E. CANESCENS (L.) O'SIMLIK TURIDAN AJRATIB OLINGAN 1,2-DI-O-GALLOIL-β-D-GLYUKOZA VA 1-O-GALLOIL-4,6-GEKSAGIDROKSIDIFENOIL-β-D-GLYUKOZA POLIFENOL BIRIKMALARINING VAZORELAKSANT TA'SIRIDA NA^+/CA^{2+}-ALMASHINUVCHI TIZIMLARINING ISHTIROKI

Sidiqov Fayzullo Soibjon o'g'li
Zaynabiddinov Anvar Erkinjonovich
Mutalipov Azizbek Abdullajon o'g'li
Salaydinov Murodiljon Muhammadsoliyevich
Andijon davlat universiteti
siddiqovfayzullo34@gmail.com

Annotasiya. *Dunyoning ko'pchilik ilmiy markazlarida arterial gipertenziyani oldini olish va davolash uchun dori vositalarining yangi avlodini yaratish jarayonida, uning patogenezi asosida yotuvchi molekulyar mexanizmlar to'g'risidagi fundamental ma'lumotlar keng qo'llanilmoqda. Bunda, arterial gipertenziya patogenezi bilan bevosita bog'liq bo'lgan qon-tomirlarning muhim nishonlarining farmakologik hususiyatlari va haqidagi ma'lumotlar muhim ahamiyatga ega hisoblanadi. Tajribalarda ob'ekt sifatida –kalamush aorta preparati, shuningdek e. canescens (l.) o'simlik turidan ajratib olingan 1,2-di-o-galloil- β -d-glyukoza va 1-o-galloil-4,6-geksagidroksidifenoil-β-d-glyukoza polifenol birikmalari tanlab olindi ularning kimyoviy strukturasiga bog'liq jarayonlar ko'rsatib berildi.*

Kalit so'zlar: *polifenol, 1,2-di-o-galloil- β -d-glyukoza, 1-o-galloil-4,6-geksagidroksidifenoil-β-d-glyukoza, aorta qon tomiri, silliq muskul, Na^+/Ca^{2+}-almashinuvchi tizim, Na^+/K^+-ATFaza, vazorelaksant ta'sir.*

Аннотация. *В научных центрах многих стран мира в процессе разработки нового поколения лекарственных средств для профилактики и лечения артериальной гипертензии широко используются фундаментальные сведения о молекулярных механизмах, лежащих в основе её патогенеза. При этом особое значение имеют данные о фармакологических свойствах ключевых сосудистых мишеней, непосредственно связанных с патогенезом артериальной гипертензии. В качестве объектов исследования были выбраны препарат аорты крысы, а также полифенольные соединения 1,2-ди-о-галлоил-β-d-глюкоза и 1-о-галлоил-4,6-гексагидроксидифеноил-β-d-глюкоза, выделенные из растения E. canescens (L.). Были продемонстрированы процессы, зависящие от их химической структуры.*

Ключевые слова: *полифенол, 1,2-ди-о-галлоил-β-d-глюкоза, 1-о-галлоил-4,6-гексагидроксидифеноил-β-d-глюкоза, аорта, гладкая мышца, Na^+/Ca^{2+}-обменная система, Na^+/K^+-АТФаза, вазорелаксирующее действие.*

Annotation. *In many scientific centers around the world, fundamental knowledge about the molecular mechanisms underlying the pathogenesis of arterial hypertension is widely used in the development of a new generation of drugs for its prevention and treatment. In this context, data on the pharmacological properties of key vascular targets directly related to the pathogenesis of arterial hypertension are of great importance. In the experiments, rat aorta tissue and polyphenolic compounds 1,2-di-o-galloyl-β-d-glucose and 1-o-galloyl-4,6-hexahydroxydiphenoyl-β-d-glucose isolated from the plant E. canescens (L.) were selected as research objects. The processes dependent on their chemical structures were demonstrated.*

