

## VINCE ERECTA ЎСИМЛИК ТУРИДАН АЖРАТИБ ОЛИНГАН ИНДОЛ АЛКАЛОИДЛАРИНИНГ ФАРМОКАЛОГИК ФАОЛЛИГИНИ ТАХЛИЛ ҚИЛИШ

Г.Х.Абдурасулова

*АДТИ академик лицейи биология фани Олий тоифали ўқитувчиси*

**Аннотация:** Мақолада *Vinca erecta Regel* ўсимлигидан ажратиб олинган – копсинин, N1-ацетил копсинин индол алкалоидлари ва уларнинг релаксант таъсирини ўзига хослиги, уларнинг кимёвий структурасига боғлиқлиги ва буни таъминлашда аорта препарати силлиқ мусул хужайралари  $Ca^{2+}$ - транспорт тизимларининг роли бўйича маълумотлар келтирилган.

**Калит сўзлар:** Саркоплазматик ретикулум, инозитол–1,4,5–трифосфат, рианодин рецептори, силлиқ мускул,  $Ca^{2+}$  ионлари, қисқариш кучи.

**Аннотация:** В статье представлена информация о специфичности индольных алкалоидов копсина, N1-ацетил копсина и их релаксантном действии, их химической структуре и роли препарата  $Ca^{2+}$  - транспортных систем гладкомышечных клеток аорты в отрыве от растения *Vinca erecta Regel*.

**Ключевые слова:** Саркоплазматический ретикулум, инозитол–1,4,5–трифосфат, рецепторы рианоидина, гладкая мышца, ионы  $Ca^{2+}$ , сила сокращения.

**Annotation:** The article provides information on the specificity of the indole alkaloids of copsin, N1-acetyl copsin and their relaxant effects, their chemical structure and the role of aortic drug smooth muscle cells  $Ca^{2+}$  - transport systems in isolation from the plant *Vinca erecta Regel*.

**Key words:** Sarcoplasmic reticulum, inositol – 1,4,5 – triphosphate, rianodine receptors, smooth muscle,  $Ca^{2+}$  ions, contraction force.

**Кириш.** Дунё миқёсида кардиоваскуляр тизим касалликлари долзарб тиббий–ижтимоий, иқтисодий масалаларидан бири саналади. Юрак–қон томир тизими патологиялари орасида энг кенг тарқалгани бу артериал гипертония бўлиб, ишемия, инфаркт ва инсульт касалликлари ривожланишининг асосий факторидир. Ушбу касалликларга қарши бугунги кунда терапевтик мақсадда уч юздан ортик фармакологик препаратлардан фойдаланилади. Аммо, бу препаратларнинг аксарият қисмини қўшимча салбий таъсири ҳам мавжуддир. Ўз навбатида маҳалий доривор ўсимликлар хомашёси асосида кардиопротектив хоссага эга бўлган самарали бирикмаларни излаш, молекуляр таъсирини аниқлаш, фармакологик препаратлар яратиш ва даволашнинг янгича ёндашувларини ишлаб чиқиш муҳим илмий - амалий аҳамият касб этади.

Тадқиқот мақсади *Vinca erecta* ўсимлик туридан ажратиб олинган индол алкалоидларининг фармакологик фаоллигини тахлил қилишдан иборат.



**Материал ва методлар.** Андижон давлат университети Одам физиологияси ва ҳаёт фаолияти хавфсизлиги кафедрасининг экспериментал инновацион тадқиқотлар лабораториясида тажрибалар олиб борилди ва вивариясида стандарт озуқа ва сув билан таъминланган шароитда кўпайтирилган, соғлом оқ, зотсиз эркак каламушларда (150–200 гр.) амалга оширилди.

