари  $K_{ATP}$  - каналлари билан ўзаро таъсири натижаси бўлиши мумкин, бу эса гипоксик/ишемия шароитида СМХ лари шикастланишини ҳимоя қилишини таъминловчи протектор механизмида муҳим роль ўйнайди ( Foster, Coetzee, 2016).

Хризин ва норвогонин флавоноидларининг каламуш аорта препаратларининг гипоксия шароитида юзага келган қисқариш кучига таъсирини ўрганганимизда бу флавоноидларда кучли вазопротектор таъсир кўзатилиб, гипоксиянинг шикастловчи эффектини яққол камайтиради. Жумладан, хризин (15 мкМ) ва норвогонин (15 мкМ) флавоноидлари иштироки каламуш аорта препаратининг ФЭ билан чақирилган қисқариш кучига гипоксиянинг таъсирини мос равишда  $32,1 \pm 3,2\%$  и  $33,9 \pm 3,8\%$  га камайтириши аниқланди (13 -расм, А, Б).



**13-расм. Хризин (А) ва норвогонин (Б) флавоноидларининг гипоксия шароитида ФЭ билан чақирилган каламуш аорта препарати қисқаришига таъсири.** Ордината ўқида – аорта препарати қисқариш кучи фоизда ифодаланган, 1 мкМ ФЭ ёрдамида чақирилган қисқариш кучи 100% деб олинган. (\*\*  $p < 0,01$ ;  $n = 5$ ).

Ушбу олинган натижаларда хризин ва норвогонин флавоноидлари кучли вазопротектор таъсирга эга бўлиб, аорта препарати қисқариш фаоллигининг гипоксия билан чақирилган шикастланишини самарали олдини олади. Шу билан бирга ушбу флавоноидларда кучли эндотелийга боғлиқ вазорелаксант таъсир кўзатилиб, уларнинг вазопротектор таъсирида NO/sGC/cGMP/PKG сигнал йўлининг фаоллашиши муҳим роль ўйнаши мумкин. NO ва унга мос sGC/cGMP/PKG сигнал йўлининг фаоллашиши орқали ушбу флавоноидлар СМҲ ларида  $[Ca^{2+}]_i$  миқдори,  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимлари функциясини ва силлиқ мускул қисқаришини меъёрлаштириши мумкин. Шу билан бирга ушбу флавоноидларнинг вазопротектор таъсири СМҲ нинг  $K^+_{ATФ}$  ва  $K^+_{Ca}$  – каналлари билан ўзаро таъсири билан боғлиқ бўлиб, юқорида кўрсатилганидек гипоксик/ишемия шароитида юрак ва СМҲ лари шикастланишини ҳимоя қилишда муҳим роль ўйнайди.

## ХУЛОСАЛАР

1. Тадқиқ қилиниётган алкалоидлар ва флавоноидлар сезиларли вазорелаксант таъсирга эга бўлиб, унинг асосида силлиқ мускул хужайралари  $Ca^{2+}$ - транспорт тизимлари ва қон томир эндотелийсининг модификацияси билан амалга ошувчи кўплаб механизмлар ётади.

2. Зеравшанизин дитерпеноид алкалоидининг вазорелаксант таъсири эндотелийга боғлиқ бўлиб, NO/sGC/cGMP/PKG сигнал йўли ва  $K^+_{ATФ}$ -каналларининг фаоллашиши билан боради. 1-О-БН нинг вазорелаксант таъсири асосан  $Ca^{2+}$  ионларининг плазмалемма  $Ca^{2+}_L$  ва  $Ca^{2+}_R$  – каналлари орқали киришини ҳамда уларнинг саркоплазматик ретикулумдан чиқишини камайтириши билан таъминланади.

3. F-37, криптопин, протопин изохинолин алкалоидларининг вазорелаксант таъсири эндотелийга боғлиқ бўлмасдан, асосан  $Ca^{2+}$  ионларининг плазмалемма  $Ca^{2+}_L$  ва  $Ca^{2+}_R$  – каналлари орқали киришини ҳамда саркоплазматик ретикулумдан чиқишини камайиши билан таъминланади.

Мазкур алкалоидларнинг ушбу таъсирини таъминлашда  $K_{ATФ}$ -каналлари фаоллашиши ҳам муайян ҳисса кўшади.

4. Хризин ва норвогонин флавоноидлари эндотелийга боғлиқ кучли вазорелаксанти таъсирга эга бўлиб, бунинг асосида  $NO/sGC/cGMP/PKG$  сигнал йўли ва силлиқ мускул ҳужайралари  $K_{ATФ}$ - ва  $K^+_{Ca}$ -каналларининг фаоллашиши билан борадиган  $Ca^{2+}$  ионларининг плазмалемма  $Ca^{2+}_L$  ва  $Ca^{2+}_R$ -каналлари орқали киришини ҳамда саркоплазматик ретикулумдан чиқишини камайиши билан таъминланади.

5. Зеравшанизин дитерпеноид алкалоиди ва хризин флавоноиди кучли вазопротектор таъсирга эга бўлиб, гипоксия билан чақирилган аорта препаратларининг қисқариш фаоллигидаги бузилишларни самарали бартараф этади.

6. Зеравшанизиннинг вазопротектор таъсири силлиқ мускул ҳужайралари  $Ca^{2+}$  транспорт тизимлари ( $Ca^{2+}_L$  -,  $Ca^{2+}_R$ -каналлари ва саркоплазматик ретикулум  $IP_3R$ -рецептори) функцияси модификацияси,  $NO/sGC/cGMP/PKG$  сигнал йўли ҳамда  $K_{ATФ}$ -каналлари фаоллашиши билан борадиган  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимлари функциясини меъёрлаштиришга ёрдам беради.

7. Хризин флавоноидининг вазопротектор таъсири асосан силлиқ мускул ҳужайраларида  $NO/sGC/cGMP/PKG$  сигнал йўли ва  $K^+_{ATФ}$  ва  $K^+_{Ca}$ -каналлари активацияси билан боғлиқ бўлиб,  $Ca^{2+}$ -транспорт тизимлари функциясини ва қисқариш фаоллигини меъёрлаштиришга ёрдам беради.

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

---

**ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И БИОХИМИИ**

**ЕСИМБЕТОВ АДИБАЙ ТЛЕПОВИЧ**

**ХАРАКТЕРИСТИКА ВАЗОРЕЛАКСАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ  
НЕКОТОРЫХ АЛКАЛОИДОВ И ФЛАВОНОИДОВ РАСТЕНИЙ  
УЗБЕКИСТАНА**

**03.00.08 – Физиология человека и животных**

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК (DSc)**

**Ташкент – 2020**

Тема диссертации доктора наук (DSc) зарегистрирована Высшей аттестационной комиссией при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2020.3.DSc/B116.

Диссертация выполнена в Каракалпакском государственном университете им. Бердаха.

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

**Научный консультант:** Усманов Пулат Бекмуратович – доктор биологических наук, профессор

**Официальные оппоненты:** Кучкарова Любовь Салижановна – доктор биологических наук, профессор  
Алламуратов Шухратулла Иноятович – доктор биологических наук, профессор  
Туляганов Рустам Турсунович – доктор биологических наук, доцент


**Ведущая организация:** Каршинский государственный университет

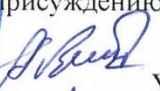
Защита диссертации состоится «23» 12 2020 г. в 14<sup>00</sup> часов на заседании Научного совета DSc.03/30.12.2019.B.01.13 по присуждению ученых степеней при Институте биофизики и биохимии Национальном университете Узбекистана. (адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, ул. Университетская, 174. Тел. 246-68-96.

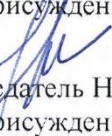
С диссертацией можно ознакомиться в информационно-ресурсном центре Института биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана (зарегистрирована за № 21). Адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, ул. Университетская, 174. Тел: (99871) 246-68-96. e-mail: [ibb-nuu@mail.ru](mailto:ibb-nuu@mail.ru); [asgarov54@mail.ru](mailto:asgarov54@mail.ru)

Автореферат диссертации разослан: «11» 12 2020 года.  
(реестр протокола рассылки № «1» от 11.12. 2020 года).



 **Сабилов Равшан Заирович**  
Председателя Научного совета  
по присуждению ученых степеней, д.б.н., академик

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

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



## ВВЕДЕНИЕ (Аннотация диссертации доктора наук (DSc))

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** Заболевания сердечно-сосудистой системы относятся к числу наиболее распространенных патологий, которые сегодня занимают одно из первых мест среди причин смертности и инвалидности населения в развитых странах мира (Roth et al., 2017). Согласно современным представлениям, в основе развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), лежит нарушение функции гладкомышечных клеток (ГМК), регуляции транспорта ионов  $Ca^{2+}$  и тонуса кровеносных сосудов (Wright, Thomas, 2018). В связи с этим, одной из важнейших задач современной фармакологии и кардиологии является выяснение механизмов регуляции сосудистого тонуса, который обеспечивает поддержание нормального уровня артериального давления.

Во многих научных центрах мира уделяется особое внимание исследованиям, направленным на изучение механизмов регуляции тонуса кровеносных сосудов, уделяется особое приоритетное значение. При патогенезе АГ повреждение функции мембранных рецепторов,  $Ca^{2+}$ -транспортирующих систем ГМК и эндотелия кровеносных сосудов выявлено как один из ведущих механизмов, ответственных за повышение тонуса кровеносных сосудов (Karakı et al., 1997; Touyz et al., 2018). Кроме того, установлено, что дефект, непосредственно связанный с патогенезом артериальной гипертензии, является основной мишенью эндотелия кровеносных сосудов и  $Ca^{2+}$  транспортирующих систем ГМК.

Эти исследования позволят установить наиболее эффективные подходы коррекции нарушений функции  $Ca^{2+}$ -транспортирующих систем ГМК и эндотелия кровеносных сосудов, которые будут способствовать разработке новых способов адекватной терапии артериальной гипертензии.

В Узбекистане уделяется особое внимание исследованиям, направленным на создание лекарственных средств для лечения артериальной гипертензии на основе местного растительного сырья. В Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определены задачи, направленные на «Развитие фармацевтической промышленности и обеспечение населения качественными, безопасными и дешевыми лекарственными средствами»<sup>1</sup>. Для успешной реализации поставленных задач учеными республики проводятся масштабные исследования, при этом важное значение имеет разработка новых лекарственных средств для профилактики и лечения артериальной гипертензии, основанные на биологические и фармакологические эффекты соединений, выделенных из различных растений.

Настоящее диссертационное исследование в определенной степени служит в реализации задач, предусмотренных в Указе Президента Республики Узбекистан № УП-4947 «О Стратегии действий по дальнейшему

---

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

развитию Республики Узбекистан» от 7 февраля 2017 года, в постановлениях Президента Республики Узбекистан № ПП-3532 «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли» от 14 февраля 2018 года, № ПП-4310 «О мерах по дальнейшему развитию системы медицинского и фармацевтического образования и науки» от 6 мая 2019 года, ПП-4670 «О мерах по охране, культурному выращиванию, переработке дикорастущих лекарственных растений и рациональному использованию имеющихся ресурсов» от 10 апреля 2020 года, а также в других нормативно-правовых актах, касающихся данной сферы деятельности.

**Соответствие исследования основным приоритетным направлениям развития науки и технологий республики.** Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий Республики Узбекистан -VI «Медицина и фармакология».

#### **Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации<sup>1</sup>.**

Во многих ведущих научных центрах и высших учебных заведениях мира, в том числе University of Alberta (Канада), University of Freiburg (Германия), New York University (США), Boston University (США), Shihezi University (Китай), Aichi Medical University (Япония), French Institute of Health and Medical Research (Франция), в Институте биофизики клетки РАН (Россия), Институте физиологии им Богомольца (Украина) и в других, ведутся исследования, направленные на выяснение механизма действия биологически активных соединений растительного происхождения с целью выявления потенциальных гипотензивных средств.

В результате проведенных мировых исследований, по вазорелаксантному действию некоторых алкалоидов и флавоноидов различных растений, получен ряд научных результатов, включая следующие: доказаны механизмы модуляции  $Ca^{2+}$ -гомеостаза гладкомышечных клеток (University of Alberta, Канада; Shihezi University; Китай), установлены механизмы регуляции функции  $Ca^{2+}$ -каналов L-типа ( $Ca^{2+}_L$ ) и  $Na^+/Ca^{2+}$ -обменника (University of Freiburg, Германия; French Institute of Health and Medical Research (Франция); выяснена роль отдельных внутриклеточных сигнальных систем в регуляции функции  $K^+$  каналов и  $Ca^{2+}$ -АТФазы саркоплазматического ретикулума (СР) (New York University, США; Aichi Medical University, Япония); установлены механизмы фармакологической модуляции  $Ca^{2+}$ -транспортирующих систем гладких мышц различными биологически активными соединениями (Институт физиологии им Богомольца (Украина).

В мире при изучении механизмов регуляции тонуса кровеносных сосудов ведется ряд исследований по следующим приоритетным направлениям: установление механизмов модуляции  $Ca^{2+}$ -гомеостаза ГМК

---

<sup>1</sup> Обзор научных исследований по теме диссертационной работы, проводимых за рубежом, составлен по данным, приведенным в источниках: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092544390300139x>; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc2824521>; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8670237> и других источников.

