

VINCE ERECTA ЎСИМЛИК ТУРИДАН АЖРАТИБ ОЛИНГАН КОПСИНИН ВА N1-АЦЕТИЛ КОПСИНИН АЛКАЛОИДЛАРИНИ АОРТА СИЛЛИҚ МУСКУЛИНИНГ САРКОПЛАЗМАТИК РЕТИКУЛУМ Ca^{2+} -ТАШИШ ТИЗИМЛАРИГА ТАЪСИРИ

Г.Х.Абдурасулова

АДТИ академик лицейи биология фани Олий тоифали ўқитувчиси

Мақолада *Vince erecta Regel* ўсимлик туридан ажратиб олинган индол алкалоидларининг фармакологик фаоллигини тахлили бўйича маълумотлар келтирилган.

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

В статье представлены сведения об анализе фармакологической активности индольных алкалоидов, выделенных из растения *Vinca erecta Regel*.

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

The article provides information on the analysis of the pharmacological activity of indole alkaloids isolated from the plant *Vince erecta Regel*.

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

Кириш. Жахоннинг етакчи илмий тадқиқот марказларида қон томир тизими касалликларини олдини олиш ва даволаш мақсадида фармакологик препаратлар ишлаб чиқариш йўналишида ўсимликлардан ажратиб олинган алкалоидлар истиқболли манбалар ҳисобланиши тасдиқланган. Ушбу алкалоидларнинг асосий потенциал манбаларидан бири *Vinca erecta Regel* ўсимлигидан ажратиб олинган алкалоидларнинг кенг спектрда фармакологик фаолликка эгаллиги аниқланган. Бу йўналишдаги илмий тадқиқотларни изчил давом эттириш, илмий-амалий нуқтаи назардан долзарб аҳамиятга эга ҳисобланади.

Бугунги кунда Республикамизда фармацевтика саноатининг динамик ва барқарор ривожланишини таъминлашга йўналтирилган бир қатор қарор ва дастурлар қабул қилинган. Ушбу меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда маҳаллий ўсимлик хомашёси асосида ишлаб чиқарилган сифатли ва хавфсиз дори воситалари билан таъминлашга алоҳида эътибор қаратилмоқда.

Тадқиқот мақсади *Vinca erecta Regel* ўсимлигидан ажратиб олинган – копсинин, N1-ацетил копсинин индол алкалоидлари ва уларнинг релаксат таъсирини ўзига хослиги, уларнинг кимёвий структурасига боғлиқлиги ва буни таъминлашда аорта препарати силлиқ мусул ҳужайралари Ca^{2+} - транспорт тизимларининг ролини таҳлил 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].