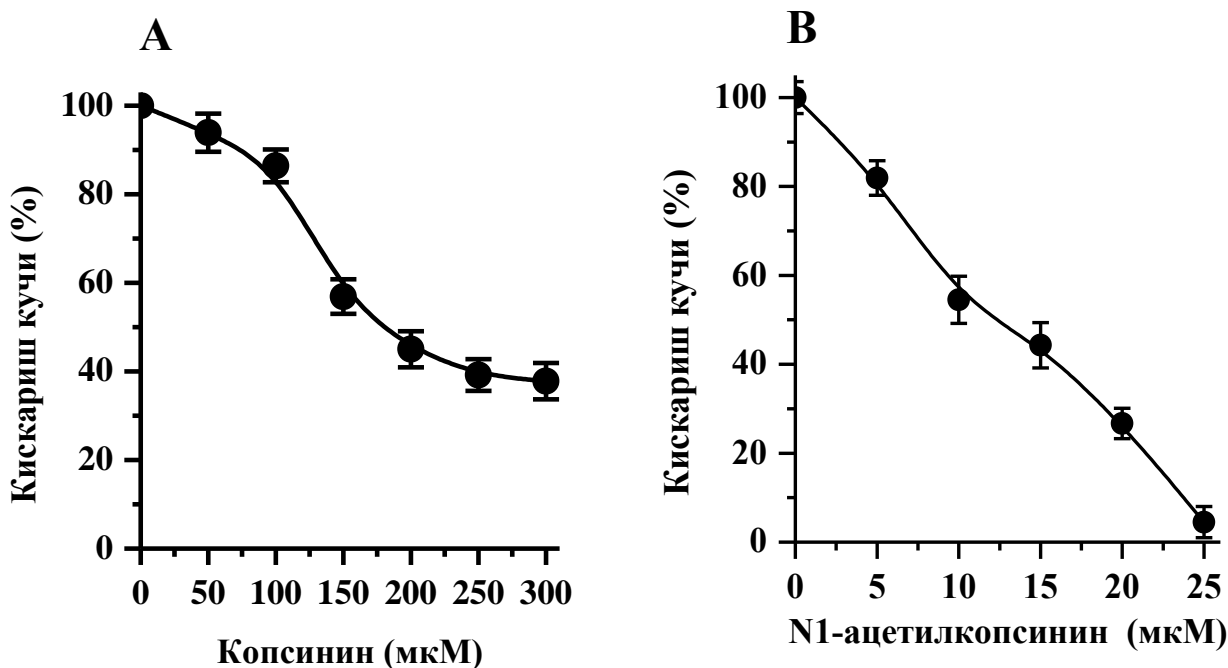
Аорта қон томир препаратини тайёрлаш стандарт услуб ёрдамида амалга оширилди [1].

Тажриба ҳайвонлари цервикал дислокация усулида жонсизлантирилгандан кейин, кўкрак қафасини жарроҳлик усулида очилиб, аорта қон томири ажратиб олинди ва Кребс–Хензелейт физиологик эритмаси муҳитида бириктирувчи тўқимадан тозаланиб, ҳалқасимон сегментлар ( $l=2-4$  мм;  $\phi=1-2$  мм) шаклида кесилди. Тажриба ячейкасида (5 мл) доимий равишда қуйидаги кимёвий таркибга эга бўлган Кребс–Хензелейт физиологик эритмаси циркуляцияланди (мМ ҳисобида): (мМ): NaCl – 120,4; KCl – 5; NaHCO<sub>3</sub> – 15,5; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,2; MgCl<sub>2</sub> – 1,2; CaCl<sub>2</sub> – 2,5; C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> – 11,5 ( $pH=7,4$ ). Физиологик эритма карбоген (O<sub>2</sub>–95% ва CO<sub>2</sub>–5%) билан аэрацияланди, ҳарорат доимийлиги ( $t=+37\pm 0,5^{\circ}C$ ) ультратермостат (U–8; Болгария) ёрдамида таъминланди. Аорта қон томир препаратининг қисқариш фаоллиги изометрик шароитда FT–03 (Grass Instrument Co., АҚШ) куч сенсори, сигнал кучайтиргич қурилма (Grass Instrument, АҚШ) орқали Endim 621.02 самописецида (Чехия) стандарт услуб (механография) ёрдамида қайд қилинди [2, 1]. Олинган натижалар OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060–4401, АҚШ) махсус дастур пакети ёрдамида статистик қайта ишланди. Натижалар Лакин Г.Ф. (1990) томонидан келтирилган услублар ёрдамида математик–статистик қайта ишланди [3].