биологически активными соединениями; выяснение новых подходов регуляции  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортирующих систем ГМК биологически активными соединениями; установление роли  $\text{K}^+$ -каналов в модуляции функции  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортирующих систем ГМК; оценка роли дисфункции эндотелия кровеносных сосудов в патогенезе артериальной гипертензии и ССЗ; разработка новых подходов профилактики и лечения артериальной гипертензии и сердечно-сосудистых заболеваний.

**Степень изученности проблемы.** В последние годы при разработке новых подходов к профилактике и лечению артериальной гипертензии и ССЗ, особое внимание уделяется изучению вазорелаксантных эффектов биологически активных соединений растительного происхождения. Это объясняется тем, что эти соединения характеризуются большим разнообразием структур и широким спектром фармакологических эффектов. К настоящему времени из растений выделено и охарактеризовано большое количество алкалоидов и флавоноидов обладающих гипотензивным действием (Luna-Vzquez et al, 2013). При этом установлено, что в основе гипотензивного действия этих соединений лежит их вазорелаксантная активность, в обеспечении которой принимают участие различные механизмы (McNeill, Jurgens, 2006). В частности, показано, что вазорелаксантный эффект некоторых алкалоидов обеспечивается благодаря подавлению поступления ионов  $\text{Ca}^{2+}$  через потенциал-зависимые ( $\text{Ca}^{2+}_L$ ) и рецептор-управляемые ( $\text{Ca}^{2+}_R$ )  $\text{Ca}^{2+}$  каналы плазмалеммы, а также их высвобождения из СР (Ndagijimana et al, 2013). Вместе с тем установлено, что в основе вазорелаксантного действия большинства флавоноидов лежит комплексный механизм, включающий блокаду  $\text{Ca}^{2+}_L$ - и  $\text{Ca}^{2+}_R$ -каналов, а также активацию NO-гунилатциклазной системы и  $\text{K}^+$ -каналов плазмалеммы, благодаря которому обеспечивается уменьшение уровня  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  в ГМК и снижение тонуса кровеносных сосудов (Woodman et al., 2005).

В научных центрах СНГ исследования, направленные на выяснение механизмов фармакологической модуляции сократительной активности гладкой мускулатуры кровеносных сосудов, также находятся в центре внимания. Так, в СибГМУ под руководством М.Б.Баскакова получены новые данные о механизмах межклеточной и внутриклеточной сигнализации в гладких мышцах кровеносных сосудов. Авторами особо отмечается роль NO как уникального регулятора функции гладких мышц в норме и при патологии (Баскаков и др., 1996). Интересные сведения о механизме действия биологически активных соединений на сигнальные каскады и NO-гунилатциклазную систему гладкой мускулатуры кровеносных сосудов получены группой Сагача В.Ф. (Сагач и др., 2006).

Большой объем ценной информации о механизме действия флавоноидов на сократительную активность гладкой мускулатуры получен в лаборатории Макаровой М.Н. (Макарова М.Н. и др. 2011). При этом идентифицированы конкретные мишени ГМК и эндотелия кровеносных

сосудов, через взаимодействие с которыми обеспечиваются эффекты различных классов флавоноидов.

Исследованиям, направленным на создание новых лекарственных средств для профилактики и лечения ССЗ, также уделяется особое внимание учеными Узбекистана. В ИХРВ АН РУз выделено и синтезировано большое количество алкалоидов и флавоноидов обладающих антиаритмическим, кардиопротекторным и гипотензивным действием (Юнусов М.С., Джахангиров Ф.Н., Салимов Б.Т.). Большой вклад в установление механизма действия этих соединений внесли сотрудники Института биофизики и биохимии при Национальном Университете Узбекистана академики Б.А. Ташмухамедов, Р.З. Собиров и профессор П.Б. Усманов, под руководством которых охарактеризованы эффекты различных соединений растительного происхождения на ион-транспортирующие системы сердечной и гладкой мускулатуры, а также их влияние на регуляцию объема клеток.

**Связь темы диссертации с планами научно–исследовательских работ научно–исследовательского учреждения, где выполнена работа.**

Диссертационное исследование выполнено в соответствии с планом научных исследований Института биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана, реализуемых в рамках проектов ФА-А12-Т068 “Разработка комплексного подхода скрининга и характеристики структурно-функциональных особенностей взаимодействия природных биологически активных соединений с ионными каналами и рецепторами биологических мембран” (2008-2012 гг.), ФА-Ф6-Т083 «Поиск и характеристика биологически активных соединений-модуляторов  $Ca^{2+}$ -гомеостаза в клетках сердечных и гладких мышц» (2012-2016 гг.), ФА-Ф-6-004 «Комплексная характеристика механизмов модуляции перспективных мишеней сердечных и гладкомышечных клеток для разработки адекватных подходов терапии сердечно–сосудистых заболеваний» (2017–2020 гг).

**Целью исследования** является определение особенностей вазорелаксантного действия некоторых изохинолиновых и дитерпеноидных алкалоидов, а также флаваноидов выделенных из растений, произрастающих в Узбекистане.

**Задачи исследования:**

исследовать особенности вазорелаксантного действия дитерпеноидных (зонгорин, 1-О-БН, зеравшанизин) и изохинолиновых алкалоидов (F-37, криптопин, протопин), а также флавоноидов хризина и норвогонина;

изучить роль  $Ca^{2+}$ -транспортирующих систем плазмалеммы ( $Ca^{2+}_L$ - и  $Ca^{2+}_R$ -каналы) ГМК в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых алкалоидов и флавоноидов;

изучить роль  $Ca^{2+}$ -транспортирующих систем саркоплазматического ретикулаума ( $IP_3R$ ) ГМК в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых алкалоидов и флавоноидов;

исследовать участие эндотелия кровеносных сосудов в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых алкалоидов и флавоноидов;

оценить роль  $K^+$ -каналов ГМК в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых алкалоидов и флавоноидов;

провести анализ результатов и определить возможные механизмы, лежащие в основе вазорелаксантного действия исследуемых алкалоидов и флавоноидов;

оценить эффекты исследуемых алкалоидов и флавоноидов на сократительную активность гладкой мускулатуры в экспериментальных условиях гипоксии.

**Объектами исследования** являются препараты аорты крысы, дитерпеноидные алкалоиды - зонгорин, 1-О-БН, зеравшанизин и изохинолиновые алкалоиды - F-37, криптопин, протопин, а также флавоноиды - хризин и норвогонин и их химические структуры.

**Предметом исследования** является механизмы вазорелаксантного действия дитерпеноидных алкалоидов (зонгорин, 1-О-БН, зеравшанизин), изохинолиновых алкалоидов (F-37, криптопин, протопин) и флавоноидов - хризина и норвогонина, а также роль  $Ca^{2+}$ -транспортирующих систем плазмалеммы и саркоплазматического ретикулума, эндотелия и  $K^+$ -каналов ГМК в его обеспечении.

**Методы исследования.** В диссертационной работе использованы современные биофизические и электрофизиологические методы, а также компьютерные системы для регистрации сократительной активности препаратов аорты. Регистрация сократительной активности препаратов для аорты крысы проведена с помощью механографического устройства, оснащенного датчиком напряжения FT03 и усилителем P11T (Grass Technology Inc., США). При обработке результатов использовано OriginPro v 8.5 (Origin Lab. Corporation, США).

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

установлено, что вазорелаксантное действие дитерпеноидных и изохинолиновых алкалоидов в основном обеспечивается благодаря подавлению поступления ионов  $Ca^{2+}$  через  $Ca^{2+}_L$ - и  $Ca^{2+}_R$  – каналы плазмалеммы, а также их высвобождения из СР;

показано, что вазорелаксантный эффект алкалоида зеравшанизина имеет эндотелий-зависимый характер, и может быть, обусловлен активацией NO/sGC/cGMP/PKG сигнального пути;

установлена важная роль  $K_{ATP}$ -каналов ГМК в обеспечении вазорелаксантного эффекта дитерпеноидных алкалоидов (1-О-БН, зеравшанизина) и изохинолиновых алкалоидов (F-37, криптопина, протопина);

доказано, что флавоноиды хризин и норвогонин обладают выраженным эндотелий – зависимым вазорелаксантным действием, которое в основном обеспечивается благодаря активации NO/sGC/cGMP/PKG сигнального пути и  $K_{ATP}$ -каналов ГМК;

обнаружено, что исследованные алкалоиды и флавоноиды эффективно защищают препараты аорты от повреждений, вызываемых гипоксией, что свидетельствует об их вазопротекторном действии.

**Практические результаты исследования** состоят в следующем:

Определен расслабляющий эффект изохинолиновых и дитерпеноидных алкалоидов, а также флавоноидов хризина и норвогинина на предсокращенные кровеносные сосуды, который послужит основой профилактики артериальной гипертензии и заболеваний сердечно-сосудистой системы;

на основе релаксирующего и вазопротекторного действия биологически активных веществ разработаны научно обоснованные подходы к лечению сердечно-сосудистых заболеваний.

**Достоверность полученных результатов** обосновывается тем, что экспериментальные данные получены с применением современных автоматических систем регистрации и сбора экспериментальных результатов, обеспечивающих обработку и анализ их достоверности. Дополнительным подтверждением достоверности представленных данных служат оценки экспертов, полученные при публикации результатов исследований в рецензируемых научных журналах. Выводы, сформулированные в работе, сделаны на основе результатов статистической обработки с использованием коэффициента Стьюдента, компьютерных программ OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060–4401, США).

**Научная и практическая значимость результатов исследования.**

Научная значимость результатов исследования определяется вкладом в развитие фундаментальных представлений о механизмах вазорелаксантного действия дитерпеноидных и изохинолиновых алкалоидов, а также флавоноидов, роли  $Ca^{2+}$  транспортирующих систем, эндотелия и  $K^+$ -каналов ГМК в его обеспечении, а также о новых подходах их фармакологической регуляции.

Практическая значимость результатов исследования определяется в обнаружении алкалоидов и флавоноидов, обладающих выраженным эндотелий-зависимым и эндотелий-зависимым вазорелаксантным действием, использование которых в качестве соединений-лидеров будут способствовать созданию нового поколения эффективных антигипертензивных, вазо- и кардиопротекторных средств.

**Внедрение результатов исследования.** На основании результатов, полученных в ходе изучения механизмов вазорелаксантного действия изохинолиновых алкалоидов (F-37, криптопин, протопин) и дитерпеноидных алкалоидов (зонгорин, 1-О-БН, зеравшанизин) и флавоноидов хризина и норвогонина;

Специфическое вазорелаксантное действие флавоноидов хризина и норвогонина было использовано в комплексном описании фармакологических свойств флавоноидов в проекте «The International cooperation and exchange of the National Natural Science Foundation of China (No3111010398) and The Central Asian drug Discovery&Developments Centre of

Chinese Academy of Sciences» (справка Центральной лаборатории растительных ресурсов и химии Аридных зон Синьцзянского института химии и физики Академии наук Китая, от 21 октября 2020 года). Полученные результаты исследований способствовали определению перспективных флавоноидов для разработки нового поколения спазмолитических и гипотензивных средств;

свойство модуляции транспорта ионов  $Ca^{2+}$  дитерпеноидными алкалоидами было использовано при разработке методов контролируемого разделения белков и полифенолов в рамках проекта ТА-ФА-Ф-6-002 «Конструирование биоматериалов с контролируемым высвобождением биологически активных белков и полифенолов» (справка АН РУз №4/1255-2324 от 28 октября 2020 года). Результаты этих исследований способствовали разработке оптимальных вариантов контролируемого высвобождением биологически активных белков и полифенолов;

специфическое действие дитерпеноидных и изохинолиновых алкалоидов на  $Ca^{2+}$ -транспортирующие системы было использовано при разработке антиаритмических средств в рамках проекта ФА-А12-Т-121 «Разработка и создание фитопрепаратов: 1-0-бензолнапеллина гидрохлорида и дигидроатезина гидрохлорида, обладающих антиаритмическим действием» (справка АН РУз № 4/1255-2326 от 28 октября 2020 года). Результаты этих исследований способствовали созданию новых антиаритмических средств с минимальными побочными эффектами.

**Апробация результатов исследования.** Результаты исследования диссертационной работы прошли апробацию на 6 международных и 4 республиканских научно–практических конференциях.

**Опубликованность результатов исследования.** По теме диссертации опубликовано 27 научных работ, в том числе 16 научных статей, в научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций, из них 13 в республиканских и 3 в зарубежных журналах.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 182 страниц.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ**

**Во введении** обоснована актуальность и востребованность проведенного исследования, определено соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан, определены цель и задачи, объект и предмет исследования, изложена научная новизна и практические результаты исследования, раскрыты научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, приведены сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации, озаглавленной **«Структурно-функциональная организация и механизмы модуляции сократительной активности гладких мышц кровеносных сосудов»** на основе литературных данных последних лет приведены сведения о принципах структурной организации и особенностях функционирования гладкомышечных клеток (ГМК) кровеносных сосудов, их основных ион-транспортирующих систем ( $K^+$ -,  $Ca^{2+}$ -,  $Cl^-$ -каналов,  $Ca^{2+}$ -АТФазы и  $Na^+/Ca^{2+}$ -обменника плазмалеммы, инозитол 3,4,5-трифосфатного рецептора ( $IP_3R$ ) и  $Ca^{2+}$ -АТФазы саркоплазматического ретикулума), представлены данные о молекулярных механизмах лежащих в основе процессов сокращения и расслабления гладкой мускулатуры. Также представлены данные о механизмах их регуляции внутриклеточными сигнальными системами и эндотелиальными факторами, приведены данные о роли ион-транспортирующих систем гладкой мускулатуры и эндотелия в патогенезе артериальной гипертензии и других заболеваний сердечно-сосудистой системы, представлены современные подходы фармакологической коррекции нарушений функциональной активности ион-транспортирующих систем ГМК и эндотелия кровеносных сосудов, наблюдаемых при артериальной гипертензии и заболеваний сердечно-сосудистой системы.