Keywords: *polyphenol, 1,2-di-o-galloyl-β-d-glucose, 1-o-galloyl-4,6-hexahydroxydiphenoyl-β-d-glucose, aorta, smooth muscle, Na^+/Ca^{2+} exchange system, Na^+/K^+-ATPase, vasorelaxant effect.*

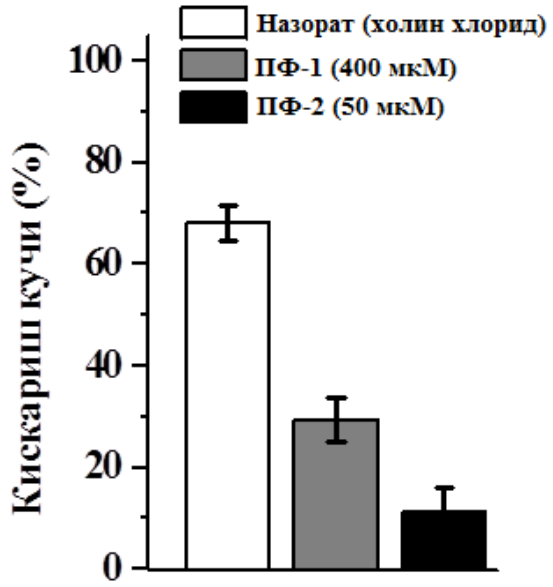
Kirish. Bugungi kunda Butunjahon sog‘liqni saqlash tashkilotining (BSST) statistik ma’lumotlari bo‘yicha dunyo miqyosida kardiovaskulyar tizim kasalliklari keng tarqalishi kuzatilib, global miqyosida dolzarb tibbiy–ijtimoiy, iqtisodiy muammolardan biri hisoblanadi. O‘z navbatida, sintetik analoglariga nisbatan toksik ta’sir darajasi past bo‘lgan, tabiiy o‘simlik xomashyosi asosidagi samarali kardiovaskulyar terapevtik ta’sirga ega yangi farmakologik preparatlarni yaratish dolzab ahamiyatga ega hisoblanadi.

Hozirgi vaqtda respublikamizda kardiovaskulyar tizim kasalliklari profilaktikasi va davolash yo‘nalishida sezilarli islohotlar amalga oshirilgan. Sog‘liqni saqlash tashkilotining statistik ma’lumotlari ko‘ra hozirda butun dunyoda yurak qon-tomir tizimi kasalliklari keng tarqalishi kuzatilib, global miqyosida dolzarb tibbiy–ijtimoiy, iqtisodiy muammolardan biri hisoblanmoqda. Shuningdek, o‘z navbatida, sintetik dori vositalariga nisbatan salbiy ta’sir darajasi past bo‘lgan, mahalliy dorivor o‘simlik xomashyosi asosida samarali davolovchi ta’sirga ega yangi dori vositalarini yaratish bugungi kunda tibbiyot va biologiya fanlari oldida turgan eng muhum vazifalardan biri hisoblanadi.

Material va metodlar. Andijon davlat universiteti Odam fiziologiyasi va hayot faoliyati xavfsizligi kafedrasining “Eksperimental innavasion tadqiqotlar” laboratoriyasida tajribalar olib borildi va vivariyasida standart ozuqa va suv bilan ta'minlangan sharoitda ko‘paytirilgan, sog‘lom oq, zotsiz erkak kalamushlarda (150–200 gr.) amalga oshirildi.Aorta qon tomir preparatini tayyorlash standart uslub yordamida amalga oshirildi.

