



UDK: 577.112.7

Nuriddin SOLIYEV,
NamDU tayanch doktoranti
E-mail: nuriddinsoliyev449@gmail.com
Saxiba MADRAXIMOVA,
O'zRFA Bioorganik kimyo instituti stajyor-tadqiqotchisi
E-mail: madrakhimovasaxiba86@gmail.com
Gulbohor ABDULLAYEVA,
TDTU v.b.professori, b.f.d.
E-mail: Gulbahor79@rambler.ru
Muzaffar ASRAROV,
O'zMU xuzuridagi Biofizika va biokimyo instituti professori, b.f.d.
Abdulla ARIPOV,
NamDU Fiziologiya kafedrasida professori b.f.n
E-mail: aripov-abdulla@mail.ru.

B.f.n., dotsent K.K.Nazarov taqrizi asosida

EFFECT OF PF-4 EXTRACT ISOLATED FROM THE LEAVES OF *CYDONIA OBLONGA* (QUINCE) ON THE STATE OF THE MITOCHONDRIAL MEMBRANE

Abstract

This article conducted screening studies of medicinal properties based on the effect of polyphenol extracts isolated from the leaves of *Cydonia Oblong* (Quince) on the state of the mitochondrial membrane. Studies have shown that polyphenol extracts extracted from the leaves of *Cydonia Oblong* (Quince) have a correctional effect on the state of the mitochondrial membrane, demonstrating antioxidant and membranous properties.

Keywords: *Cydonia Oblong* (Quince) mitochondria, membrane, LPO, antioxidant, antiradical.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ПФ-4 ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ЛИСТЬЕВ *CYDONIA OBLONG* (АЙВА) НА СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ МЕМБРАНЫ

Аннотация

В данной статье были проведены скрининговые исследования лекарственных свойств, основанные на влиянии полифенольных экстрактов, выделенных из листьев *Cydonia Oblong* (Айва), на состояние митохондриальной мембраны. Исследования показали, что полифенольные экстракты, извлеченные из листьев *Cydonia Oblong* (Айва), оказывают корректирующее действие на состояние митохондриальной мембраны, демонстрируя антиоксидантные и мембранные свойства.

Ключевые слова: митохондрии *Cydonia Oblong* (Айва), мембрана, ПОЛ, антиоксидант, антирадикальный.

CYDONIA OBLONG (БЕХИ) BARGLARIDAN AJRATIB OLINGAN ПФ-4 EKSTRAKTINING MITOXONDRIYA MEMBRANASI HOLATIGA TA'SIRI

Annotatsiya

Ushbu maqolada *Cydonia Oblong* (Bexi) barglaridan ajratib olingan ПФ-4 ekstraktining mitoxondriya membranasi holatiga ta'siri asosida dorivorlik xossalari skrining tadqiqotlari olib borildi. Tadqiqotlar, *Cydonia Oblong* (Bexi) barglaridan ajratib olingan ПФ-4 ekstrakti mitoxondriya membranasi holatiga korektsiyalovchi ta'sir qilib, antioksidantlik va membranafaollik xossalari namoyon qildi.

Калит сўзлар: *Cydonia Oblong* (Bexi) mitoxondriya, membrana, ЛПО, антиоксидант, антирадикал.

Kirish. O'simlik biofaol moddalaridan (BFM) farmakologik sanoatda va xalq tabobatida dorivor vosita yaratishda keng qo'llanilib kelinmoqda. Chunki, so'ngi yillarda olib borilayotgan tadqiqotlar o'simliklardan ajratib olingan BFM lar yuqori darajada fiziologik faollikga hamda keng farmakologik ta'sir mexanizmlariga ega ekanligini ko'rsatdi [5, 12, 16, 17]. Adabiyotlarda ularning antioksidantlik/antiradikalik, antigipoksik, og'riq qoldiruvchi, kardiotrop, miotik, gipoglikemik, membranani stabillash va boshqa bir qancha farmakologik xossalarga ega ekanligi keltirilgan [2, 4, 5, 13]. Maxalliy o'simliklardan ajratib olinayotgan yangi turdagi BFM larning organizmga ta'sir mexanizmlarini aniqlash, ularning dorivorlik xossalari o'rganish farmakologiya, tibbiyot va fiziologiyaning dolzarb muammolaridan biri hisoblanib, erishilgan yutuqlar aholi sog'lig'ini saqlash uchun xizmat qiladi.