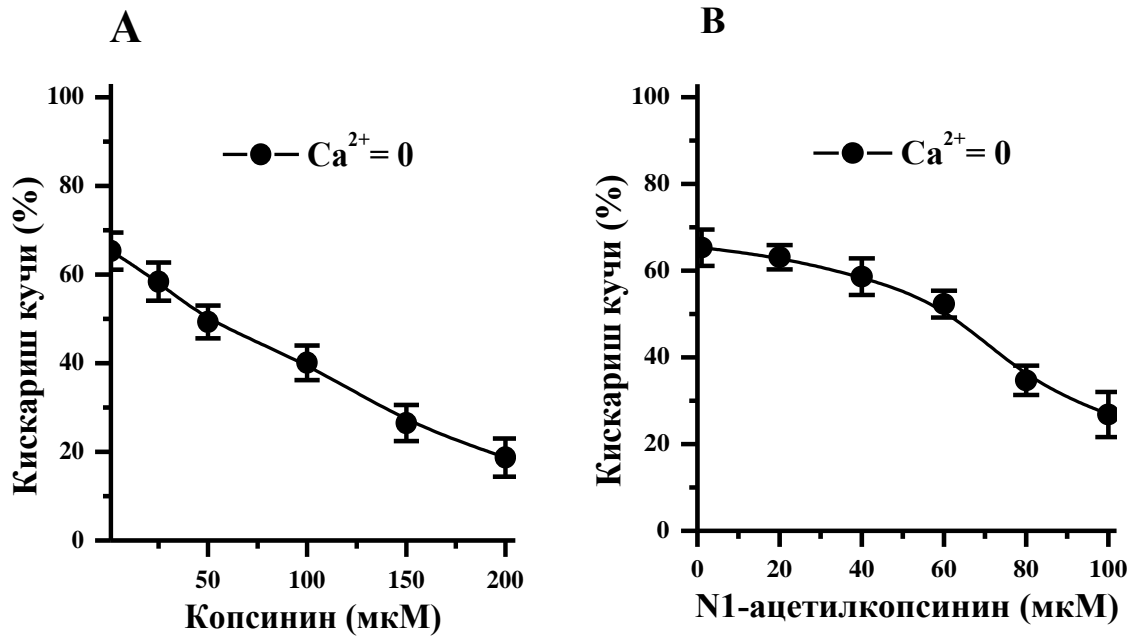
Тажриба ҳайвонлари цервикал дислокация усулида жонсизлантирилгандан кейин, кўкрак қафасини жарроҳлик усулида очилиб, аорта қон томири ажратиб олинди ва Кребс–Хензелейт физиологик эритмаси муҳитида бириктирувчи тўқимадан тозаланиб, ҳалқасимон сегментлар ($l=2-4$ мм; $\varnothing=1-2$ мм) шаклида кесилди. Тажриба ячейкасида (5 мл) доимий равишда қуйидаги кимёвий таркибга эга бўлган Кребс–Хензелейт физиологик эритмаси циркуляцияланди (мм ҳисобида): (мм): NaCl – 120,4; KCl – 5; NaHCO₃ – 15,5; NaH₂PO₄ – 1,2; MgCl₂ – 1,2; CaCl₂ – 2,5; C₆H₁₂O₆ – 11,5 (pH=7,4). Физиологик эритма карбоген (O₂–95% ва CO₂–5%) 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. Аорта силлиқ мускул ҳужайраларида IP₃R медиатор, гормонлар ва бошқа агентлар таъсирида саркоплазматик ретикулумдан Ca^{2+} -ионларини ажралиб чиқишида асосий ўрин тутди. Аорта силлиқ мускул ҳужайраларида IP₃R муҳим функцияни бажариши сабабли, унинг фаоллигини

бошқаришда турли ҳужайраичи ва омилар иштирок этади. Жумладан, IP_3R нинг фаоллиги ҳужайраичи Ca^{2+} -ионлар концентрациясига жуда боғлиқ бўлиб, 300нМ гача бўлган концентрацияларда тезлаштиради, катта концентрацияларда эса – уни ингибирлайди [4]. Бу хусусиятлари сабабли IP_3R қайта алоқа механизми билан таъминланган бўлиб, CP дан IP_3R орқали Ca^{2+} ажралиб чиқишини ионларнинг ўзи бошқарадилар. Шу билан бирга, IP_3R нинг фаоллиги ҳужайрадаги АТФнинг даражаси билан боғлиқ бўлиб, ҳужайрадаги АТФнинг миқдори 100 мкМ гача тушганида у фаоллашади, юқори концентрацияларда эса – ингибирланади [5].

Биз тажрибаларимизда ўрганилаётган алкалоидларни IP_3R га таъсирини текшириш мақсадида ФЭ ёрдамида чақирилган аорта мускули қисқаришига таъсирини текшириб кўрдик. Кребс эритмаси таркибида Ca^{2+} -ионларисиз шароитда ФЭ таъсирида аорта мускули қисқаради. Ушбу ҳолатда қисқариш саркоплазматик ретикулумдан IP_3R орқали чиқаётган Ca^{2+} -ионлари ҳисобидан амалга ошади.