Tajriba hayvonlari servikal dislokasiya usulida jonsizlantirilgandan keyin, ko‘krak qafasini jarrohlik usulida ochilib, aorta qon tomiri ajratib olindi va Krebs–Xenzelayt fiziologik eritmasi muhitida biriktiruvchi to‘qimadan tozalanib, halqasimon segmentlar (l=2–4 mm; ø=1–2 mm) shaklida kesildi. Tajriba yacheykasida (5 ml) doimiy ravishda quyidagi kimyoviy tarkibga ega bo‘lgan Krebs–Xenzeleyt fiziologik eritmasi sirkulyasiyalandi (mM hisobida): (mM): NaCl – 120,4; KCl – 5; $NaHCO_3$ – 15,5; NaH_2PO_4 – 1,2; $MgCl_2$ – 1,2; $CaCl_2$ – 2,5; $C_6H_{12}O_6$ – 11,5; HEPES- (pH=7,4) [3]. Fiziologik eritma karbogen (O_2–95% va CO_2–5%) bilan aerasiyalandi, harorat doimiyligi (t=+37±0,5°C) ultratermostat (U–8; Bolgariya) yordamida ta'minlandi [5,6]. Aorta qon tomir preparatining qisqarish faolligi izometrik sharoitda FT–03 (Grass Instrument Co., AQSH) kuch sensori, signal kuchaytirgich qurilma (Grass Instrument, AQSH) orqali Endim 621.02 samopisesida (Chexiya) standart uslub (mexanografiya) yordamida qayd qilindi [7]. Olingan natijalar OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060–4401, AQSH) maxsus dastur paketi yordamida statistik qayta ishlandi. Natijalar Lakin G.F. (1990) tomonidan keltirilgan uslublar yordamida matematik–statistik qayta ishlandi [2]. Natijalar n marta takroriylikda amalga oshirilgan tajribalar natijalarining M±m shaklida keltirilgan bo‘lib, M – o‘rtacha arifmetik qiymat va m – standart xatolik qiymatini ifodalaydi. Shuningdek, tajriba natijalari guruhlar o‘rtasidagi qiymatlarning statistik ishonchlilik darajasi Styudent t–mezoni asosida hisoblandi [6], va $p<0,05$, $p<0,01$ qiymatlarda statistik ishonchli deb baholandi.

Olingan natijalar va ularning tahlili. Tajribalarda PF-1 va PF-2 larning relaksant ta’sirini ta’minlanishida Na^+/Ca^{2+}-almashtiruvchi tizimning ro’lini baholash uchun Na^+ ionlarisiz Krebs eritmasi bilan inkubatsiyalangan aorta qisqarishlariga ta’siri o‘rganildi. Tajribada Krebs eritmasi tarkibidagi NaCl ni ekvimolyar xolinxloridga almashtirish orqali muhitda verapamil 10 mkM mavjud sharoitda aorta qisqarishi Na^+/Ca^{2+} almashuvchi tizimning teskari rejimda ishlashi orqali sitozolga kirib keluvchi Ca^{2+} ionlari hisobiga amalga oshadi. Ushbu sharoitda xolin xlorid yordamida chaqirilgan qisqarish kuchi 66,4±6,1% ni tashkil qildi. Ushbu tajribada dastlab aorta muskulida 1 mkM FE bilan qisqarish chaqirilib, undan so‘ng normal Krebs eritmasi bilan yuvib tashlanadi va xolin xlorli eritmaga almashtiriladi. Aorta preparati Na^+ miqdori kamaytirilgan eritma bilan 30 daqiqa davomida yuvilgandan so‘ng muskul qaytadan qisqaradi. Qisqarish yuqori pog‘onaga yetganda PF-1 (400 mkM) va PF-2 larni (50 mkM) aorta silliq muskuli qisqarishiga ta’sirini kuzatganimizda qisqarish kuchini nazoratga nisbatan 67,9±4,3% va 86,1±5,3% ga kamaytirishi kuzatildi (1-rasm).