**Олинган натижалар ва уларнинг таҳлили.** Дастлаб биз тажрибаларимизда *Vinca erecta Regel* ўсимлигидан ажратиб олинган, индол алкалоидлари – копсинин ва N1-ацетил копсининнинг каламуш аорта қон томирининг изометрик қисқариш фаоллигига релаксанти таъсири ўрганилди. Олиб борилган тадқиқотларимизда копсинин (50–300 мкМ) алкалоиди каламуш аорта қон томирининг KCl (50 мМ) ёрдамида юзага келтирилган изометрик қисқариш фаоллигига сезиларли даражада вазорелаксанти таъсирга эгаллиги аниқланди. Жумладан, копсинин 50 мкМ концентрацияда қисқариш кучини назоратга нисбатан  $6,1\pm 3,1\%$  га камайтириши ва максимал 300 мкМ концентрацияда  $62,2\pm 4,9\%$  га камайтириши аниқланди. Бунда копсинин учун ( $EC_{50}$ ) қиймати мос равишда – 178,8 мкМ га тенглиги аниқланди (1–расм А). Шунингдек, тажрибаларимиз давомида N1-ацетил копсинин алкалоиди ҳам каламуш аорта қон томирининг KCl (50 мМ) ёрдамида юзага келтирилган изометрик қисқариш фаоллигига сезиларли даражада вазорелаксанти таъсирга эгаллиги аниқланди. Жумладан, N1-ацетил копсинин алкалоиди минимал 5 мкМ концентрацияда қисқариш кучини назоратга нисбатан  $18,1\pm 3,3\%$  га камайтириши ва максимал 25 мкМ концентрацияда  $95,5\pm 4,0\%$  га камайтириши аниқланди (1–расм В). Ушбу шароитда N1-ацетил копсинин алкалоидининг ярим максимал таъсир концентрацияси  $EC_{50} = 12,4$



мкМ ни ташкил қилди ва каламуш аорта силлиқ мускул препарати қисқариш фаоллигини  $50,2 \pm 3,6\%$  га сусайтириши



аниқланди.

***1-расм. Копсинин (А) ва N1-ацетил копсинин (В) алкалоидларининг аорта препаратиди KCl (50.мМ) ёрдамида юзага келтирилган қисқаришга концентрацияга боғлиқ вазорелаксант таъсири.***

Ордината ўқида – аорта қисқариш кучи 50 мМ KCl ёрдамида юзага келтирилган қисқариш кучи 100% деб олинган. Абцисса ўқида – алкалоидларнинг концентрацияси мкМ ифодаланган. Барча ҳолатларда ишончлилик кўрсаткичи (\* –  $p < 0,05$ ;  $n=4$ ).

Олиб борилган тадқиқот натижалар шундан далолат берадики, копсинин алкалоидининг кимёвий структурасини N1 ҳолатига метилен ҳамда ацетил гуруҳини киритиш орқали ҳосил қилинган N1-ацетил копсинин алкалоидларининг гиперкалийли шароитида релаксант таъсирининг кучайишига олиб келган. Шу билан бирга, калийли контрактура шароитидаги  $IC_{50}$  қийматлари таҳлил қилинганда, копсинин алкалоидининг ҳосиласи N1-ацетил копсинин нисбатан бир неча баробар кучли релаксант фаолликка эга эканлигини аниқланди.