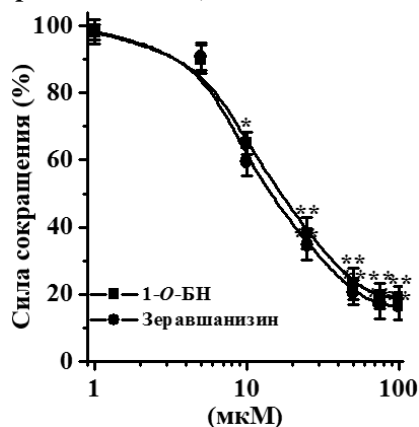
Во второй главе под названием **«Методы регистрации сократительной активности гладких мышц кровеносных сосудов»** представлены сведения об основных методах, использованных в работе, процедуре приготовления препаратов аорты крыс и оборудовании, используемого при регистрации их сократительной активности. Также представлены протоколы экспериментов изучения эффектов исследуемых соединений на препаратах аорты с интактным и с удаленным эндотелием, а также в условиях гипоксии. Кроме того, предоставлена информация о химических реагентах, активаторах и блокаторах ионных каналов, использованных при реализации исследований.

В третьей главе диссертации, озаглавленной **«Характеристика особенностей вазорелаксантного действия некоторых алкалоидов»** представлены результаты исследования эффектов дитерпеноидных алкалоидов (зонгорин, 1-О-бензоилнаппелин и зеравшанизин), изохинолиновых алкалоидов (F-37, криптопин и протопин на сократительную активность препаратов аорты крысы.

*Влияние дитерпеноидных алкалоидов на сократительную активность препаратов аорты крысы в условиях гиперкалиевой контрактуры.* В предварительных экспериментах было обнаружено, что исследуемые дитерпеноидные алкалоиды не влияют на базальный тонус препаратов аорты крысы. Однако, на препаратах аорты, предварительно сокращенных гиперкалиевыми растворами (50 мМ KCl), исследуемые алкалоиды проявляли выраженное вазорелаксантное действие. При этом было обнаружено, что алкалоиды 1-О-БН и зеравшанизин обладают более выраженным вазорелаксантным эффектом, по сравнению с зонгорином. В этих экспериментах в присутствии 100 мкМ 1-О-БН и зеравшанизина сила KCl-индуцированных сокращений препаратов аорты, уменьшалась на



81,1±3,5% и 83,5±4,2%, соответственно, от контроля (рис.1). При этом значение  $IC_{50}$ , концентрации, при которой 1-О-БН и зеравшанизин подавляли силу сокращения на 50%, составляли 19,4 мкМ ( $pD_2=4,7121$ ) и 14,1 мкМ ( $pD_2=4,8507$ ), соответственно.



**Рис.1. Влияние алкалоидов 1-О-БН и зеравшанизина на силу КСl-индуцированных сокращений препаратов аорты.** По оси ординат - сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 50 мМ КСl и принятой за 100%. По оси абсцисс-концентрация алкалоидов (мкМ). (\* $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$ ;  $n=6-7$ ).

В аналогичных экспериментальных условиях в присутствии 100 мкМ зонгорина сила КСl-индуцированных сокращений препаратов аорты, уменьшалась на 64,1±4,4%, от контроля. При этом, значения  $IC_{50}$  для зонгорина составляли 40,5 мкМ ( $pD_2=4,3923$ ).

Учитывая то, что сокращения препаратов аорты, индуцируемые гиперкалиевыми растворами, в основном обеспечиваются ионами  $Ca^{2+}$ , поступающими в ГМК через потенциал-зависимые  $Ca^{2+}$ -каналы ( $Ca^{2+}_L$ ), эти результаты могут свидетельствовать о том, что наблюдаемые эффекты исследуемых дитерпеноидных алкалоидов обусловлены их взаимодействием с этими каналами. Более того эти эффекты алкалоидов в условиях гиперкалиевой контрактуры, существенно зависели от наличия ионов  $Ca^{2+}$  в среде инкубации и заметно снижались при уменьшении их концентрации в последней. В связи с этим для проверки роли  $Ca^{2+}_L$ -каналов в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых алкалоидов, были изучены их эффекты в присутствии блокатора этих каналов верапамила. В этих экспериментах было обнаружено, что предварительная инкубация препаратов аорты с верапамилом сопровождается существенным снижением вазорелаксантного эффекта исследуемых дитерпеноидных алкалоидов. При этом было установлено, что при использовании 0,1 мкМ верапамила, концентрации соответствующей его  $IC_{50}$ , исследуемые алкалоиды сохраняли способность подавлять КСl-индуцируемые сокращения аорты, но в меньшей степени, чем в его отсутствие. В этих экспериментах добавление 100 мкМ зонгорина, на фоне 0,1 мкМ верапамила, сопровождалось снижением силы КСl-индуцированных сокращений препаратов аорты всего на 10,2±3,3%. В аналогичных экспериментах с верапамилом добавление алкалоидов 1-О-БН и зеравшанизина приводило к дополнительному снижению силы КСl-индуцированных сокращений препаратов аорты на 16,1±2,5% и на 21,3±3,9%, соответственно. Результаты этих экспериментов являются дополнительным свидетельством участия  $Ca^{2+}_L$ -каналов ГМК в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых алкалоидов.

Результаты этой серии экспериментов убедительно свидетельствуют о том, что дитерпеноидные алкалоиды 1-О-БН и зеравшанизин обладают

выраженным вазорелаксантным действием и эффективно расслабляют препараты аорты крысы, предварительно сокращенные гиперкалиевыми растворами. В связи с тем, что сокращения препаратов аорты, индуцируемые гиперкалиевыми растворами, в основном обеспечиваются ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , поступающими в ГМК через  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналы, можно предположить, что в основе вазорелаксантного действия исследуемых алкалоидов лежит блокада этих каналов.

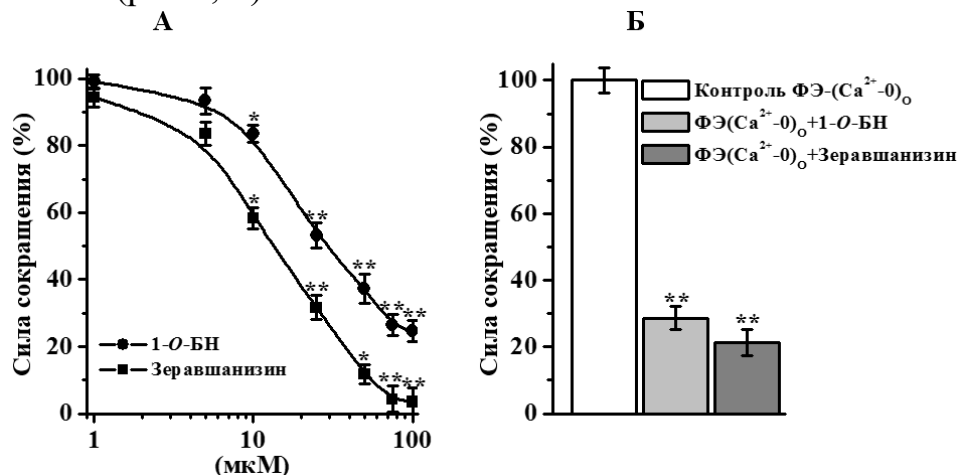
*Влияние дитерпеноидных алкалоидов на сократительную активность препаратов аорты крысы, в условиях фенилэфриновой контрактуры.*

Важную роль в регуляции  $\text{Ca}^{2+}$  гомеостаза в ГМК, наряду с потенциал-зависимыми  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ -каналами, также играют рецептор-управляемые  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы ( $\text{Ca}^{2+}_{\text{R}}$ ), которые активируются при стимуляции  $\alpha$ -адренорецепторов (McFadzean, Gibson, 2002; Jackson, 2000). В связи с этим для оценки влияния исследуемых алкалоидов на  $\text{Ca}^{2+}_{\text{R}}$ -каналы, были изучены их эффекты на сокращения препаратов аорты, индуцируемые агонистом  $\alpha$ -адренорецепторов –ФЭ. В этих экспериментах было обнаружено, что исследуемые алкалоиды и в этих экспериментальных условиях существенно подавляют ФЭ - индуцированные сокращения препаратов аорты. При этом было установлено, что внесение в среду инкубации 100 мкМ алкалоидов 1-О-БН и зеравшанизина, приводит к уменьшению силы ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты на 75,4±3,1% и 96,5±4,1%, соответственно (рис.2, А). В этих условиях значения  $IC_{50}$  для 1-О-БН и зеравшанизина составляли 34,7 мкМ ( $pD=4,4596$ ) и 21,3 мкМ ( $pD_2=4,6716$ ), соответственно. В аналогичных экспериментальных условиях в присутствии алкалоида зонгорина сила ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшалась на 12,8±2,8%.

Результаты этих экспериментов указывают на то, что в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых дитерпеноидных алкалоидов могут участвовать и  $\text{Ca}^{2+}_{\text{R}}$ -каналы, которые вносят важный вклад в развитие сокращения гладкой мышцы.

Таким образом, результаты этой серии экспериментов, свидетельствуют о том, что исследуемые дитерпеноидные алкалоиды обладают выраженным вазорелаксантным действием в основе которого может лежать блокада  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ - и  $\text{Ca}^{2+}_{\text{R}}$ -каналов, сопровождаемая уменьшением уровня  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  в ГМК и расслаблением гладкой мускулатуры. Однако важную роль в обеспечении ФЭ-индуцированных сокращений гладкой мускулатуры играют  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортирующие системы СР, такие как инозитол 1,4,5-трифосфатный рецептор ( $\text{IP}_3\text{R}$ ) и  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза (SERCA 2) (Wier et al., 1992). В связи с этим для проверки влияния исследуемых алкалоидов на  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортирующие системы СР были изучены их эффекты на сокращения препаратов аорты, индуцируемые ФЭ, в безкальциевых растворах Кребса, которые в основном обеспечиваются ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , высвобождаемыми из СР через  $\text{IP}_3\text{R}$  (Тукоски et al., 2013). В этих экспериментах было обнаружено, что в присутствии 100 мкМ 1-О-БН и зеравшанизина, сила ФЭ-индуцированных сокращений

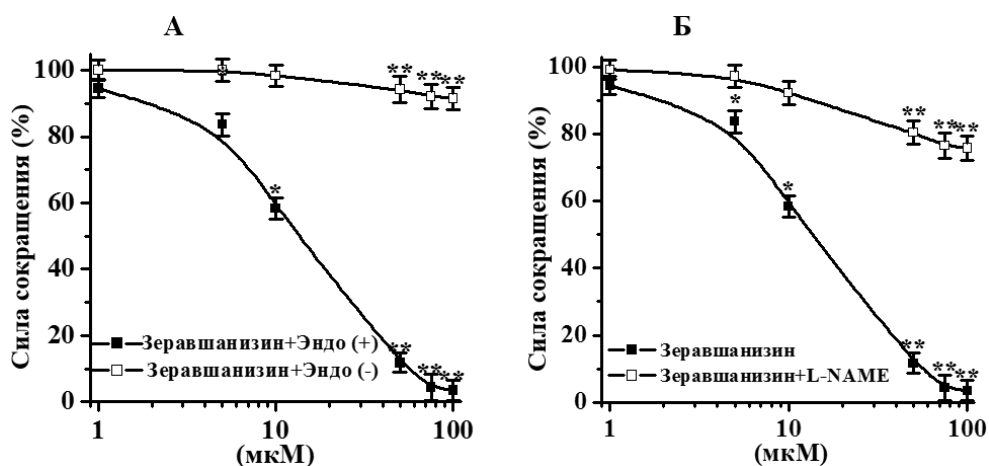
препаратов аорты, уменьшалась на  $71,3 \pm 3,5\%$  и  $78,6 \pm 3,9\%$  от контроля, соответственно (рис.2, Б).



**Рис.2.** Влияние дитерпеноидных алкалоидов 1-О-БН и зеравшанизина на силу сокращения препаратов аорты крыс, индуцированную фенилэфрином, в нормальных (А) и в безкальциевых (Б) растворах Кребса. По оси ординат сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 1 мкМ ФЭ и принятой за 100%. По оси абсцисс концентрация алкалоидов. (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 5-6$ ).

Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что исследуемые дитерпеноидные алкалоиды существенно подавляют силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты инкубируемых в растворах Кребса не содержащих ионы  $Ca^{2+}$ . Учитывая то, что в этих экспериментальных условиях ФЭ-индуцированные сокращения, обеспечиваются в основном благодаря высвобождению ионов  $Ca^{2+}$  из СР, эти данные могут указывать на то, что вазорелаксантный эффект, исследуемых дитерпеноидных алкалоидов, также может быть связан с их влиянием на высвобождение ионов  $Ca^{2+}$  из СР через  $IP_3R$ .