Олиб борган тажрибаларимизда Кребс эритмаси таркибида Ca^{2+} -ионларисиз шароитда фенилэфрин 1 мкМ концентрациясида аорта қисқариш кучини Кребс эритмаси таркибида $Ca^{2+}=2,5$ мМ мавжуд қисқаришга нисбатан $65,3\pm 4,2\%$ га тенг бўлган қисқариш кузатилди. Бу ҳолатда қисқариш фақат IP_3R дан чиқаётган Ca^{2+} -ионлари ҳисобига вижудга келади. Шу муҳитда копсинин ва N1-ацетил копсинин копсинин алкалоидларнинг таъсири текширилганда қисқариш кучини дозага боғлиқ ҳолатда камайтириши кузатилди. Копсининнинг максимал таъсири концентрацияси 200 мкМ да қисқариш кучини $18,7\pm 3,1\%$ га (1-расм А), N1-ацетил копсинин 100 мкМ концентрацияда $26,8\pm 5,2\%$ гача (1-расм В) камайтириши кузатилди.

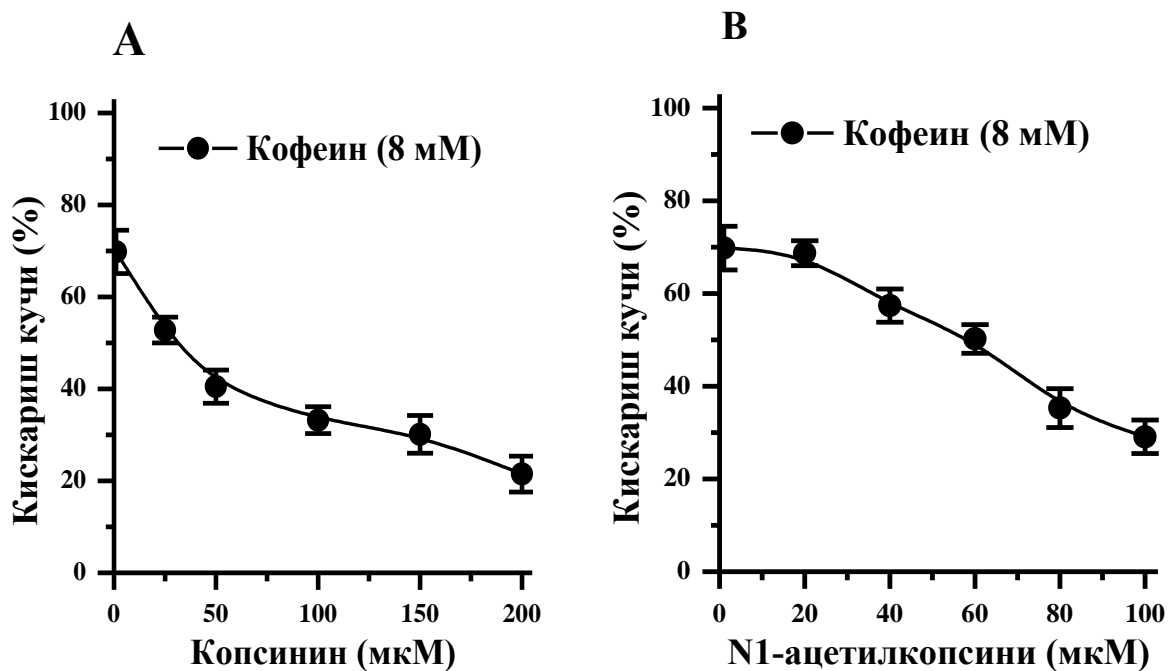


1-расм. Копсинин (А) ва N1-ацетил копсинин (В) Кребс эритмаси таркибида $Ca^{2+}=0$ ҳолатида ФЭ ёрдамида чақирилган аорта мускули қисқаришига дозага боғлиқ таъсири. Кребс эритмасида $Ca^{2+}=2,5$ мМ мавжуд ҳолатда ФЭ (1 мкМ) ёрдамида чақирилган аорта қисқариши назорат сифатида 100% деб олинган (барча ҳолатларда ишончлилик кўрсаткичи $*p<0,05$; $n=4$).