Shu sababli, o'simlik BFM larining dorivorlik xossalari tavsiflashda mitoxondriya funksional subbirlklari qulay obyekt hisoblanadi.

Tadqiqotning maqsadi. *Cydonia Oblong* (Bexi) barglaridan ajratib olingan polifenol ekstraktining mitoxondriya membranasi holatiga ta'siri asosida dorivorlik xossalari tavsiflash.

Tadqiqot materiallari va usullari. Kalamush jigari mitoxondriyalari differensial sentrifugalash Schneider [22] usuli yordamida ajratib olindi. Ajratish muhiti tarkibi quyidagicha: 250 mM saxaroza, 10 mM tris-xlorid, 1 mM ЭДТА, pH 7,4.

Mitoxondriyalar membranasi JIIO jarayonini o'rganish uchun Fe^{2+} /askorbat tizimidan foydalanildi. IM tarkibi: KCl - 125 mM, tris-HCl - 10mM, pH 7,4. Konsentratsiyalar: Fe_2SO_4 - 20 mKM, askorbat - 400 mKM; mitoxondriyada oqsil miqdori 0,5-1 mg/ml ni tashkil etadi.

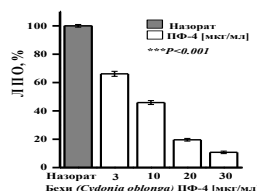
Kalamush jigar *mPTP* o'tkazuvchanligini aniqlash uchun [10] usulidan foydalanildi. Bunda, mitoxondriyalarning bo'kish (shishish) kinetikasini (0,3-0,4 mg/ml) mitoxondriyal suspenziyasining 28°C da doimo aralashtirib turgan holda optik zichligini UV-5000 spektrofotometrida 540 nm da ochiq yacheykada (hajmi 3 ml) o'zgarishi bo'yicha aniqlandi. Mitoxondriyalardagi *mPTP* ning o'tkazuvchanligini aniqlashda quyidagi inkubatsiya muhitidan foydalanildi: 200 mM saxaroza, 20 mKM ЭГТА, 5 mM suksinat, 2 mKM rotenon, 20 mM Tris, 20 mM HEPES va 1 mM KH_2PO_4 , pH 7,4 [19].

Olingan natijalar va ular tahlili. O'simlik BFM larining dorivorlik xususiyatini o'rganish *in vitro* tadqiqotlari sharoitida olib borildi. Laboratoriya hayvonlari jigari mitoxondriyalardagi JIIO jarayoniga o'simlik BFM larining ta'sirini o'rganish ularning antioksidantlik hossalari haqidagi dastlabki ma'lumotlarni beradi. Bu turdagi *in vitro* tadqiqotlari uchun qulay tajribalarda Fe^{2+} /askorbat induktor tizimidan foydalaniladi. Bu tizim ta'sirida JIIO jarayonini indutsirlash orqali lipofil antioksidantlarning samaradorligini bevosita aniqlash imkonini beradi. Bunda membranalaridagi antioksidant tizim buzilishi ilmiy adabiyotlarda berilgan [9, 14, 15].

Shu sababli, tajribalarda mitoxondriya membranalarini Fe^{2+} /askorbat ta'sirida indutsirlash natijasida kuzatiladigan JIIO jarayoniga *Cydonia Oblong (Bexu)* barglaridan ajratib olingan polifenol ekstrakti (ПФ-4) ning korreksiyalovchi ta'siri o'rganildi va antioksidantlik xossalari baholandi.

Dastlab tajribalarda mitoxondriya membranalarida JIIO jarayonini chaqirish maqsadida 10 mKM Fe_2SO_4 va 600 mKM askorbatdan foydalanildi. Inkubatsiya muhitiga Fe^{2+} /askorbatning belgilangan miqdorini qo'shish mitoxondriya membranalariga to'g'ridan to'g'ri indutsirlovchi ta'sir qiladi va JIIO jarayonini stimullaydi. Bunda mitoxondriya membranalarining o'tkazuvchanligi ortadi va membrana potentsiali pasayib permeabilizatsiya jarayoni kuzatiladi. Fe^{2+} /askorbat ta'siridagi mitoxondriyalardagi indutsirlangan ПОЛ jarayoni nazorat guruhi deb belgilandi (100%).

Tadqiqotlarda *Cydonia Oblong (Bexu)* barglaridan ajratib olingan ekstrakti (ПФ-4) ning mitoxondriya membranalaridagi JIIO jarayoniga ta'siri o'rganildi (1-rasm.).