*Оценка роли эндотелия в вазорелаксантном действии дитерпеноидных алкалоидов.* Эндотелий кровеносных сосудов играет важную роль в модуляции сократительной активности ГМК и поддержании тонуса кровеносных сосудов (Baretella, Vanhoutte, 2016). Эти функции эндотелия обеспечиваются благодаря продуцируемому им вазоактивных факторов, среди которых ведущую роль играет оксид азота (NO), основной медиатор процесса расслабления гладкой мускулатуры (Baretella, Vanhoutte, 2016; Kang, 2014). В связи с этим для проверки участия эндотелия в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых дитерпеноидных алкалоидов, были изучены их эффекты на препаратах аорты без эндотелия, который удаляли механически с помощью ватного тампона. В этих экспериментах было обнаружено, что удаление эндотелия существенно сказывается на вазорелаксантную активность алкалоида зеравшанизина. При этом на препаратах аорты с удаленным эндотелием эффекты алкалоида зеравшанизина на силу ФЭ-индуцированных сокращений уменьшались на  $88 \pm 3,4\%$  от контроля, полученного на препаратах с интактным эндотелием (рис.3, А).



**Рис.3.** Влияние удаления эндотелия (А) и L-NAME (Б) на вазорелаксантное действие алкалоида зеравшанизина на препаратах аорты крысы, в условиях ФЭ-индуцированной контрактуры. По оси ординат сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 1 мкМ фенилэфрином и принятой за 100%. По оси абсцисс концентрация алкалоида (мкМ). (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 6$ ).

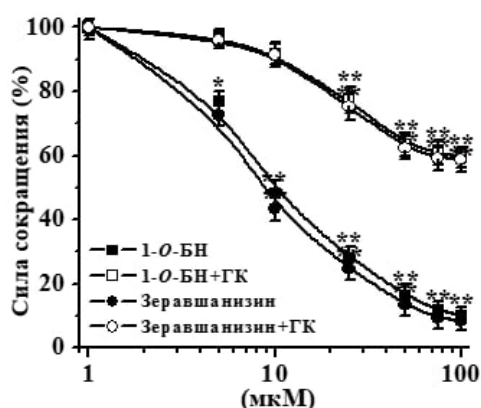
В отличие от зеравшанизина удаление эндотелия существенно не сказывалось на эффект алкалоида 1-О-БН.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что эндотелий, и возможно NO, играют важную роль в обеспечении вазорелаксантного действия дитерпеноидного алкалоида зеравшанизина. Для подтверждения участия NO в обеспечении вазорелаксантного действия дитерпеноидного алкалоида зеравшанизина было изучено влияние на его эффекты ингибитора NO-синтазы – L-NAME. В этих экспериментах предварительная инкубация интактных препаратов аорты с L-NAME также приводила к заметному подавлению вазорелаксантного эффекта алкалоида зеравшанизина. При этом было установлено, что в присутствии 100 мкМ L-NAME эффекты алкалоида зеравшанизина (100 мкМ) на силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшаются на  $72,2 \pm 3,2\%$ , от контроля, полученного в отсутствии L-NAME (рис.3, Б). Результаты этих экспериментов могут быть свидетельством участия NO в обеспечении вазорелаксантного действия дитерпеноидного алкалоида зеравшанизина. Дополнительным подтверждением этого предположения являются результаты экспериментов с ингибитором гуанилатциклазы - метиленовым синим. В ходе данных экспериментов было обнаружено, что предварительная инкубация препаратов аорты с метиленовым синим приводит к снижению вазорелаксантного эффекта исследуемого алкалоида зеравшанизина почти в той же степени, как и в присутствии L-NAME.

Таким образом, результаты этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что исследуемый алкалоид зеравшанизин обладает выраженным вазорелаксантным действием, имеющим эндотелий-зависимый характер. При этом существенное снижение вазорелаксантного эффекта этого алкалоида при удалении эндотелия и в присутствии L-NAME свидетельствует о важной роли NO-синтазы в его обеспечении. На основании полученных данных можно заключить, что вазорелаксантный эффект алкалоида зеравшанизина

связан с активацией NO-синтазы и sGC/cGMP/PKG сигнального пути. Активируя NO/sGC/cGMP/PKG сигнальный путь, этот алкалоид может способствовать инактивации  $Ca^{2+}_L$  и  $Ca^{2+}_R$  – каналов плазмалеммы и  $IP_3R$  CP, что приведет к снижению уровня  $[Ca^{2+}]_i$  в ГМК и расслаблению гладкой мускулатуры.

*Изучение роли  $K^+$ -каналов в вазорелаксантном действии дитерпеноидных алкалоидов.* Важную роль в регуляции активности  $Ca^{2+}$ -транспортирующих систем ГМК и особенно  $Ca^{2+}_L$ -каналов, играют калиевые каналы, которые участвуют в модуляции и контроле мембранного потенциала ГМК (Brayden, Murphy, 1996). В связи с этим для оценки вклада калиевых каналов в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых дитерпеноидных алкалоидов было изучено влияние на их эффекты блокаторов различных типов калиевых каналов. В этих исследованиях были использованы специфические блокаторы  $K_{ATP}$ -каналов – глибенкламид,  $K_{Ca}$ -каналов – тетраэтиламмоний (ТЭА),  $K_V$ -каналов – 4-аминопиридин (4-АП) и  $K_{IR}$ -каналов –  $BaCl_2$ . В этих экспериментах было обнаружено, что при предварительной обработке препаратов аорты этими блокаторами только глибенкламид существенно влиял на вазорелаксантную активность исследуемых дитерпеноидных алкалоидов. При этом было установлено, что в присутствии 50 мкМ глибенкламида эффекты алкалоидов 1-О-БН и зеравшанизина на силу КС1-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшаются на  $49,3 \pm 2,5\%$  и  $50,5 \pm 3,1\%$ , соответственно от контроля, полученного в отсутствие глибенкламида (рис.4.). В аналогичных экспериментах с 4-АП (1 мМ), эффекты алкалоидов 1-О-БН и зеравшанизина на силу КС1-индуцированного сокращения препаратов аорты уменьшались на  $22,10 \pm 2,5\%$  и  $27,1 \pm 3,4\%$ , соответственно, от контроля, полученного в отсутствие блокатора. Вместе с тем эксперименты с ТЭА и  $BaCl_2$  показали, что эти блокаторы  $K_{Ca}$ - и  $K_{IR}$ -каналов, существенно не влияют на вазорелаксантную активность алкалоидов 1-О-БН и зеравшанизина.

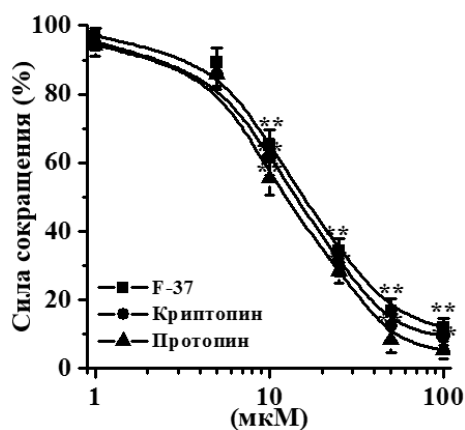


**Рис.4.** Влияние блокатора  $K_{ATP}$ -каналов глибенкламида (ГК) на вазорелаксантную активность алкалоидов 1-О-БН и зеравшанизина в условиях КС1-индуцированной контрактуры препаратов аорты крысы. По оси ординат сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 20 mM КС1, и принятой за 100%. По оси абсцисс – концентрация алкалоидов (мкМ). (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 6$ ).

Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что важную роль в обеспечении вазорелаксантного эффекта исследуемых дитерпеноидных алкалоидов могут играть  $K_{ATP}$ -каналы ГМК. Этот эффект алкалоидов может быть обусловлен активацией этих каналов, способствующей гиперполяризации мембраны ГМК и инактивации  $Ca^{2+}_L$ -каналов,

сопровождается снижением поступления ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в ГМК, уменьшением уровня  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  и расслаблением гладкой мускулатуры.

*Влияние изохинолиновых алкалоидов F-37, криптопина и протопина на сократительную активность препаратов аорты крысы в условиях гиперкалиевой контрактуры.* При изучении эффектов изохинолиновых алкалоидов F-37, криптопина и протопина было обнаружено, что они эффективно расслабляют препараты аорты крысы, предсокращенные гиперкалиевым раствором (50 мМ KCl). Этот эффект алкалоидов F-37, криптопина и протопина имел доза-зависимый характер и при их концентрации 100 мкМ сила KCl-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшалась на  $91,1 \pm 2,6\%$ ,  $93,5 \pm 3,2\%$  и  $94,6 \pm 2,5\%$ , соответственно (рис. 5).



**Рис.5.** Влияние изохинолиновых алкалоидов F-37, криптопина и протопина на силу сокращения препаратов аорты крысы, индуцированную KCl. По оси ординат сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 50 мМ KCl и принятой за 100%. По оси абсцисс — концентрация алкалоидов (\*\* $p < 0,01$ ;  $n = 5$ ).

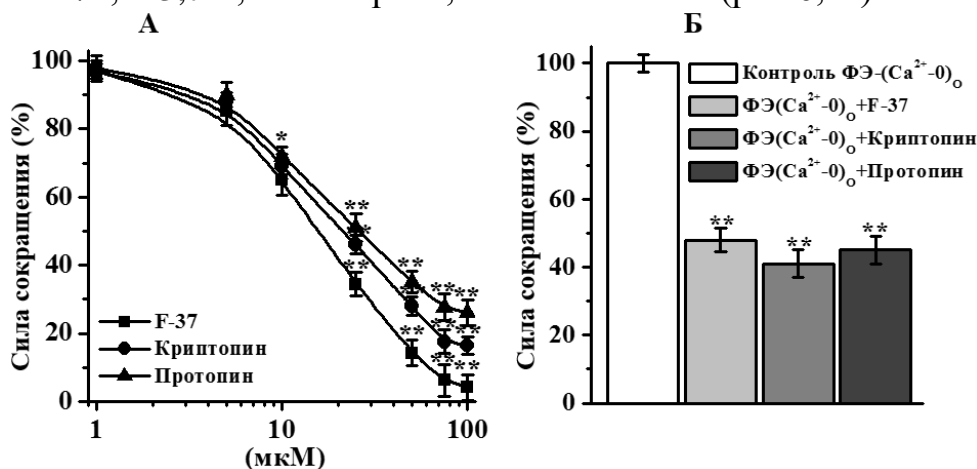
В этих условиях значения  $IC_{50}$  для F-37, криптопина и протопина составляли 15,8 мкМ ( $pD_2 = 4,8124$ ), 12,8 мкМ ( $pD_2 = 4,8961$ ) и 11,5 мкМ ( $pD_2 = 4,9393$ ), соответственно. В связи с тем, что сокращения препаратов аорты, индуцируемые гиперкалиевыми растворами, в основном обеспечиваются ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , поступающими в ГМК через  $\text{Ca}^{2+}_L$ -каналы, эти результаты могут указывать на то, что эти эффекты исследуемых изохинолиновых алкалоидов связаны с их влиянием на эти каналы. Об участии  $\text{Ca}^{2+}_L$ -каналов в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых изохинолиновых алкалоидов может также свидетельствовать зависимость их эффектов от наличия ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в среде инкубации, которое заметно снижалось при уменьшении их концентрации в последней.

Дополнительным подтверждением важной роли  $\text{Ca}^{2+}_L$ -каналов в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых изохинолиновых алкалоидов являются результаты экспериментов с блокатором этих каналов верапамилем. В этих экспериментах было обнаружено, что предварительная инкубация препаратов аорты с верапамилем сопровождается существенным снижением вазорелаксантного эффекта исследуемых изохинолиновых алкалоидов. Результаты этих экспериментов являются дополнительным свидетельством участия  $\text{Ca}^{2+}_L$ -каналов ГМК в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых изохинолиновых алкалоидов.

Таким образом, результаты этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что алкалоиды F-37, криптопин и протопин обладают выраженным вазорелаксантным действием, в основе которого может лежать блокада  $\text{Ca}^{2+}_L$

каналов, сопровождаемая подавлением поступления ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в ГМК, уменьшением в них уровня  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  и расслаблением гладкой мускулатуры.

*Влияние изохинолиновых алкалоидов F-37, криптопина и протопина на сократительную активность препаратов аорты крысы в условиях фенилэфриновой контрактуры.* Как уже было отмечено выше, важную роль в обеспечении и регуляции  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостаза ГМК и сократительной активности гладкой мускулатуры, наряду с  $\text{Ca}^{2+}_L$ -каналами, также играют  $\text{Ca}^{2+}_R$ -каналы (McFadzean, Gibson, 2002; Jackson, 2000). Активация  $\text{Ca}^{2+}_R$ -каналов при стимуляции  $\alpha_1$ -адренорецепторов обеспечивает поступление ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазму ГМК и увеличение уровня  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ , которое запускает процесс сокращения гладкой мышцы. В связи с этим для оценки роли  $\text{Ca}^{2+}_R$ -каналов в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых изохинолиновых алкалоидов были изучены их эффекты на сокращения препаратов аорты, индуцируемые ФЭ. В этих экспериментах было обнаружено, что внесение в среду инкубации исследуемых изохинолиновых алкалоидов сопровождается существенным подавлением силы ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты. При этом было установлено, что этот эффект алкалоидов F-37, криптопина и протопина имеет дозозависимый характер и при их концентрации 100 мкМ сила ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшается на  $95,9 \pm 3,8\%$ ,  $83,6 \pm 2,6\%$  и  $74,1 \pm 3,7\%$ , от контроля, соответственно (рис.6, А).