Ўтказилган тажрибалар таҳлили шундан далолат берадики, копсинин N1-ацетил копсинин алкалоидларининг Кребс эритмаси таркибида Ca^{2+} -сиз шароитда фенилэфрин ёрдамида чақирилган аорта мускули қисқаришига релаксант таъсирини сақланиб қолиши ушбу алкалоидларнинг саркоплазматик ретикулум IP₃R орқали Ca^{2+} ионлари чиқишига таъсири билан изоҳлашимиз мумкин.

Аорта қон томир силлиқ мускули ҳужайраларида саркоплазматик ретикулум RyR Ca^{2+} -ионларни ажралиб чиқишини таъминловчи каналлардан бири ҳисобланади. Тажрибаларимиз давомида алкалоидларининг саркоплазматик ретикулумдан Ca^{2+} -ионларини чиқишига таъсирини ўрганиш мақсадида RyRнинг маҳсус активатори-кофеиндан фойдаландик. Маълумки, кофеин RyR орқали Ca^{2+} -ионларини цитозолга чиқишини таъминлаб, силлиқ мускул ҳужайрасида

қисқаришни вижудга келтиради ва бу қисқариш саркоплазматик ретикулумда барча Ca^{2+} -ионларининг миқдорини кўрсатиб беради. Ўтказилган тажрибаларимизда кофеин 8 мМ концентрацияда назоратга нисбатан $69,8 \pm 4,7\%$ тенг бўлган қисқаришни вижудга келтириши аниқланди. Аорта мускулида кофеин (8 мМ) таъсирида ҳосил бўлган қисқаришга копсинин ва N1-ацетил копсинин алкалоидларининг дозага боғлиқ таъсири кузатилди. Копсинин 200 мкМ концентрацияда аорта мускули қисқаришини назоратга нисбатан $21,5 \pm 3,9\%$ га камайтирган бўлса (2-расм А), N1-ацетил копсинин алкалоидининг 100 мкМ концентрацияси таъсирида қисқариш кучи назоратга нисбатан $29,1 \pm 3,6\%$ га камайиши кузатилди (2-расм В).

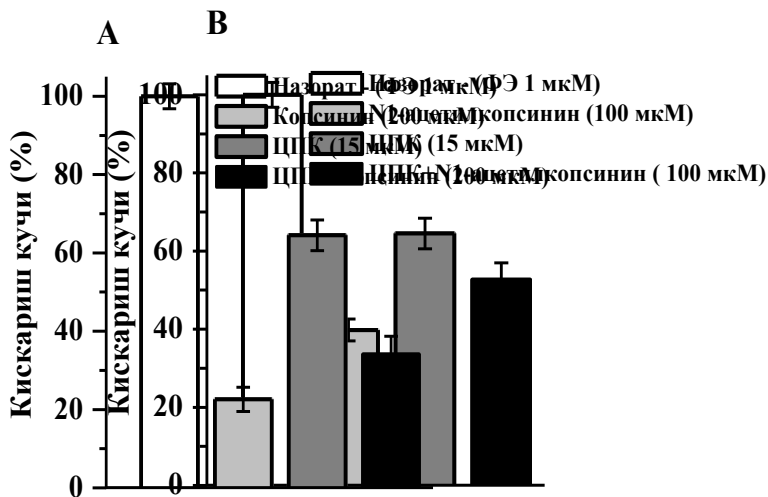


2-расм. Копсинин (А) ва N1-ацетил копсинин (В) алкалоидларининг кофеин билан чақирилган каламуш аортаси қисқаришига дозага боғлиқ релаксат таъсири. ФЭ 1 мкМ ёрдамида чақирилган аорта қисқариши назорат сифатида 100% деб олинган (барча ҳолатларда ишончлилиқ кўрсаткичи * $p < 0,05$, $n=3$).