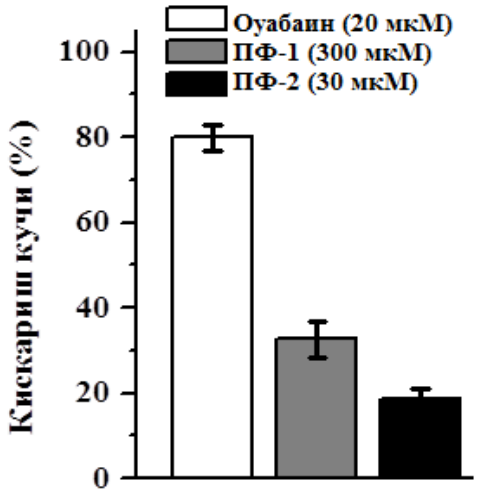


1-rasm. PF-1 va PF-2 larni Na^+-ionlarisiz Krebs eritmasi bilan chaqirilgan kalamush aortasi qisqarish kuchiga ta'siri. Na^+-ionlari mavjud bo'lmagan Krebs eritmasi bilan modifikatsiyalash natijasida chaqirilgankalamush aortasi qisqarish kuchiga PF-1 (400 mkM) va PF-2 (50 mkM) ta'siri. Ordinata o'qida – eritmada Na^+-ionlarisiz induksiyalangan aorta qisqarish kuchi 100% deb olingan. (barcha holatlarda ishonchlilik ko'rsatgichi *$p<0,05$; $n=5$).

O'tkazilgan tajribalarimizda o'rganilayotgan polifenollarning aorta silliq muskuli qisqarishiga relaksant ta'sirida Na^+/Ca^{2+}- almashinuvchi tizimning rolini o'rganishda yurak glikozidi - ouabaindan foydalanildi. Ouabain silliq muskul hujayrasi plozmolemmasi Na^+/K^+-ATFazani bloklab silliq muskul hujayrasi sitozolida Na^+ miqdorini ortishiga olib keladi va natijada Na^+/Ca^{2+}- almashinuv tizim orqali hujayraga Ca^{2+} ionlari kirishining kuchayishi hisobiga aorta silliq muskulida qisqarish vujudga keladi.Normal faoliyatida Na^+/Ca^{2+}-almashuv tizimi hujayra ichidagi Ca^{2+} ionlarini hujayra tashqarisiga olib chiqadi [13]. Lekin ouabain ta'sirida Na^+/K^+-ATFazani bloklanishi silliq muskul hujayrasida Na^+ miqdorini ortishiga olib keladi va bu o'z navbatida Na^+/Ca^{2+}-almashuvchi tizimni teskari rejimda ishlashini, Na^+ ionlarini hujayra tashqarisiga chiqarib hujayra ichiga Ca^{2+} ionlarini kiritilishini ta'minlaydi. Bu jarayon o'z navbatida silliq muskul hujayrasining qisqarishini ta'minlaydi [14].

Tajribalarimizda PF-1 va PF-2 polifenollarini ouabain yordamida yuzaga kelgan aorta muskuli qisqarishiga ta'siri kuzatildi (2-rasm). Dastlab FE 1 mkM yordamida chaqirilgan aorta muskuli preparati qisqarish kuchi 100% deb olindi. FE yordamida chaqirilgan qisqarishga nisbatan ouabainning maksimal doza (20 mkM)da chaqirilgan aorta qisqarish kuchi 77,4±3,9%ga to'g'ri keldi. Xuddi shu muhitda PF-1