**Рис.6.** Влияние изохинолиновых алкалоидов F-37, криптопина и протопина на силу сокращения препаратов аорты крыс, индуцированную фенилэфрином в нормальных (А) и в без кальциевых (Б) растворах Кребса. По оси ординат сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 1 мкМ ФЭ и принятой за 100%. По оси абсцисс-концентрация алкалоидов (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ ;  $n = 6$ ).

В этих условиях значение  $IC_{50}$  для алкалоидов F-37, криптопина и протопина составляли 15,7 мкМ ( $pD_2 = 4,8041$ ), 20,9 мкМ ( $pD_2 = 4,6798$ ) и 26,4 мкМ ( $pD_2 = 4,5783$ ), соответственно. Результаты этих экспериментов могут свидетельствовать о том, что исследуемые изохинолиновые алкалоиды эффективно подавляют сокращения препаратов аорты, индуцированные ФЭ, которые в этих условиях в основном обеспечиваются ионами  $\text{Ca}^{2+}$  поступающими в ГМК через  $\text{Ca}^{2+}_R$ -каналы плазмалеммы.

Однако в сокращениях препаратов аорты, индуцируемых ФЭ в безкальциевых растворах, также участвуют ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , высвобождаемые из СР через  $\text{IP}_3\text{R}$ . В связи с этим для проверки влияния исследуемых изохинолиновых алкалоидов на высвобождение ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из СР были изучены их эффекты в условиях отсутствия в среде инкубации ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , которые в основном обеспечиваются ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , высвобождаемыми из СР через  $\text{IP}_3\text{R}$  (Laporte et al., 2004). В этих экспериментах было обнаружено, что исследуемые изохинолиновые алкалоиды и в этих условиях существенно подавляют силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты. При этом было установлено, что в присутствии 100 мкМ алкалоидов F-37, криптопина и протопина сила ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты, уменьшается на  $52,1 \pm 3,6\%$ ,  $58,9 \pm 3,1\%$  и  $54,8 \pm 4,1\%$  от контроля, соответственно (рис.6, Б).

Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что исследуемые изохинолиновые алкалоиды существенно подавляют силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты инкубируемых в растворах Кребса, не содержащих ионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Учитывая то, что в условиях отсутствия в среде инкубации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  ФЭ-индуцированные сокращения обеспечиваются в основном благодаря высвобождению ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из СР, и эти результаты могут свидетельствовать о том, что исследуемые алкалоиды могут влиять на высвобождение ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из СР через  $\text{IP}_3\text{R}$ .

Таким образом, результаты полученные в этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что алкалоиды F-37, криптопин и протопин обладают выраженным вазорелаксантным действием в обеспечении, которого важную роль может играть подавление ими поступления ионов  $\text{Ca}^{2+}$  через  $\text{Ca}^{2+}_R$ -каналы и их высвобождения из СР через  $\text{IP}_3\text{R}$ .

*Оценка роли эндотелия в вазорелаксантном действии изохинолиновых алкалоидов.* Важная роль эндотелия в модуляции активности  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортирующих систем и сократительного аппарата ГМК уже была показана выше (Baretella, Vanhoutte, 2016). В связи с этим для проверки участия эндотелия в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых изохинолиновых алкалоидов были изучены их эффекты на препаратах аорты с удаленным эндотелием. В этих экспериментах было обнаружено, что удаление эндотелия существенно не влияет на вазорелаксантный эффект исследуемых алкалоидов, что свидетельствует о том, что он не связан с их влиянием на функцию эндотелия.

*Изучение роли  $\text{K}^+$ -каналов в вазорелаксантном действии изохинолиновых алкалоидов.* Как уже было отмечено выше, калиевые каналы, контролируя мембранный потенциал ГМК, играют важную роль в регуляции активности  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортирующих систем и особенно  $\text{Ca}^{2+}_L$ -каналов (Brayden, Murphy, 1996). В связи с этим для оценки роли  $\text{K}^+$ -каналов в вазорелаксантном действии изохинолиновых алкалоидов было изучено влияние на их эффекты блокаторов различных  $\text{K}^+$ -каналов. В этих экспериментах было обнаружено, что только блокаторы  $\text{K}_{\text{ATP}}$ - и  $\text{K}_{\text{Ca}}$ -каналов существенно влияют на вазорелаксантную активность исследуемых



изохинолиновых алкалоидов. При этом было установлено, что в присутствии 50 мкМ глибенкламида эффекты алкалоидов F-37 (100 мкМ), криптопина (100 мкМ) и протопина (100 мкМ) на силу KCl-индуцированного сокращения препаратов аорты уменьшаются на  $38,1 \pm 3,5\%$ ,  $33,3 \pm 3,4\%$ , и  $37,7 \pm 3,4\%$ , соответственно, от контроля полученного в отсутствие блокатора (рис.7).

В аналогичных экспериментах с ТЭА (1 мМ), эффекты алкалоидов F-37 (100 мкМ), криптопина (100 мкМ) и протопина (100 мкМ) на силу KCl-индуцированного сокращения препаратов аорты уменьшались на  $21,2 \pm 3,9$ ,  $18,2 \pm 3,3$  и  $22,5 \pm 3,8\%$ , соответственно, от контроля полученного в отсутствие блокатора.

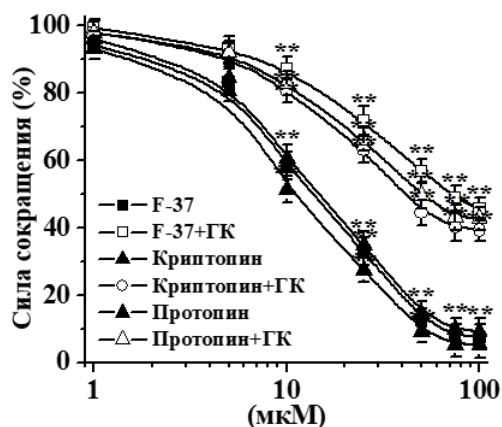


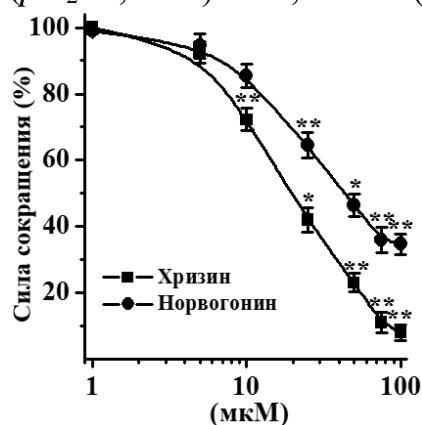
Рис.7. Влияние блокатора  $K_{ATP}$ -каналов глибенкламида (ГК) на вазорелаксантную активность алкалоидов F-37, криптопина и протопина в условиях KCl-индуцированной контрактуры препаратов аорты крысы. По оси ординат сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 20 mM KCl, и принятой за 100%. По оси абсцисс — концентрация алкалоидов (мкМ). (\*\* $p < 0,01$ ;  $n = 6$ ).

Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что  $K_{ATP}$ - и  $K_{Ca}$ -каналы ГМК играют важную роль в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых алкалоидов. При этом, взаимодействуя с  $K_{ATP}$ - и  $K_{Ca}$ -каналами, исследуемые алкалоиды могут активировать их, и тем самым способствовать гиперполяризации мембраны ГМК, сопровождаемой инактивацией  $Ca^{2+}_L$ -каналов, снижением уровня  $[Ca^{2+}]_i$ , и расслаблением гладкой мускулатуры.

В целом результаты полученные в этой серии экспериментов, свидетельствуют о том, что изохинолиновые алкалоиды F-37, криптопин и протопин обладают выраженным вазорелаксантным действием, которое имеет эндотелий-независимый характер. Анализ полученных данных позволяет заключить, что важную роль в обеспечении вазорелаксантного действия исследованных изохинолиновых алкалоидов играет блокада  $Ca^{2+}_L$  и  $Ca^{2+}_R$ -каналов плазмалеммы, а также  $IP_3R$  CP. В результате такой блокады может подавляться поступление ионов  $Ca^{2+}$  через  $Ca^{2+}_L$  и  $Ca^{2+}_R$ -каналы плазмалеммы, а также их высвобождение из CP, что будет приводить к уменьшению уровня  $[Ca^{2+}]_i$  в ГМК и расслаблению гладкой мускулатуры. Вместе с тем существенное снижение вазорелаксантного эффекта исследованных алкалоидов в присутствии блокаторов  $K_{ATP}$ - и  $K_{Ca}$ -каналов глибенкламида и ТЭА, свидетельствует об участии этих каналов в его обеспечении.

В четвертой главе диссертации «Характеристика особенностей вазорелаксантного действия некоторых флавоноидов» представлены результаты исследования эффектов флавоноидов хризина и норвогонина на сократительную активность препаратов аорты крысы.

Влияние флавоноидов хризина и норвогонина на сократительную активность препаратов аорты крысы в условиях гиперкалиевой контрактуры. В предварительных экспериментах было обнаружено, что флавоноиды хризин и норвогонин обладают вазорелаксантным действием и эффективно расслабляют сокращения препаратов аорты, в условиях KCl-индуцированной контрактуры. При этом было установлено, что эти эффекты хризина и норвогонина имеют доза-зависимый характер и при концентрации 100 мкМ они уменьшают силу KCl-индуцированного сокращения препаратов аорты на  $92,1 \pm 2,3\%$  и  $65,3 \pm 3,1\%$ , от контроля, соответственно (рис. 8). В этих условиях значения  $IC_{50}$  для хризина и норвогонина составляли 19,7 мкМ ( $pD_2=4,7055$ ) и 30,1 мкМ ( $pD_2=4,5214$ ), соответственно.



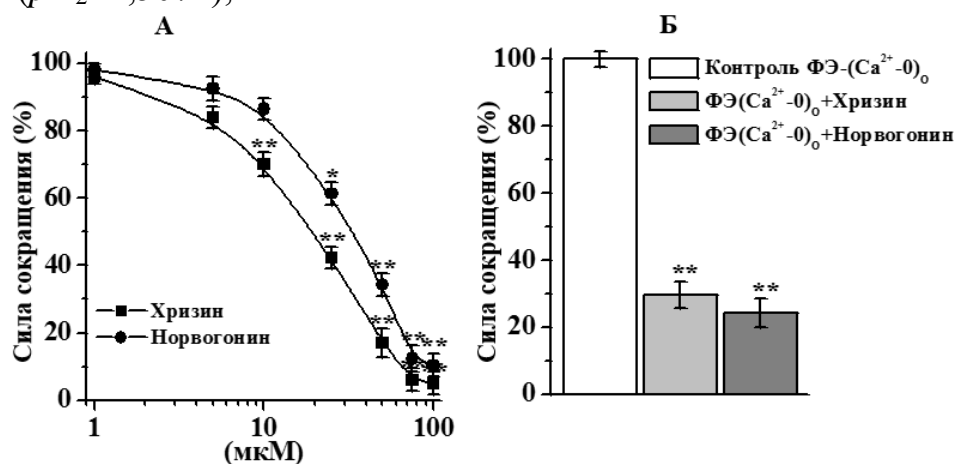
**Рис.8.** Влияние флавоноидов хризина и норвогонина на силу сокращения препаратов аорты крысы, индуцированную KCl. По оси ординат — сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы сокращения индуцированной 50 мМ KCl и принятой за 100%. По оси абсцисс — концентрация флавоноидов (мкМ). (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n=5$ ).

Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что исследуемые флавоноиды эффективно расслабляют препараты аорты, предварительно сокращенные гиперкалиевым раствором, что указывает на их влияние на  $Ca^{2+}_L$ -каналы ГМК. Участие  $Ca^{2+}_L$ -каналов в обеспечении вазорелаксантного действия исследуемых флавоноидов также подтверждается его зависимость от наличия ионов  $Ca^{2+}$  в среде инкубации. Дополнительным подтверждением важной роли  $Ca^{2+}_L$ -каналов в обеспечении вазорелаксантного действия этих флавоноидов являются результаты экспериментов с блокатором этих каналов верапамилом.

В этих экспериментах было обнаружено, что предварительная инкубация препаратов аорты с верапамилом сопровождается существенным снижением вазорелаксантного эффекта исследуемых флавоноидов. При этом было установлено, что на фоне 0,1 мкМ верапамила, концентрации соответствующей его  $IC_{50}$ , хризин и норвогонин дополнительно подавляли силу KCl-индуцированных сокращений препаратов аорты на  $15,1 \pm 3,7\%$  и  $16,4 \pm 3,4\%$ , соответственно. Эти результаты свидетельствуют о том, что в условиях блокады  $Ca^{2+}_L$ -каналов верапамилом, вазореаксантный эффект этих флавоноидов заметно снижается, что является свидетельством их влияния на поступление ионов  $Ca^{2+}$  через эти каналы. Вместе с тем частичное сохранение вазорелаксантного эффекта, исследуемых флавоноидов, в условиях блокады  $Ca^{2+}_L$ -каналов верапамилом, указывает об их влиянии и на другие пути поступления ионов  $Ca^{2+}$  в ГМК.