Ўтказилган тажриба натижалари таҳлиliga кўра, биз ўрганаётган алкалоидларнинг аорта мускулига релаксат таъсири саркоплазматик ретикулум RyR орқали Ca^{2+} -ионларини чиқишини сусайтириши билан боғлиқ эканлигини кўрсатади. Ушбу алкалоидлар таъсирида саркоплазматик ретикулумдан Ca^{2+} -ионларини чиқишини сусайиши силлиқ мускул ҳужайралари цитозолида Ca^{2+} -ионлари миқдорини камайишига сабаб бўлади, бу ҳолат аорта мускули қисқариш кучини

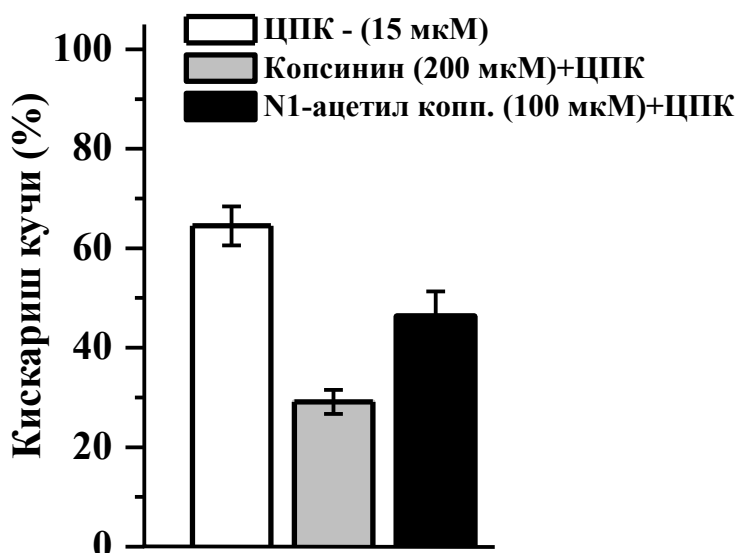
камайтиради. Олиб борилган тажриба натижалари, копсинин ва N1-ацетил копсинин алкалоидларини аорта мускули қисқаришига релаксат таъсири, уларнинг саркоплазматик ретикулумдан Ca^{2+} -ионларини чиқишини камаййтириши билан боғлиқ бўлиб, бу беъвосита ўрганилаётган алкалоидларни релаксат таъсирини вижудга келтиради.

Аорта силлиқ мускулининг саркоплазматик ретикулум Ca^{2+} -АТФазаси насос вазифасини бажариб, Ca^{2+} ионларини цитоплазмадан саркоплазматик ретикулумга йиғиб олади ва шу орқали силлиқ мускул ҳужайрасидаги Ca^{2+} -ионлари миқдорини пасйитириб туради [6]. Шу билан барча мускуларда саркоплазматик ретикулумнинг Ca^{2+} -АТФазаси цитоплазмадан Ca^{2+} ионлар чиқиб кетишини таъминловчи асосий механизм бўлиб хизмат қилади. Аорта силлиқ мускл ҳужайраларида Ca^{2+} -ионларини саркоплазматик ретикулумга йиғилишини таъминлашда ва Ca^{2+} -гомеостазини сақлашда Ca^{2+} -АТФазаси асосий рол ўйнайди [7]. Биз кейинги тажрибаларимизда Ca^{2+} -ионларни саркоплазматик ретикулумга йиғиб олинишига копсинин ва N1-ацетил копсинин алкалоидларини таъсирини Ca^{2+} -АТФаза тизими блокатори - циклопиазон кислота (ЦПК) ёрдамида чақирилган аорта мускули қисқаришига таъсирини кузатдик. Аорта силлиқ мускули ҳужайраларида ЦПК саркоплазматик ретикулум Ca^{2+} -АТФаза тизимини блоклаб, саркоплазматик ретикулумга Ca^{2+} -ионларини йиғиб олинишини тўхтатади ва ушбу ҳолат ҳужайра цитозолида Ca^{2+} -ионлари миқдорини ортишига сабаб бўлади. Бу эса аорта силлиқ мускулининг қисқаришига сабаб бўлади [8]. Ушбу фикрларга асосланиб копсинин ва N1-ацетил копсинин алкалоидларини саркоплазматик ретикулум Ca^{2+} -АТФаза тизимига таъсирини текшириш учун биз унинг блокатори ЦПКдан фойдаландик. ЦПК (15 мкМ) таъсирида аорта мускули қиқариш кучи ФЭ (1мкМ) ёрдамида чақирилган аорта мускули қисқаришига нисбатан $64,5 \pm 3,9\%$ ни ташкил этди. Ушбу шароитда копсинин ва N1-ацетил копсинин алкалоидларининг максимал релаксат таъсирини камайиши кузатилди (3-расм А ва В).