1-rasm. *Cydonia Oblong (Bexi)* barglaridan ajratib olingan ПФ-4 ekstraktining mitoxondriyalardagi JIIO jarayoniga ingibirlovchi ta'siri

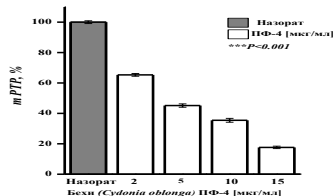
Izoh: ordinata o'qida - mitoxondriyal bo'kishi % hisobida ifodalangan, absissa o'qida - ПФ-4 ekstrakti konsentratsiyalari keltirilgan. IM: KCl - 125 mM, tris-HCl - 10mM, pH 7,4. Konsentratsiyalar: Fe_2SO_4 - 10 mKM, askorbat - 600 mKM; mitoxondriya oqsili 0,5 mg/ml. Nazorat - Fe^{2+} /askorbat. ***P<0.001.

ПФ-4 ning antioksidantlik ta'siri muhitga qo'shib borilgan konsentratsiyalarga (3, 10, 20, 30 mkg/ml) muvofiq kuzatildi. Tadqiqotlarda ПФ-4 ning 3 mkg/ml miqdori Fe^{2+} /askorbat ta'sirida indutsirlangan mitoxondriya membranasi o'tkazuvchanligi nazoratga nisbatan 66,3±1,75 ni tashkil qildi va JIIO jarayoni 33,6% ga ingibirlandi. Demak, bu ko'rsatkich ПФ-4 yaqqol antioksidantlik xususiyatiga ega modda ekanligini bildiradi. Inkubatsiya muhitida ПФ-4 ning konsentratsiyasini oshirib borish uning JIIO jarayonini ingibirlash faolligini ham oshirdi. YA'ni, inkubatsiya muhitiga ПФ-4 ning 10 mkg/ml mkl miqdorini qo'shish mitoxondriya o'tkazuvchanligi 45,8±1,40 ni tashkil qildi va JIIO jarayoni 54,12% ga ingibirlandi. Shuningdek, ПФ-4 ning 10 mkg/ml ta'sirida mitoxondriya membranasi o'tkazuvchanligi 19,6±0,83 ni, 30 mkg/ml ta'sirida esa 10,7±0,89 ni tashkil qilgan bo'lsa, mitoxondriyalardagi JIIO jarayoni konsentratsiyalarga mos ravishda 80,4% va 80,2% ga ingibirlandi (1-rasm).

Bu ko'rsatkichlar *Cydonia Oblong (Bexi)* barglaridan ajratib olingan ПФ-4 ekstraktini yaqqol antioksidantlik hossasiga ega modda ekanligini isbotlaydi.

So'ngi zamonaviy ilmiy adabiyotlarda, hujayra metabolik jarayonlari boshqarilishida *mPTP* si strukturasi va funksiyasi ahamiyatli ekanligi haqida fikrlar keltirilmoqda [7, 8, 11, 18]. Szezyk va boshqa bir qancha olimlar fikricha, turli patologiyalarda *mPTP* disfunktsiyasini modulyatorlar va farmakologik preparatlar yordamida tartibga solish imkoniyati mavjud [1, 3]. Shu bois, eksperimental farmakologiya va tibbiyot istiqbolli o'simlik biofaol moddalarini izlab topishda *mPTP* ga potentsial "nishon" sifatida qaraydi [1, 3, 21]. Ayni vaqtda, *mPTP* ning bir qancha farmakologik agentlari va modulyatorlar fanga ma'lum. Ular orasida klassik induktorlar (doksorubitsin, progesteron, dehidroepiandrosteron, estradiol, Ca^{2+} yoki ГПК lar) eksperimental tadqiqotlarda *mPTP* strukturasi ga kuchli ta'sir qilib porani ochilishiga sabab bo'lsa, yoki aksincha ayrim modulyatorlar (siklosporin A, bongkrekat, buterol, ubixinon, natriya gidrosulfid)lar *mPTP* ga nisbatan ingibirlovchi ta'sir qiladi. Ular mitoxondriya membranasi ga to'g'ridan-to'g'ri ta'sir qilib membrana potentsialini buzilishiga sabab bo'ladi. Eksperimental tajribalarda (10^{-8} dan 10^{-4} M) diapazon konsentratsiyalar oralig'ida *mPTP* ga nisbatan indutsirlovchi ta'sir qilishi keltirib o'tilgan [6]. Shuningdek, *mPTP* indutorlari bir vaqtning o'zida saraton onkologik kasalliklarda apoptozni stimullashi ham keltirib o'tilgan.