Влияние флавоноидов хризина и норвогонина на сократительную активность препаратов аорты крысы, в условиях фенилэфриновой контрактуры. В этих исследованиях было обнаружено, что исследуемые

флавоноиды и в этих экспериментальных условиях проявляют выраженную вазорелаксантную активность. При этом было установлено, что исследуемые флавоноиды эффективно и доза-зависимо подавляют силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты. В этих экспериментах добавление 100 мкМ хризина и норвогонина в среду инкубации приводило к уменьшению силы ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты на  $94,7 \pm 3,7\%$  и  $89,6 \pm 3,5\%$ , от контроля, соответственно (рис. 9, А). При этом значения  $IC_{50}$  для хризина и норвогонина составляли 16,8 мкМ ( $pD_2=4,7746$ ) и 31,1 мкМ ( $pD_2=4,5072$ ), соответственно.



**Рис.9.** Влияние флавоноидов хризина и норвогонина на силу сокращения препаратов аорты крыс, индуцированную фенилэфрином в нормальных (А) и в безкальциевых (Б) растворах Кребса. По оси ординат сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 1 мкМ ФЭ и принятой за 100%. По оси абсцисс концентрация флавоноидов. (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ;  $n=6$ ).

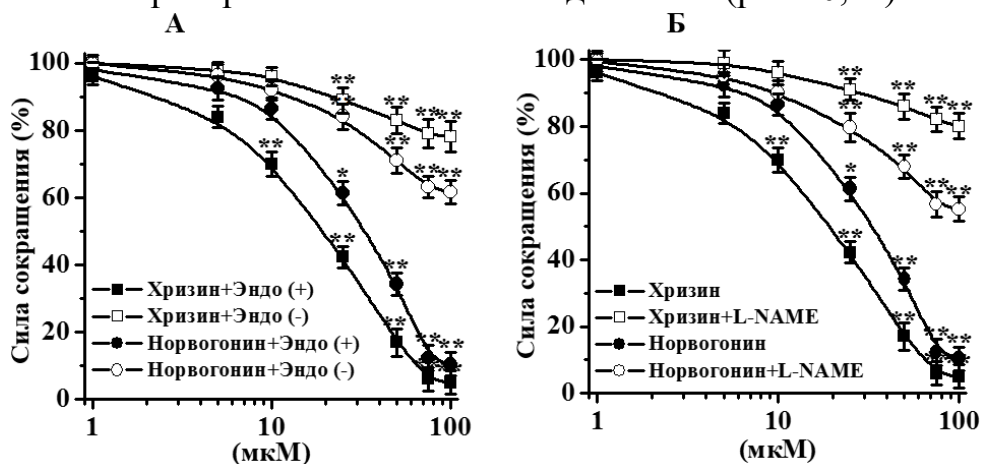
Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что исследуемые флавоноиды эффективно подавляют силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты, которые в основном обеспечиваются ионами  $Ca^{2+}$  поступающими в ГМК через  $Ca^{2+}_R$ -каналы плазмалеммы. Эти результаты указывают на то, что в обеспечении вазорелаксантных эффектов, исследуемых флавоноидов, наряду с  $Ca^{2+}_L$ -каналами, также могут участвовать и  $Ca^{2+}_R$ -каналы плазмалеммы ГМК. Однако в сокращениях препаратов аорты, индуцируемых ФЭ, также участвуют ионы  $Ca^{2+}$  высвобождаемые из СР через  $IP_3R$ . В связи с этим для проверки влияния исследуемых флавоноидов на высвобождение ионов  $Ca^{2+}$  из СР были изучены их эффекты на силу сокращения препаратов аорты, индуцируемую ФЭ, в условиях отсутствия ионов  $Ca^{2+}$  в среде инкубации. При этом было обнаружено, что и в этих экспериментальных условиях флавоноиды хризин (100 мкМ) и новогонин (100 мкМ), уменьшают силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты на  $70,4 \pm 3,9\%$  и  $75,8 \pm 4,2\%$ , от контроля, соответственно (рис.9, Б).

Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что флавоноиды хризин и норвогонин эффективно подавляют сокращения препаратов аорты, индуцируемые ФЭ в растворах Кребса, не содержащих ионы  $Ca^{2+}$ . Учитывая то, что сокращения препаратов аорты, индуцируемые ФЭ в этих условиях,

обеспечиваются в основном ионами  $\text{Ca}^{2+}$  высвобождаемыми из CP через  $\text{IP}_3\text{R}$ , эти результаты могут свидетельствовать о влиянии хризина и норвогонина на активность  $\text{IP}_3\text{R}$  CP.

В целом результаты, полученные в этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что в основе вазорелаксантного действия хризина и норвогонина лежит комплексный механизм, включающий подавление поступления ионов  $\text{Ca}^{2+}$  через  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ - и  $\text{Ca}^{2+}_{\text{R}}$ -каналы плазмалеммы, а также ингибирование их высвобождения из CP через  $\text{IP}_3\text{R}$ .

*Оценка роли эндотелия в вазорелаксантном действии флавоноидов хризина и норвогонина.* В этих экспериментах было обнаружено, что удаление эндотелия на препаратах аорты крысы, приводит к существенному снижению вазорелаксантного эффекта хризина и норвогонина. При этом было установлено, что при удалении эндотелия, эффекты хризина (100 мкМ) и норвогонина (100 мкМ) на силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшаются на  $73 \pm 4,5\%$  и  $51,3 \pm 3,4\%$ , соответственно, от контроля, полученного на препаратах с интактным эндотелием (рис.10, А).



**Рис.10.** Влияние удаления эндотелия (А) и L-NAME (Б) на вазорелаксантное действие флавоноидов хризина и норвогонина в условиях ФЭ-индуцированной контрактуры препаратов аорты крысы. По оси ординат сила сокращения препарата аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 1 мкМ фенилэфрином и принятой за 100%. По оси абсцисс концентрация флавоноидов. (\* $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ;  $n = 6$ ).

Наблюдаемое снижение эффектов флавоноидов хризина и норвогонина, на силу ФЭ-индуцированного сокращения на препаратах аорты с удаленным эндотелием, является убедительным свидетельством важной роли эндотелия в обеспечении их вазорелаксантного действия. Как уже отмечалось выше, эндотелий продуцирует ряд вазоактивных факторов, среди которых ведущую роль в регуляции тонуса кровеносных сосудов и в обеспечении процесса расслабления гладкой мускулатуры играет NO. В связи с этим были изучены эффекты исследуемых флавоноидов в присутствии ингибитора NO-синтазы – L-NAME.

Как показали результаты этих экспериментов, предварительная инкубация интактных препаратов аорты с 100 мкМ L-NAME приводит к существенному подавлению вазорелаксантных эффектов исследуемых флавоноидов. При этом было установлено, что в присутствии 100 мкМ L-

NAME эффекты хризина (100 мкМ) и новогонина (100 мкМ) на силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшаются на  $74,8 \pm 3,8\%$  и  $44,8 \pm 3,6\%$ , соответственно (рис.10, Б).

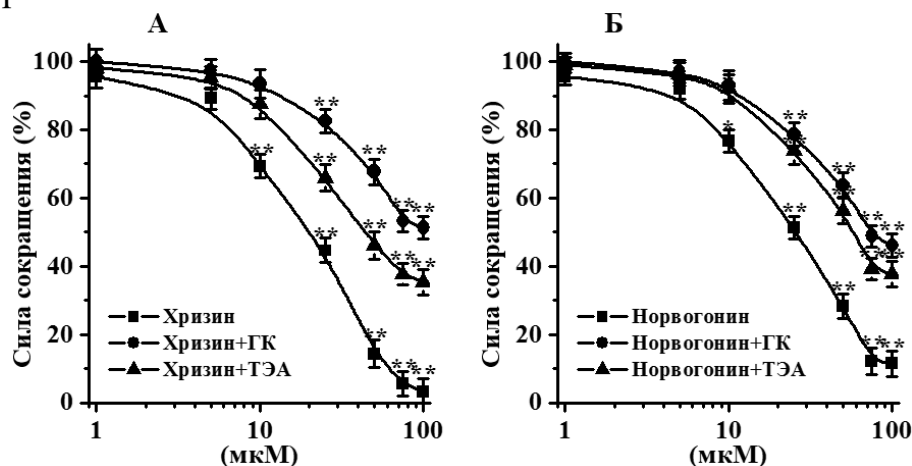
Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что предварительная инкубация препаратов аорты с ингибитором NO-синтазы – L-NAME сопровождается существенным снижением вазорелаксантажной активности исследуемых флавоноидов. Этот факт является убедительным свидетельством того, что вазорелаксантажный эффект флавоноидов хризина и новогонина имеет эндотелий – зависимый характер и, возможно, обеспечивается через их влияние на NO/sGC/cGMP/PKG сигнальный путь.

Дополнительным подтверждением участия NO/sGC/cGMP/PKG сигнального пути в обеспечении вазорелаксантажного действия исследуемых флавоноидов могут служить результаты экспериментов с метиленовым синим, ингибитором гуанилатциклазы, в присутствии которого их эффекты существенно снижались. При этом эффект метиленового синего на силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты, существенно не отличался от такового L-NAME.

Таким образом, результаты, полученные в этой серии экспериментов, убедительно свидетельствуют о том, что флавоноиды хризина и новогонин обладают выраженным эндотелий – зависимым вазорелаксантажным действием. При этом существенное подавление вазорелаксантажного эффекта флавоноидов в условиях ингибирования NO- синтазы и гуанилатциклазы, является свидетельством их влияния на NO/sGC/cGMP/PKG сигнальный путь ГМК. Активируя NO/sGC/cGMP/PKG сигнальный путь эти флавоноиды могут способствовать подавлению поступления ионов  $Ca^{2+}$  через  $Ca^{2+}_L$  и  $Ca^{2+}_R$  – каналы плазмалеммы, а также ингибированию их высвобождения из СР, что будет приводить к снижению уровня  $[Ca^{2+}]_i$  в ГМК и расслаблению гладкой мускулатуры.

*Изучение роли  $K^+$ -каналов в вазорелаксантажном действии флавоноидов хризина и новогонина.* Как показали результаты этих исследований, из всех использованных блокаторов  $K^+$ -каналов только блокаторы  $K^+_{ATФ}$  - и  $K^+_{Ca}$ -каналов глибенкламид и ТЭА существенно влияют на вазорелаксантажную активность исследуемых флавоноидов. При этом было установлено, что в присутствии 50 мкМ глибенкламида и 10 мМ ТЭА, эффект хризина (100 мкМ) на силу КСl-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшается на  $48,1 \pm 3,4\%$  и  $32,2 \pm 3,7\%$ , от контроля, соответственно (рис.11, А). В аналогичных экспериментальных условиях, в присутствии 50 мкМ глибенкламида и 10 мМ ТЭА, эффект новогонина (100 мкМ) на силу КСl-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшался на  $34,6 \pm 4,3\%$  и  $26,3 \pm 3,7\%$ , от контроля, соответственно (рис.11, Б). Эти результаты свидетельствуют о том, что в обеспечении вазорелаксантажного действия флавоноидов хризина и новогонина также участвуют  $K^+_{ATФ}$ - и  $K^+_{Ca}$ -каналы ГМК. При этом активируя эти каналы флавоноиды могут вызывать гиперполяризацию мембран ГМК, сопровождаемую инактивацией  $Ca^{2+}_L$ -

каналов, уменьшением уровня  $[Ca^{2+}]_i$  в ГМК и расслаблением гладкой мускулатуры.



**Рис.11.** Влияние блокаторов  $K^{+}_{ATP}$ -каналов глибенкламида (ГК) и  $K^{+}_{Ca}$ -каналов тетраэтиламмония (ТЭА) на вазорелаксантную активность флавоноидов хризина (А) и норвогонина (Б) в условиях КСІ-индуцированной контрактуры препаратов аорты крысы. По оси ординат сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 20 mM КСІ, и принятой за 100%. По оси абсцисс—концентрация флавоноидов (мкМ). (\*\* $p < 0,01$ ;  $n = 7$ ).

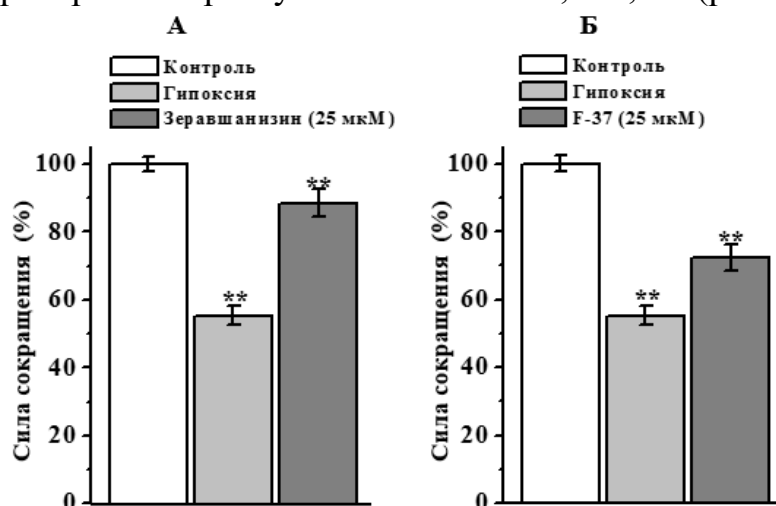
В целом, на основании данных полученных в этой серии экспериментов можно заключить, что флавоноиды хризин и норвогонин обладают выраженным эндотелий – зависимым вазорелаксантным действием, в обеспечении которого принимают участие множественные механизмы.