3-расм. Копсинин (А) ва N1-ацетил копсинин (В) алкалоидларининг циклопиазин кислотаси мавжуд шароитда аорта мускули қисқаришига релаксат таъсири. ФЭ (1 мкМ) ёрдамида чақирилган аорта қисқариши назорат сифатида 100% деб олинган (барча ҳолатларда ишончлилик кўрсаткичи $**p < 0,05$; $n=4$).

Олиб борилган тажриба натижаларининг тахлили асосида шуни хулоса қилиш мумкинки, биз ўрганаётган алкалоидларнинг аорта силлиқ мускули қисқаришига релаксат таъсири камайиши Ca^{2+} -АТФаза тизимининг блокланиши натижасида Ca^{2+} -ионларининг саркоплазматик ретикулумга йиғиб олинишини тормозланиши натижасида амалга ошади. Бу фикримизни юқорида олиб борган тажрибаларимиз исботлайди. Ушбу фикримизга қўшимча қилиш мақсадида тажрибада аорта мускули препаратига ўрганилаётган алкалоидларни олдиндан инкубация қилиб, ЦПК ёрдамида қисқариш чақириб алкалоидларни релаксат таъсир эффедини ўргандик. Ўтказилган тажрибаларимизда копсинин (200 мкМ) ва N1-ацетил копсинин (100 мкМ) алкалоидларининг инкубатцияси шароитида ЦПК ёрдамида чақирилган аорта мускули қисқариш кучининг камайиши аниқланган (4-расм). Бу натижалар шундан далолат берадики, алкалоидлар мавжуд шароитда ЦПК таъсирида юзага келган аорта силлиқ мускули қисқариш кучини камайиши силлиқ мускул ҳужайраларининг цитозолида Ca^{2+} -ионлари миқдорини ортишини кўрсатади. Тажрибада ЦПК ёрдамида чақирилган аорта қисқариши $64,5 \pm 3,9\%$ ни ташкил қилган бўлса, алкалоидлар мавжуд шароитда ушбу кўрсаткич бир неча бараварга камайганлиги кузатилди.



4-расм. Инкубация муҳитида копсинин ва N1-ацетил копсинин алкалоидлари мавжуд шароитда циклопиазон кислота ёрдамида чақирилган аорта мускули қисқариши. Копсинин (200 мкМ) ва N1-ацетил копсинин (100 мкМ) алкалоидлари мавжуд шароитда ЦПК ёрдамида чақирилган аорта қисқариши. Мускул қисқариш кучи назорат сифатида 100% деб олинган (барча ҳолатларда ишончлилик кўрсаткичи * $p < 0,05$; $n=4$).

Олиб борилган тажриба натижаларининг таҳлили асосида шундай ҳулоса қилишимиз мумкинки, саркоплазматик ретикулум Ca^{2+} -АТФаза тизимини ЦПК билан блокраниши силлиқ мускул ҳужайраларида Ca^{2+} -ионларини миқдорини ошишига олиб келади, бу жараён ўз навбатида аорта силлиқ мускулида қисқаришни вижудга келтиради. Ўрганилаётган алкалоидларнинг аорта силлиқ мускули қисқаришига релаксат таъсири саркоплазматик ретикулумда Ca^{2+} -ионлари миқдорини камайтириши билан изоҳланади.