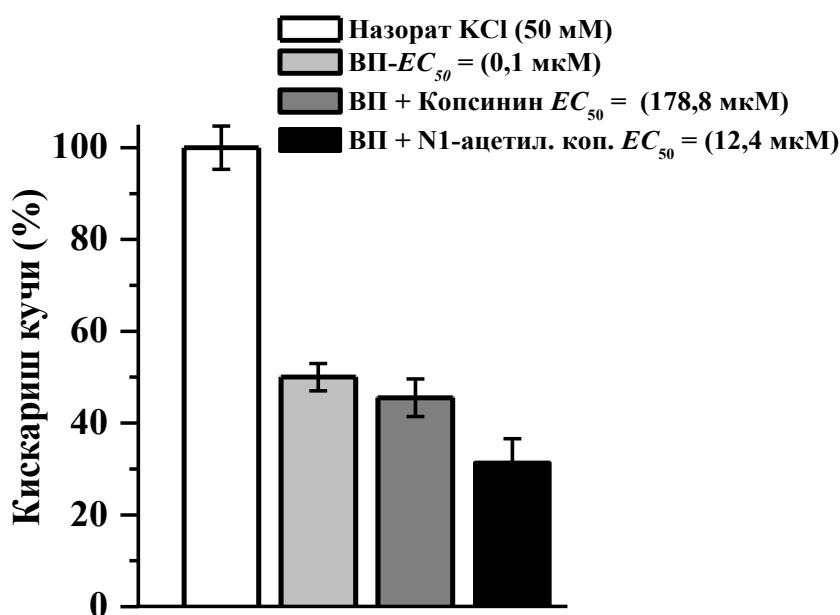
Юқорида келтирилган тажрибаларга қўшимча қилиш ва янада ойдинлик киритиш мақсадида биз копсинин ва N1-ацетил копсинин алкалоидларнинг потенциалга боғлиқ  $Ca^{2+}$  каналларига таъсирини унинг специфик блокатори - верапамил (0,01-1 мкМ) ёрдамида текшириб кўрдик.

Тажриба муҳитида верапамил ( $IC_{50} = 0,1$  мкМ) инкубацияси шароитида аорта силлиқ мускул препаратининг қисқариш кучи назоратга нисбатан  $50 \pm 3,4\%$  га камайиши кузатилиб, ушбу шароитда копсинин ( $IC_{50}=178,8$  мкМ) алкалоиди таъсирида



аорта силлиқ мускул препарати қисқариш кучи қўшимча равишда –  $4,6 \pm 3,4\%$  гача, назоратга нисбатан  $54,6 \pm 4,2\%$ га камайиши кузатилди (2-расм).

Шунингдек, тажрибаларимиз давомида N1-ацетил копсинин алкалоидининг верапамил мавжуд шароитда аорта силлиқ мускул препаратига релаксанти таъсири ўрганилганда унинг релаксанти фаоллиги  $\text{Ca}^{2+}$ -каналлари блокадаси билан боғлиқлигини аниқланди (2-расм). Бунда верапамил инкубацияси шароитида аорта силлиқ мускул препаратининг қисқариш кучи назоратга нисбатан  $50 \pm 3,4\%$  га камайириши ва ушбу шароитда N1-ацетил копсинин алкалоидининг ярим максимал концентрацияси  $12,4 \text{ мкМ}$  ( $IC_{50}$ ) қисқариш кучи амплитудасини верапамил мавжуд шароитга нисбатан қўшимча равишда  $18,8 \pm 5,2\%$ га сусайтириши қайд қилинди.



**2-расм. Копсинин ва N1-ацетил копсинин алкалоидларининг релаксанти таъсирини потенциалга-боғлиқ L-тип  $\text{Ca}^{2+}$ -каналлари ҳолатига боғлиқлиги.**