При этом результаты, полученные в экспериментах в условиях КСІ-индуцированной контрактуры, указывают на то, что вазорелаксантное действие этих флавоноидов может обеспечиваться благодаря блокаде  $Ca^{2+}_L$ -каналов плазмалеммы. Вместе с тем эффекты флавоноидов в условиях ФЭ-индуцированной контрактуры, свидетельствуют о связи их вазорелаксантного действия с блокадой  $Ca^{2+}_R$ -каналов плазмалеммы и  $IP_3R$  СР. Существенное снижение вазорелаксантного действия этих флавоноидов при удалении эндотелия свидетельствует об участии в его обеспечении NO/sGC/cGMP/PKG сигнального пути ГМК. Вместе с тем существенный вклад в обеспечении вазорелаксантного действия этих флавоноидов могут вносить и  $K^{+}_{ATP}$  и  $K^{+}_{Ca}$ -каналы, активируя которые они могут вызывать гиперполяризацию мембраны ГМК, сопровождаемую инактивацией  $Ca^{2+}_L$ -каналов, подавлением поступления ионов  $Ca^{2+}$  в ГМК, уменьшением уровня  $[Ca^{2+}]_i$  в них и расслаблением гладкой мускулатуры.

В пятой главе диссертации «**Оценка вазопротекторного потенциала некоторых алкалоидов и флавоноидов**» представлены результаты исследования вазопротекторного действия исследуемых алкалоидов и флавоноидов в условиях гипоксии.

*Изучение влияния дитерпениодных и изохинолиновых алкалоидов, а также флавоноидов на сократительную активность препаратов аорты крысы в условиях гипоксии. Для оценки вазопротекторных эффектов исследуемых алкалоидов и флавоноидов использовали *in vitro* модель*

гипоксии, которую получали путем инкубации препаратов аорты в растворе Кребса, аэрируемого смесью (95% N<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub>) (Бирулина, 2015). В этих экспериментах перфузия препаратов аорты крысы гипоксическим раствором Кребса в течении 60 мин приводила к существенному снижению силы ФЭ-индуцированных сокращений (рис.12). В этих экспериментах было обнаружено, что предварительная инкубация препаратов аорты с исследуемыми дитерпеноидными алкалоидами сопровождается заметным снижением повреждающего эффекта гипоксии на их сократительную активность. При этом этот эффект был наиболее выражен у зеравшанизина, в присутствии 25 мкМ которого эффект гипоксии на силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшался на 33,1±4,1% (рис.12, А).



**Рис.12.** Влияние алкалоидов зеравшанизина (А) и F-37 (Б) на ФЭ-индуцированные сокращения препаратов аорты крысы в условиях гипоксии. По оси ординат сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 1 мкМ ФЭ и принятой за 100%. (\*\*  $p < 0,01$ ;  $n=6$ ).

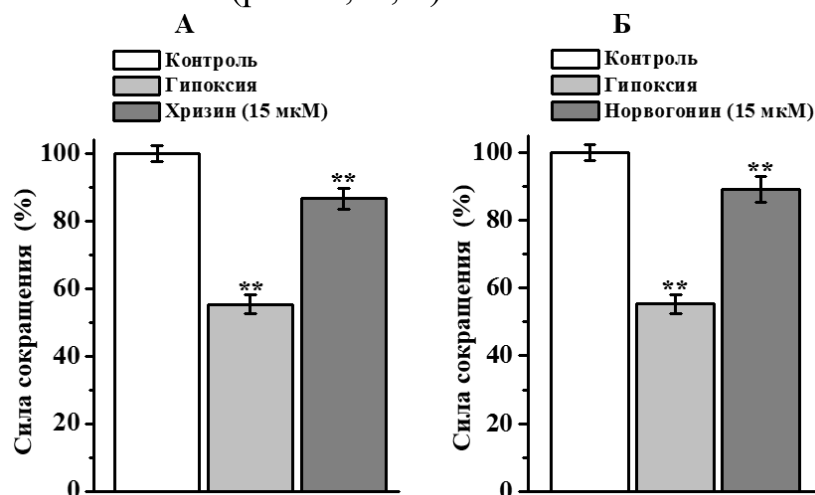
В аналогичных экспериментах с изохинолиновыми алкалоидами более выраженным эффектом обладал F-37, в присутствии 25 мкМ которого эффект гипоксии на силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшался на 16,9±3,8% (рис.12, Б).

Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что алкалоиды зеравшанизин и F-37, которые эффективно предотвращают повреждения сократительной активности препаратов аорты, вызываемые гипоксией, обладают выраженным вазопротекторным действием.

Известно, что повреждения сократительной активности ГМК кровеносных сосудов, вызываемые гипоксией, в основном связаны с нарушением функции Ca<sup>2+</sup><sub>L</sub> - и Ca<sup>2+</sup><sub>R</sub> - каналов плазмалеммы, а также, IP<sub>3</sub>R-рецептора CP (Dhalla et al., 2000). Учитывая это и принимая во внимание то, что вазорелаксантное действие зеравшанизина и F-37 связано с модификацией функции Ca<sup>2+</sup> транспортирующих систем (Ca<sup>2+</sup><sub>L</sub> -, Ca<sup>2+</sup><sub>R</sub>-каналов и IP<sub>3</sub>R-рецептора CP) и можно предположить, что благодаря такой модификации обеспечивается вазопротекторный эффект этих алкалоидов в условиях гипоксии.

Вместе с тем важную роль в обеспечении вазопротекторного действия дитерпеноидного алкалоида зеравшанизина также может играть NO/sGC/cGMP/PKG сигнальный путь, активируя который он может модифицировать транспорт ионов  $Ca^{2+}$  на уровне плазмалеммы и СР и, таким образом, способствовать оптимизации  $[Ca^{2+}]_i$  в ГМК и их сократительной активности. Кроме того, вазопротекторное действие этого алкалоида, может быть связано с активацией  $K_{ATP}$ -каналов ГМК, которые играют ведущую роль в протекторном механизме, обеспечивающим защиту сердечных и ГМК от повреждений в условиях ишемии/гипоксии (Suzuki, 2002).

При изучении влияния флавоноидов хризина и норвогонина на сократительную активность препаратов аорты крысы в условиях гипоксии было обнаружено, что эти флавоноиды также эффективно предотвращают повреждения сократительной активности препаратов аорты, вызываемые гипоксией. При этом было установлено, что в присутствии флавоноидов хризина (15 мкМ) и норвогонина (15 мкМ), эффект гипоксии на силу ФЭ-индуцированных сокращений препаратов аорты уменьшается на  $32,1 \pm 3,2\%$  и  $33,9 \pm 3,8\%$ , соответственно (рис.13, А, Б).



**Рис.13.** Влияние флавоноидов хризина (А) и норвогонина (Б) на ФЭ-индуцированные сокращения препаратов аорты крысы в условиях гипоксии. По оси ординат сила сокращения препаратов аорты, выраженная в процентах от силы, индуцированной 1 мкМ ФЭ и принятой за 100%. (\*\* $p < 0,01$ ;  $n = 5$ ).

Эти результаты свидетельствуют о том, что флавоноиды хризин и норвогонин эффективно предотвращают повреждения сократительной активности препаратов аорты, вызываемые гипоксией, что указывает на их вазопротекторное действие. Учитывая то, что эти флавоноиды характеризуются выраженным эндотелий – зависимым вазорелаксантным действием, можно заключить, что ведущую роль в обеспечении их вазопротекторного действия играет активация NO/sGC/cGMP/PKG сигнального пути. Активируя продукцию NO и, соответственно sGC/cGMP/PKG сигнальный путь, эти флавоноиды могут способствовать оптимизации функции  $Ca^{2+}$ -транспортирующих систем и уровня  $[Ca^{2+}]_i$  в ГМК и тем самым обеспечивать нормализацию сократительной активности



гладкой мускулатуры. Вместе с тем вазопротекторное действие этих флавоноидов может быть связано с активацией  $K^+_{ATФ}$ - и  $K^+_{Ca}$ -каналов ГМК, которые, как было показано выше, играют ключевую роль в обеспечении защиты сердечных и ГМК от повреждений, в условиях ишемии/гипоксии.

## ВЫВОДЫ

1. Исследованные алкалоиды и флавоноиды обладают выраженным вазорелаксантным действием, в основе которого лежат множественные механизмы, включающие модификацию функции  $Ca^{2+}$ -транспортирующих систем гладкомышечных клеток и эндотелия кровеносных сосудов.

2. Вазорелаксантное действие дитерпеноидного алкалоида зеравшанизина эндотелий-зависимо и обусловлено активацией NO/sGC/cGMP/PKG сигнального пути и  $K_{ATФ}$ -каналов. Вазорелаксантное действие 1-О-БН в основном обеспечивается благодаря подавлению поступления ионов  $Ca^{2+}$  через  $Ca^{2+}_L$  и  $Ca^{2+}_R$  – каналы плазмалеммы, а также, их высвобождения из саркоплазматического ретикулума.

3. Вазорелаксантное действие изохинолиновых алкалоидов F-37, криптопина и протопина эндотелий-независимо и в основном обеспечивается благодаря подавлению поступления ионов  $Ca^{2+}$  через  $Ca^{2+}_L$  и  $Ca^{2+}_R$  – каналы плазмалеммы, а также, их высвобождения из саркоплазматического ретикулума. Определенный вклад в обеспечение этого эффекта этих алкалоидов, может вносить активация  $K_{ATФ}$ -каналов.

4. Флавоноиды хризин и норвогонин обладают выраженным эндотелий-зависимым вазорелаксантным действием, в основе которого лежит активация NO/sGC/cGMP/PKG сигнального пути и  $K_{ATФ}$  и  $K^+_{Ca}$  -каналов гладкомышечных клеток, сопровождаемая подавлением поступления ионов  $Ca^{2+}$  через  $Ca^{2+}_L$ - и  $Ca^{2+}_R$ -каналы плазмалеммы, а также, их высвобождения из саркоплазматического ретикулума.

5. Дитерпеноидный алкалоид зеравшанизин и флавоноид хризин обладают выраженным вазопротекторным действием и эффективно предотвращают повреждения сократительной активности препаратов аорты, вызываемые гипоксией.

6. Вазопротекторное действие зеравшанизина может быть обусловлено модификацией функции  $Ca^{2+}$ -транспортирующих систем гладкомышечных клеток ( $Ca^{2+}_L$ -,  $Ca^{2+}_R$ -каналов и  $IP_3R$ -рецептора саркоплазматического ретикулума) и активацией NO/sGC/cGMP/PKG сигнального пути, а также  $K_{ATФ}$ -каналов, способствующей нормализации функции их  $Ca^{2+}$ -транспортирующих систем.

7. В основе вазопротекторного действия флавоноида хризина может лежать активация NO/sGC/cGMP/PKG сигнального пути и  $K^+_{ATФ}$ ,  $K^+_{Ca}$ -каналов гладкомышечных клеток, способствующая нормализации функции их  $Ca^{2+}$ -транспортирующих систем и сократительной активности.

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

---

**INSTITUTE OF BIOPHYSICS AND BIOCHEMISTRY**

**ESIMBETOV ADILBAY TLEPOVICH**

**CHARACTERISTIC OF THE VASORELAXANT EFFECT OF SOME  
ALKALOIDS AND FLAVONOIDS OF PLANTS OF UZBEKISTAN**

**03.00.08 – Human and animal physiology**

**ABSTRACT OF DISSERTATION OF DOCTOR OF SCIENCE (DSc) IN  
BIOLOGICAL SCIENCE**

**Tashkent - 2020**

The dissertation of DSc has been registered with number B2020.3.PSc/B116 at the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan.

The dissertation carried out at the Karakalpak State University named after Berdakh.

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

**Scientific consultant:**

**Usmanov Pulat Bekmurotovich**  
doctor of biological sciences, professor

**Official opponents:**

**Kuchkarova Lyubov Salijanovna**  
doctor of biological sciences, professor

**Allamuratov Shuxratulla Inoyatovich**  
doctor of biological sciences, professor

**Tulaganov Rustam Tursunovich**  
doctor of biological sciences

**Leading organization:**

**Karshi State University**

Defence will take place on 23. 12 2020 at 14<sup>00</sup> the meeting of the Scientific council DSc.03/30.12.2019.B.01.13 on award of scientific degrees at the Institute of biophysics and biochemistry, at the National University of Uzbekistan (address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Student's town, University st., 174. Phone: (99871) 262-68-96).

Dissertation is registered at the Information Resource Centre at the Institute of biophysics and biochemistry, National University of Uzbekistan ( registration number № 21 ). (address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Student's town, University st., 174. Phone: (99871) 262-68-96). e-mail: [ibb-nuu@mail.ru](mailto:ibb-nuu@mail.ru); [asrarov54@mail.ru](mailto:asrarov54@mail.ru).