Хулосалар

Олиб борилган тадқиқот натижаларининг таҳлиliga кўра, ўрганилаётган алкалоидларнинг аорта мускулига релаксат таъсири саркоплазматик ретикулум RyR орқали Ca^{2+} -ионларини чиқишини сусайтириши билан боғлиқ эканлигини кўрсатади. Ушбу алкалоидлар таъсирида саркоплазматик ретикулумдан Ca^{2+} -ионларини чиқишини сусайиши силлиқ мускул ҳужайралари цитозолида Ca^{2+} -ионлари миқдорини камайишига сабаб бўлади, бу ҳолат аорта мускули қисқариш кучини камайтиради. Юқорида ўтказилган тажриба натижаларидан шуни ҳулоса қилиш мумкинки, копсинин ва N1-ацетил

копсинин алкалоидларини аорта мускули қисқаришига релаксанти таъсири, уларнинг саркоплазматик ретикулумдан Ca^{2+} -ионларини чиқишини камайтириши билан боғлиқ бўлиб, ушбу ҳолат ўрганилаётган алкалоидларни релаксанти таъсирини вижудга келтирди.

Ўтказилган тажрибалар копсинин алкалоидининг аорта силлиқ мускули қисқаришларига релаксанти таъсири силлиқ мускул плазмолеммасида жойлашган рецепорга боғлиқ Ca^{2+} -канални ва шунингдек, саркоплазматик ретикулум Ca^{2+} -каналининг блоканиши орқали амалга оширидан далолат беради. Бу фикримизни исботи сифатида биз юқорида ўтказилган Кребс эритмаси таркибида Ca^{2+} -сиз шароитда фенилэфрин ёрдамида чақирилган аорта мускули қисқаришига релаксанти таъсирини сақланиб қолиши ушбу алкалоиднинг саркоплазматик ретикулум IP_3R орқали Ca^{2+} -ионлари чиқишига таъсири билан изоҳлашимиз мумкин.

Шу билан бирга олиб борилган тажрибаларимиз натижалари N1-ацетил копсинин алкалоидларининг аорта мускули қисқаришларига релаксанти таъсири асосан плазмолеммада жойлашган потенциалга боғлиқ Ca^{2+}_L -канални ва саркоплазматик ретикулум RyR орқали Ca^{2+} -ионларини цитозолга чиқишига таъсири билан боғлиқлигини кўрсатади. Ушбу фикримизни гиперкалийли эритма билан ва кофеин ёрдамида чақирилган аорта мускули қисқаришига алкалоидни кўрсатган релаксанти таъсир самараси билан изоҳлашимиз мумкин.

Биз ўрганган алкалоидларнинг аорта мускули қисқаришига релаксанти таъсири Ca^{2+} -ионларининг саркоплазматик ретикулумга йиғилишини модификацияси билан боғлиқ бўлиши мумкин, саркоплазматик ретикулум Ca^{2+} -АТФаза тизимини ЦПК билан блоканиши силлиқ мускул ҳужайраларида Ca^{2+} -ионларини миқдорини ошишига олиб келади, бу жараён ўз навбатида аорта силлиқ мускулида қисқаришни вижудга келтиради. Биз ушбу ўтказилган тажриба натижаларини таҳлилидан ўрганилаётган алкалоидларнинг аорта силлиқ мускули қисқаришига релаксанти таъсири саркоплазматик ретикулумда Ca^{2+} -ионлари миқдорини камайтириши билан боғлиқ бўлиши мумкин деган хулосага келдик.

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–Karl–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. 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.

5. **Webb C.** Smooth muscle contraction and relaxantion // *Advan. Physiol. Edu.* –2003. –V. 27. –P. 201-206.

6. 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.

7. Floyd R., Wray S. Calcium transporters and signalling in smooth muscles // *Cell Calcium.* – 2007. – V.42(45). – P. 467-476.

8. Nobel D., Borisova L., Wray S., Burdyga T. Store-operated Ca^{2+} entry and depolarization explain the anomalous behaviour of myometrial SR: Effects of SERCA inhibition on electrical activity, Ca^{2+} and force // *Cell Calcium.* – 2014. – V.56(3). – P. 188-194.