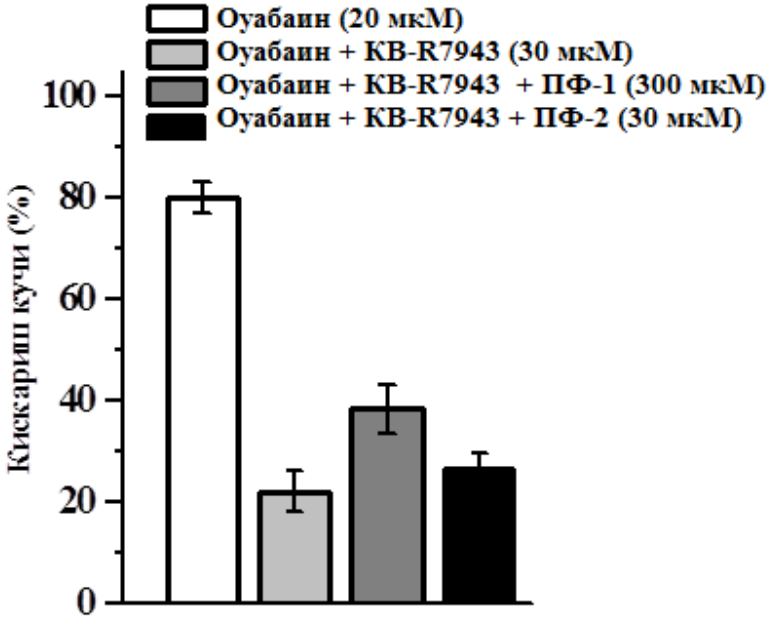
(300 mkM) va PF-2 (30 mkM) polifenollarining ta’siri kuzatilganda ouabain yordamida chaqirilgan aorta muskuli qisqarishini 77,4±3,9% dan 31,2±3,1 va 15,9±3,0% ga kamaytirishi aniqlandi.



2-rasm. PF-1 va PF-2ning ouabain yordamida chaqirilgan aorta muskuli qisqarishiga ta’siri. Ordinata o‘qida - aorta muskulining qisqarish kuchi 100% deb olingan. (barcha holatlarda ishonchlilik ko‘rsatgichi *p<0,05; n=4).

O‘tkazilgan tajriba natijalari tahliliga ko‘ra, oubain yordamida chaqirilgan aorta muskuli qisqarish kuchini o‘rganilayotgan polifenollar ta’sirida kamayishi, ushbu polifenollarning Na^+/Ca^{2+}-almashinuvchi tizim orqali hujayraga Ca^{2+} ionlari kirishining kamayishiga ta’siri bilan izohlashimiz mumkin.

Yuqoridagi fikrlarga yanada oydinlik kiritish maqsadida biz, polifenollarning Na^+/Ca^{2+}-almashinuvchi tizimga ta’sirini uning blokatori-KB-R7943 bilan kuzatdik. O‘tkazilgan tajribalarimizda KB-R7943 blokatori ouabain yordamida chaqirilgan aorta silliq muskuli qisqarishiga dozaga bog‘liq holda t’sir ko‘rsatib 30 mkM konsentratsiyada qisqarish kuchini maksimal 20,3±4,2%ga kamayishiga olib keldi. Ushbu sharoitda PF-1 (300 mkM) va PF-2 (30 mkM) polifenollari ta’sirini kuzatganimizda aorta silliq muskuli qisqarishini 37,8±4,1 va 25,0±3,1%ga kamaytirishi aniqlandi (3-rasm).



3-rasm. PF-1 va PF-2 polifenollarining ouabain yordamida chaqirilgan aorta muskuli qisqarishiga KB-R7943 mavjud sharoitda ta'siri. Ordinata o'qida - aorta muskulining qisqarish kuchi 100% deb olingan. (barcha holatlarda ishonchlilik ko'rsatgichi *p<0,05; n=4).

Xulosalar

O'tkazilgan tajriba natijalarining taxlili shundan dalolat beradiki, Na^+ ionlarisiz Krebs eritmasi bilan inkubatsiyalangan va ouabain yordamida chaqirilgan aorta muskuli qisqarish kuchini o'rganilayotgan polifenollar ta'sirida deyarli bir xil qiymatlarda kamaytirishi ushbu polifenollarning relaksant ta'siri Na^+/Ca^{2+}-almashinuvchi tizim orqali hujayraga kiruvchi Ca^{2+}-ionlarini bloklashi bilan amalga oshishini tasdiqlaydi. Olingan natijalarning tahlili asosida shuni xulosa qilishimiz mumkinki, o'rganilayotgan polifenollarning relaksant ta'siri asosida silliq musul hujayrasi plazmolemmasida joylashgan potensialga bog'liq Sa^{2+}-kanallari va reseptor-boshqariluvchi Ca^{2+}-kanallarining bloklanishi bilan birga Na^+/Ca^{2+}-almashinuvchi tizimning ham bloklanishini orqali ta'minlanishini yuqoridagi tajribalarimiz isbotlaydi. Ushbu tadqiqot ishida olingan ilmiy/eksperimental natijalar diterpenoid polifenollar asosida antigipertenziv farmakologik preparatlarni ishlab chiqish uchun nazariy asos sifatida foydalanilishi mumkin.