Abstract of dissertation is distributed on « 11 » 12 2020  
(Protocol at the register № 1 dated « 11 » 12 2020)



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

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

**Axmedjanov Iskandar Gulyamovich**  
Chairman of the academic seminar under the  
Scientific council awarding scientific degrees, D.B.Sc., professor

## INTRODUCTION (abstract of DSc dissertation)

**The aim of the research work** deals with the characteristic features of the vasorelaxant action of some representatives of isoquinoline and diterpenoid alkaloids, as well as flavonoids were taken out from plants growing in Uzbekistan.

**The objects of the research work** are rat aorta preparations, diterpenoid alkaloids - zongorin, 1-O-BN, zeravshanizine and isoquinoline alkaloids - F-37, cryptopin, protopine, as well as flavonoids - chrysin and norvogonine.

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

it was found that the vasorelaxant effect of diterpenoid and isoquinoline alkaloids is mainly due to the suppression of the influx of  $\text{Ca}^{2+}$  ions through  $\text{Ca}^{2+}_{\text{L}}$ - and  $\text{Ca}^{2+}_{\text{R}}$ - channels of the plasma membrane, as well as their release from the sarcoplasmic reticulum;

it was shown that the vasorelaxant effect of the alkaloid zeravshanizin is endothelium-dependent and may be due to the activation of the NO/sGC/cGMP/PKG signaling pathway;

the important role of  $\text{K}_{\text{ATP}}$ -channels of smooth muscle cell in providing the vasorelaxant effect of diterpenoid alkaloids (1-O-BN, zeravshanizine) and isoquinoline alkaloids (F-37, cryptopin, protopine) was established;

it was found that the flavonoids chrysin and norvogonin have a pronounced endothelium-dependent vasorelaxant effect, which is mainly due to the activation of the NO/sGC/cGMP/PKG signaling pathway and  $\text{K}_{\text{ATP}}$ -channels of smooth muscle cell;

it was found that the investigated alkaloids and flavonoids effectively protect the rat aorta from damage caused by hypoxia, indicating their vasoprotective effect.

**Implementation of research results.** Based on the data obtained in the research of the mechanisms of the vasorelaxant action of isoquinoline alkaloids (F-37, cryptopin, protopine) and diterpenoid alkaloids (zongorin, 1-O-BN, zeravshanizin) and flavonoids chrysin and norvogonin:

The established features of the vasorelaxant action of the flavonoids chrysin and norvogonine were used in the complex characterization of the pharmacological properties of flavonoids within the framework of the project. It was utilized in the project of The International cooperation and exchange of the National Natural Science Foundation of China (No3111010398) and The Central Asian drug Discovery & Developments Center of Chinese Academy of Sciences». (Report from the Central Laboratory of Plant Resources and Chemistry of Arid Zones, Xinjiang Institute of Chemistry and Physics, Academy of Sciences of China, 0991-3835823 of October 21, 2020). The results of these studies contributed to the identification of promising flavonoids for the development of a new generation of spasmolytic and hypotensive drugs;

mechanisms of modulation of  $\text{Ca}^{2+}$  ion transport by diterpenoid alkaloids were used in the framework of the project TA-FA-F-6-002 «Design of biomaterials with controlled release of biologically active proteins and polyphenols» (Report from the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No.4/1255-2324 of

October 28, 2020). The results of these studies have contributed to the development of optimal options for the controlled release of biologically active proteins and polyphenols;

the specific action of diterpenoid and isoquinoline alkaloids on  $Ca^{2+}$  - transport systems were used in the development of antiarrhythmic agents within the framework of the project FA-A12-T-121 «Development and creation of phytopreparations: 1-O-benzoyl nappeline hydrochloride and dihydroatesine hydrochloride, which have antiarrhythmic action» (Report from the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No.4/1255-2326 of October 28, 2020). The results of these studies provided a rational approach to the development of new antiarrhythmic drugs with minimal side effects.

**The structure and volume of the thesis.** The dissertation consists of an introduction, four chapters, a conclusion, and a list of publications. The volume is 182 pages.

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

**I бўлим (I част; I part)**

1. Бегдуллаева Г.С., Есимбетов А.Т., Усманов П.Б., Султанходжаев М.Н. Действие 1–О–бензоилнапеллина на сократительную активность гладкомышечных клеток трахеи крысы // Узбекский биологический журнал. –2011. – №3. – С.21-24. (03.00.00; №5).
2. Бегдуллаева Г.С., Есимбетов А.Т., Усманов П.Б., Султанходжаев М. Н. Изучение механизма релаксантного действия 1–О–бензоилнапеллина // Вестник НУУз (Спец. вып.). – 2011. – С.10-13. (03.00.00; №9).
3. Бегдуллаева Г.С., Усманов П.Б., Есимбетов А.Т., Султанходжаев М.Н. Изучение действия дитерпеноидных алкалоидов 1–О–бензоилнапеллина и зонгорина на  $Ca^{2+}$ –транспортирующие системы гладкомышечных клеток трахей крысы // Доклады Академии наук Республики Узбекистан. – 2013. – №1. – С.61-65. (03.00.00; №6) .
4. Usmanov P.B., Khushmatov Sh.S., Esimbetov A.T., Mirsaeva Y.T., Jumayev I.Z. Inotropic and vasorelaxant effects of some diterpenoid alkaloids // Узбекский биологический журнал. – 2017. – №5. – С.63-69. (03.00.00; №5).
5. Есимбетов А.Т., Зарипов А.А., Усманов П.Б. Влияние алкалоида 1–О–бензоилнапеллина на сократительную активность гладких мышц аорты крысы // Вестник Каракалпакского отделения АН РУз. – 2018. – №3. – С.20-22. (03.00.00; №10).
6. Есимбетов А.Т. Роль эндотелия в релаксантном действии криптопина и зеравшанизина // ҚарДУ хабарлари. – 2018. – №4. – С.22-25. (03.00.00; №11).
7. Esimbetov A.T. Zaripov A.A., Usmanov P.B., Salimov B.T. Regulation of the function of  $Ca^{2+}$  transporting systems of rat aortic smooth cells by alkaloid zeraushanisin // Вестник Хорезмской академии Маъмуна. – 2019. – №3. –С.8-11. (03.00.00; №12).
8. Есимбетов А.Т., Зарипов А.А., Бегдуллаева Г.С., Усманов П.Б., Хушматов Ш.С. Действие дитерпеновых алкалоида зогорина и 1–О–бензоилнапеллина на сократительную активность гладкой мускулатуры аорты крысы // Вестник Ташкентской медицинской академии.– 2019. – №1. – С.35-39. (03.00.00; №16).
9. Есимбетов А.Т., Зарипов А.А., Усманов П.Б. Действие алкалоида криптопина на сократительные ответы аорты крысы индуцируемые фенилэфрином // Вестник Хорезмской академии Маъмуна. – 2019. – №5/1(55). – С.13-17. (03.00.00; №12).
10. Зарипов А.А., Есимбетов А.Т., Усманов П.Б., Журакулов Ш.Н. Вазорелаксантное действие алкалоида 1–(4'–хлорфенил)– 6,7– диметокси– 1,2,3,4–тетрагидроизохинолин на функциональную активность

гладкомышечных клеток аорты крысы // *Universum: химия и биология: научный журнал*. – 2019. – №11(65). – С.32-35. (02.00.00; №2).

11. Есимбетов А.Т., Зарипов А.А., Усманов П.Б. Изучение эндотелий – зависимое вазорелаксантное действие флавоноида хризина // *Universum: химия и биология: научный журнал*. – 2019. – №11(65). – С.47-51. (02.00.00; №2).

12. Esimbetov A.T., Omanturdiyev S.Z., Zaripov A.A., Usmanov P.B. Characteristics of the vasorelaxant action of chrysin flavonoid on isolated thoracic rat aorta // *Science and Education in Karakalpakstan*. – 2019. – №3(11). – P.33-39. (03.00.00; №14).

13. Esimbetov A.T., Zaripov A.A., Omanturdiyev S.Z., Sultankhodjaev M.N., Usmanov P.B. Vasorelaxant effect of the alkaloid 1–O–benzoilnappeline on isolated rat thoracic aorta // *International journal of agriculture, environment and bioresearch*. – 2020. – №5. – P.146-156. (International Society for Research Activity (ISRA), IF-4.083).

14. Есимбетов А.Т., Зарипов А.А., Сиддиков Г.У., Усманов П.Б. Действие флавоноида норвогонина на сократительную активность гладкой мускулатуры кровеносных сосудов // *КарДУ хабарлари*. – 2020. – №1(43). – С.51-58. (03.00.00; №11).

15. Есимбетов А.Т., Кунисов Б., Зарипов А.А., Бакиева М., Усманов П.Б., Султанходжаев М. Роль  $K^+$ -каналов в вазорелаксантном действии алкалоидов 1–О–бензоилнапеллина и 6–О–бензоилгетератизина на аорты крысы // *Ажиниёз номидаги Нукус давлат педагогика институти ФАН ва ЖАМИЯТ илмий услубий журнали*. – 2020. – №2. – С.32-34. (03.00.00; №18).

16. Зарипов А.А., Есимбетов А.Т., Жўракулов Ш.Н., Усманов П.Б. Каламуш аорта силлиқ мускул хужайраси қисқаришига F-37 ва N-24 алкалоидларининг релаксант таъсирини ўрганиш // *Ажиниёз номидаги Нукус давлат педагогика институти ФАН ва ЖАМИЯТ илмий услубий журнали*. – 2020. – №2. – С.34-37. (03.00.00; №18).

## **II бўлим (II част; II part)**

17. Esimbetov A.T., Zaripov A.A., Usmanov P.B. Vasodilator effects of norwogonin in isolated rat aorta // *International journal of fauna and biological studies* – 2020. – V.7(3). – P.166-169. (Scientific indexing Services).

18. Насиров К.Э., Есимбетов А.Т., Усманов П.Б., Набиев А. Влияние алкалоида протопина на потенциал зависимые и рецептор управляемые  $Ca^{2+}$  каналы гладкомышечных клеток // *Материалы республиканской–научной конференции “Актуальные проблемы современной физиологии и биофизики”*. – Ташкент, 2010. – С.117.

19. Насиров К.Э., Есимбетов А.Т., Усманов П.Б., Набиев А. Влияние алкалоида протопина на сократительную активность гладкомышечных клеток аорты крысы // *14–я Международная Пущинская школа–конференция молодых ученых «Биология наука XXI века»*. – Пущина, 2010. – С.213-214.

20. Бакиева М.Ш., Есимбетов А.Т., Жоллыбекова Г., Усманов П.Б., Салимов Б.Т. Релаксантное действие алкалоида дигидроатизина на сократительную активность гладких мышц аорты крысы // Материалы республиканской научно–практической конференции «Рациональное использование природных ресурсов Южного Приаралья». – Нукус, 2014. – С.116.
21. Есимбетов А.Т., Зарипов А.А., Усманов П.Б., Султанходжаев М. Действие алкалоида 1–О–бензоилнаппеллина на сократительную активность гладкомышечных клеток аорты крысы // Сборник тезисов международной научной конференции “Лекарственные препараты на основе природных соединений”. – Ташкент, 2018. – С.86.
22. Есимбетов А.Т., Тлепова Г.Ж., Собиров С.Б. Влияние алкалоида зеравшинизина на сократительную активность гладкомышечных клеток аорты крысы // Теория и практика: Материалы международной научно–практической конференции «Роль научных кризисов в развитии современного общества» Современная медицина. – Санкт–Петербург, 2018. – С.78-80.
23. Esimbetov A.T., Zaripov A.A. Effect of alkaloid 1–O–benzoynnappeline on rat aortic smooth muscle contractility// The 1<sup>st</sup> International scientific and practical conference “Topical issues in pharmacy and medical sciences”. – Tokyo, 2019. – P.56-58.
24. Zaripov A.A., Khushmatov Sh.S., Esimbetov A.T., Usmanov P.B., Jurakulov Sh.N. Relaxant effect of the F–37, an isoquinoline alkaloid on isolated rat aortic smooth muscle // Scientific Conference of PhD. Students of FAFR, FBFS and FHLE SUA in Nitra with international participation. Proceedings of abstracts. –Nitra, Slovak Republic, 2019. – P.36.
25. Bakiyeva M.SH, Zaynabiddinov A.E., Usmanov P.B., Esimbetov A.T The comparative vasorelaxant effect of heteratisine and 6-O-benzoylheteratisine on contractile activity of rat aorta smooth muscle cells // Scientific research of the sco countries: Synergy and Integration. – China, 2019. – P.102-106.
26. Есимбетов А.Т. Релаксантное действие флавоноида норвогонина на сократительную активность сосудистых гладкой мускулатуры крысы // V Международная научно–практическая конференция, International Scientific journal «Global science and innovations 2020: Central Asia». – Нур-Султан, 2020. – №3(3). – С.25-28
27. Есимбетов А.Т., Усманов П.Б. Оценка роли эндотелия в вазорелаксантном действии некоторых дитерпеноидных алкалоидов // Материалы международной научно–практической конференции “Состояние разработки и производства биологических и ветеринарных препаратов и возможности расширения их локализации”. – Самарканд, 2020. – С.243-248.



Автореферат «Ўзбекистон биология журналы» тахририятида тахрирдан ўтказилиб, ўзбек, рус ва инглиз тилларидаги матнлар ўзаро мувофиқлаштирилди.