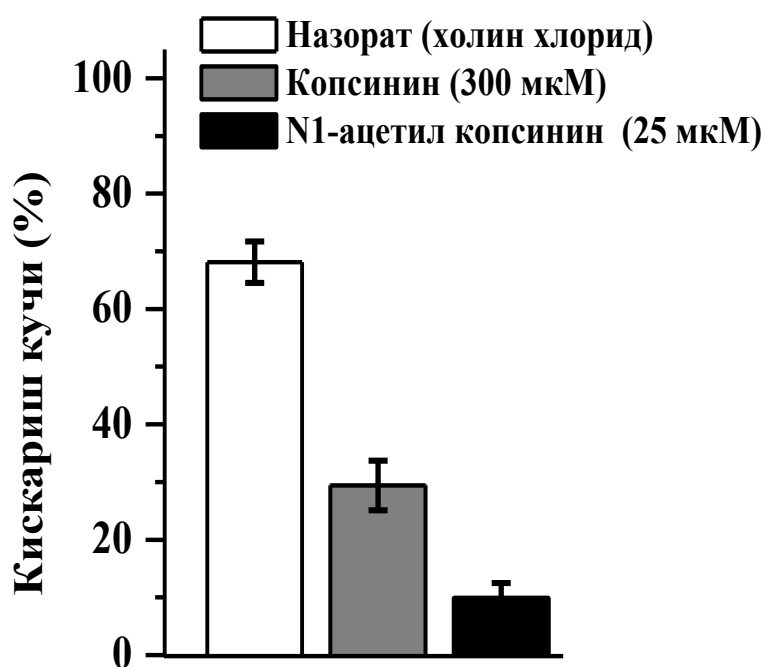
верапамил ( $0,1 \text{ мкМ}$ ) мавжуд шароитда  $50 \text{ мМ}$  KCl ёрдамида чақирилган мускул қисқаришига копсинин ва N1-ацетил копсининнинг релаксанти таъсири (барча ҳолатларда ишончлилиги кўрсаткичи \* –  $p < 0,05$ ;  $n=4$ ).

Ўтказилган тажриба натижалари ушбу алкалоидларнинг релаксанти таъсири  $\text{Ca}^{2+}$ -каналлари блокадаси билан боғлиқлигини кўрсатади, шу билан бирга N1-ацетил копсинин ( $IC_{50}=12,4 \text{ мкМ}$ ) алкалоиди верапамил таъсирини қўшимча равишда камайириши ушбу алкалоиднинг  $\text{Ca}^{2+}$ -каналлари блокадасидан ташқари қўшимча таъсир механизмига эга эканлигини кўрсатади.

Адабиётлардан маълумки аорта қон томири силлиқ мускул хужайрасида нормал физиологик ҳолатда  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи тизим  $\text{Na}^+$  ионларини хужайрага киритиб,  $\text{Ca}^{2+}$  ионларини хужайра ташқарисига чиқарувчи асосий тизим ҳисобланади [4].



Шунингдек, бундан ташқари нофизиологик ҳолатларда  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашувчи тизимнинг тесқари режимда ишлаши натижасида  $\text{Ca}^{2+}$  ионларининг ҳужайра ичкарасига кириши  $\text{Ca}^{2+}$  концентрациясини меъёридан ортиб кетишига олиб келади. [5]. Юқорида келтирилган маълумотлар асосида кейинги тажрибалармизда, копсинин ва N1-ацетил копсинин алкалоидларининг релаксат таъсирини амалга ошишида  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмаштирувчи тизимнинг иштрокини баҳолаш учун  $\text{Na}^+$  ионларисиз Кребс эритмаси билан инкубатцияланган аорта қисқаришларига таъсири текширилди. Тажриба мухитида Кребс эритмаси таркибидаги NaCl ни эквимоляр холинхлоридга алмаштириш орқали мухитда верапамил 10 мкМ мавжуд шароитда аорта қисқариши  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  алмашувчи тизимнинг тесқари режимда ишлаши орқали цитозолга кириб келувчи  $\text{Ca}^{2+}$  ионлари ҳисобига амалга ошади. Ушбу шароитда холин хлорид ёрдамида чақирилган қисқариш кучи  $68,1 \pm 3,6\%$  ни ташкил қилди. Ушбу тажрибада дастлаб аорта мускулида 1 мкМ ФЭ билан қисқариш чақирилиб, ундан сўнг нормал Кребс эритмаси билан ювиб ташланади ва холин хлорли эритмага алмаштирилади. Аорта препарати  $\text{Na}^+$  миқдори камайтирилган эритма билан 25-30 дақиқа давомида ювилгандан сўнг мускул қайтадан қисқаради. Қисқариш юқори поғонага етганда копсинин (300 мкМ) ва N1-ацетил копсинин (25 мкМ) алкалоидларининг аорта силлиқ мускули қисқаришига таъсирини кузатганимизда қисқариш кучини назоратга нисбатан  $70,6 \pm 4,3\%$  ва  $90,1 \pm 4,7\%$ га камайтириши кузатилди (3-расм).