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati.

1. Mak D.O., McBride S., Foskett J.K. Inositol 1,4,5-trisphosphate activation of inositol trisphosphate receptor Ca^{2+} channel by ligand tuning of Ca^{2+} inhibition // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. –1998. –V. 95. –P. 15821-15825.
2. Webb C. Smooth muscle contraction and relaxantion // Advan. Physiol. Edu. –2003. –V. 27. –P. 201-206.

3. Wu K.D., Lee W.S., Wey J., Bungard D., Lytton J. Localization and quantification of endoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase isoform transcripts // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. –1995. –V. 269. –P. 775-784.
4. Floyd R., Wray S. Calcium transporters and signalling in smooth muscles // Cell Calcium. – 2007. – V.42(45). – P. 467-476.
5. Gibson A., McFadzean I., Wallace P., Wayman C. Capacitative Ca^{2+} entry and the regulation of smooth muscle tone // Trends Pharmacol. Sci. –1998. –V. 19. –P. 266-269.
6. Chaytor A.T., Taylor H.J., Griffith T.M. Gap junction-dependent and independent EDHF-type relaxations may involve smooth muscle cAMP accumulation // Am. J. Physiol. –2002. –V. 282. –P. 1548-1555.
7. O`Rourke B., Kass D.A., Tomaselli G.F., Kääb S., Tunin R., Marbán E. Mechanisms of altered excitation-contraction coupling in canine tachycardia-induced heart failure // Circ. Res. – 1999. – V. 84. – P. 562-570.
8. Berridge M.J. Smooth muscle cell calcium activation mechanisms // Journal of Physiology. – 2008. – V.586. – P.5047–5061.
9. Nishizuka Y. Protein kinase C and lipid signaling for sustained cellular responses // FASEB. J. –1995. –V. 9. –P. 484-496.
10. Somlyo A.P., Somlyo A.V. From pharmacomechanical coupling to G-proteins and myosin phosphatase // Acta. Physiol. Scand. –1998. –V. 164. –P. 437-448.
11. Hoe S.–Z., Lee C.–N., Mok S.–L., Kamaruddin M.Y., Lam S.–K. Gynura procumbens Merr. decreases blood pressure in rats by vasodilatation via inhibition of calcium channels // Clinics. – 2011. – V.66(1). – P.143–150.
12. Лакин Г.Ф. Биометрия // Москва. – Изд – во «Высшая школа». – 1990. – С.23–284.
13. Vandier C., Le Guennec J.Y., Bedfer G. What are the signaling pathways used by norepinephrine to contract the artery? A demonstration using guinea pig aortic ring segments // Adv. Physiol. Educ. – 2002. – V.26. – P.195–203.
14. Karaki H., Ozaki H., Hori M. et al. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle // Pharmacological Reviews. – 1997. – V.49(2). – P.158–229.

Mualliflar haqida ma'lumot

1. Sidiqov Fayzullo Soibjon o’g’li- Biologiya fani o’qituvchisi.
E-mail: siddiqovfayzullo34@gmail.com
2. Zaynabiddinov Anvar Erkinjonovich- Biologiya fanlari doktori, professor.
Andijon davlat universiteti.
3. Mutalipov Azizbek Abdullajon o’g’li- Biologiya falsafa fanlari doktori.
4. Salaydinov Murodiljon Muhammadsoliyevich- Biologiya fani o’qituvchisi.