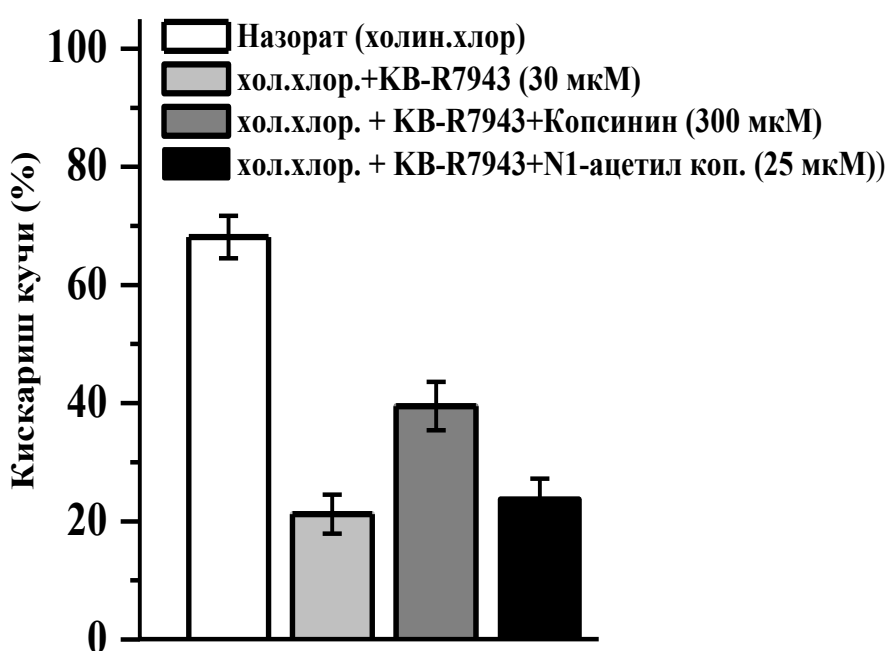
**3-расм. Копсинин ва N1-ацетил копсинин алкалоидларини  $\text{Na}^+$ -ионларисиз Кребс эритмаси билан чақирилган каламуш аортаси қисқариш кучига таъсири.**

$\text{Na}^+$ -ионлари мавжуд бўлмаган Кребс эритмаси билан модификациялаш натижасида чақирилган каламуш аортаси қисқариш кучига Копсинин (300 мкМ) ва N1-



ацетил копсинин (25 мкМ) алкалоидларини таъсири. Ордината ўқида – эритмада  $\text{Na}^+$ -ионларисиз индукцияланган аорта қисқариш кучи 100% деб олинган. (барча ҳолатларда ишончлилик кўрсаткичи \* $p < 0,05$ ;  $n=4$ ).

Юқоридаги тажрибаларга янада ойдинлик киритиш мақсадида биз  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи тизим махсус блокатори – KB-R7943 мавжуд шароитда алкалоидларнинг таъсирини кузатдик. Ўтказилган тажрибаларимизда KB-R7943 аорта мускули қисқаришига дозага боғлиқ ҳолда таъсири кузатилиб, 30 мкМ концентрацияда аорта қисқаришини назоратга нисбатан максимал 46,9±4,4%га камайтирди. Шу шароитда копсинин (300 мкМ) ва N1-ацетил копсинин (25 мкМ) алкалоидларининг аорта силлиқ мускули қисқаришига таъсирини кузатганимизда қисқариш кучини сезиларли даражада камайтириши кузатилди (4-расм).



**4-расм. Копсинин ва N1-ацетил копсинин алкалоидларини  $\text{Na}^+$ -ионларисиз Кребс эритмаси билан чақирилган аорта мускул қисқаришига муҳитда KB-R7943 мавжуд шароитда релаксант таъсири.**

$\text{Na}^+$ -ионларисиз эритма билан чақирилган аорта мускул қисқариши 100% деб олинган. (барча ҳолатларда ишончлилик кўрсаткичи \* $p < 0,05$ ;  $n=4$ ).

Олинган тажриба натижаларининг таҳлили шундан далолат берадики, копсинин ва N1-ацетил копсинин алкалоидларининг  $\text{Na}^+$  ионларисиз чақирилган аорта мускули қисқаришига муҳитда KB-R7943 мавжуд шароитда релаксант таъсирини сақланиб қолиши, лекин ушбу кўрсаткич KB-R7943 иштирокисиз олинган натижага қараганда анча кам эканлиги яна бир бор ушбу алкалоидларни  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -алмашинувчи тизим билан ўзаро таъсирлашиб, ушбу тизим орқали ҳужайрага  $\text{Ca}^{2+}$  ионларини киришини камайтиришидан далолат беради.



## Хулосалар

Олиб борилган тадқиқот натижалари асосида шуни хулоса қилиш мумкинки, копсинин алкалоидининг кимёвий структурасини N1 ҳолатига ацетил гуруҳини киритиш орқали ҳосил қилинган N1-ацетил копсинин алкалоидларининг гиперкалийли шароитида релаксанти таъсирининг кучайишига олиб келган. Шунингдек, калийли контрактура шароитидаги IC<sub>50</sub> қийматлари таҳлил қилинганда, копсинин алкалоидининг ҳосиласи N1-ацетил копсинин нисбатан бир неча баробар кучли релаксанти фаолликка эга эканлигини аниқланди. Копсинин алкалоидининг кимёвий структурасини N1 ҳолатига ацетил гуруҳини киритиш йўли билан N1-ацетил копсинин структурасини модификациялаш, уларнинг ҳосилалари релаксанти фаоллигини сезиларли кучайишига олиб келган.

Ўрганилаётган алкалоидларни потенциалга боғлиқ Ca<sup>2+</sup>-каналига таъсирини унинг спесифик блокатори - верапамил билан ўтказган тажрибаларимиз исботлайди. Ўрағнилаётган алкалоидларнинг верапамил мажуд шароитда релаксанти таъсирини камайиши ушбу алкалоидларнинг Ca<sup>2+</sup>-канални блокадаси билан боғлиқ эканлигини кўрсатади. Аммо верапамил мажуд шароитда тадқиқ қилинаётган алкалоиднинг релаксанти таъсирининг сақланиб қолиши, Ca<sup>2+</sup>-каналларини блокадаси билан бир каторда, силлиқ мускул хужайраларидаги бошқа Ca<sup>2+</sup>-транспорт тизимларига таъсири мажуд эканлигидан далолат беради.

Кейинги олиб борилган тажриба натижаларимиз таҳлили Na<sup>+</sup> ионларисиз Кребс эритмаси билан инкубатцияланган аорта мускули қисқариш кучини ўрганилаётган алкалоидлар таъсирида бир хил қийматларда камайиши ушбу алкалоидларнинг релаксанти таъсири Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>-алмашинувчи тизим орқали хужайрага кирувчи Ca<sup>2+</sup>-ионларини блокаши билан амалга ошишини тасдиқлайди.

## АДАБИЁТЛАР:

1. Zhang D. Hydroperoxide-induced oxidative stress in the arterial wall: Pharmacological characterization of the effects on arterial contractility // Dissertation. – Der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen zur Erlangung des Grades eines doktors. – 2007. – P.110.
2. 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.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия // Москва. – Изд – во «Высшая школа». – 1990. – С.23–284.
4. Blaustein M., Lederer W.J. Sodium/calcium exchange: its physiological implications // Physiol. Rev. – 1999. – V. 79. – P. 763-854.
5. Ashida T., Blaustein M. Regulation of cell calcium and contractility in mammalian arterial smooth muscle: the role of sodium-calcium exchange // J. Physiol. – 1987. – V.392. – P.617–635. Nabel E.G., Berk B.C., Brock T.A., Smith T.W. Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>-exchange in cultured vascular smooth muscle cells // Circ. Res. – 1988. – V.62. – P.486–493.