Bizning tajribalarda *mPTP* induksiyasini chaqirish maqsadida Ca^{2+} ionlari tanlab olindi va tajribalarda Ca^{2+} ning 30 mKM konsentratsiyasidan foydalandik. Dastlabki skrinig tajribalarida inkubatsiya muhitiga Ca^{2+} ni qo'shish *mPTP* o'tkazuvchanligini (t - 300 sek) davomida nazoratga nisbatan oshirdi va bu ko'rsatkich 100% deb belgilandi (2-pasm).



2-rasm. *Cydonia Oblong (Bexi)* barglaridan ajratib olingan ПФ-4 ekstraktininr mPTP holatiga ta'siri.

Izoh: ordinata o'qida - mitoxondriyalar bo'kishi % hisobida ifodalangan, abssissa o'qida ПФ-4 ekstrakti konsentratsiyalari keltirilgan. IM: 200 mM saxaroza, 20 mM ЭГТА, 5 mM suksinat, 2 mM rotenon, 20 mM Tris, 20 mM HEPES va 1 mM KH_2PO_4 , pH 7,4. Nazorat – 10 mM Ca^{2+} . * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$.

In vitro tadqiqotlarida *Cydonia Oblong (Bexi)* barglaridan ajratib olingan ПФ-4 ekstrakti (2, 5, 10, 15 мкг/мл) konsentratsiyalarda Ca^{2+} ionlari ta'sirida indutsirlangan mPTP ga nisbatan ingibirolovchi ta'sir qildi.

ПФ-4 ning mPTP ochilishiga nisbatan ingibirolovchi faolligi inkubatsiya muhitiga qo'shilgan dastlabki 2 мкг/мл konsentratsiya ta'siridan oq yaqqol namoyon bo'ldi (34,6%). ПФ-4 ekstraktining mPTP ga nisbatan ingibirolovchi faolligi inkubatsiya muhitiga qo'shilgan konsentratsiyalariga mos ravishda quyidagi ketma ketlik: 5 мкг/мл (45,1±1,12) 54,8% ni; 10 мкг/мл (35,4±1,27) 64,5% ni; 15 мкг/мл (17,6±0,81) 82,3% ni tashkil qildi

Yuqorida olib borilgan *in vitro* tadqiqotlarida *Cydonia oblonga* (bexi) dan ajratib olingan ПФ-4 ekstraktining kuyi (1 мкг/мл dan 30 мкг/мл gacha) bo'lgan konsentratsiyalari Fe^{2+} -askorbat va Ca^{2+} ta'sirida indutsirlangan mitoxondriya bo'kishiga korreksiyalovchi ta'sir qildi. ПФ-4 ekstraktining membranalarga nisbatan kuzatilgan samarali ta'siri ularning inkubatsiya muhitiga qo'shilgan konsentratsiyalariga mos ravishda kuzatildi. Ushbu olingan natijalar *Cydonia oblonga* (bexi) dan ajratib olingan ПФ-4 ekstrakti membranafaol ta'sir etish xususiyatiga ega biofaol modda ekanligini hamda ushbu ekstraktidan kelgusida antioksidant va antiradikal xossalarga ega yangi dorivor vositalar yaratishda foydalanish mumkin ekanligini bildiradi.

ADABIYOTLAR

1. Акопова О.В. Роль митохондриальной поры в трансмембранном обмене кальция в митохондриях // Укр. біохім. журн. – 2008. – Т.80, №3. – С. 40-47.
2. Левченкова О.С., Новиков В.Е., Пожилова Е.В. Митохондриальная пора как мишень фармакологического воздействия // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2014, Т. 13. № 4. – С. 24-33.
3. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Митохондриальные мишени для фармакологической регуляции адаптации клетки к воздействию гипоксии // Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2014. – Т.12, №2. – С. 28-35.
4. Оковитый С.В., С.Н. Шуленин А.В. Смирнов Клиническая фармакология антигипоксантов и антиоксидантов //– СПб. ФАРМиндекс, – 2005. – С. 72 -78.
5. Шульпекова Ю.О. Флавоноиды расторопши пятнистой в лечении заболеваний печени // – Русский мед. журн. – 2004. – Т. 12. – С. 155-161.
6. Шиманская Т.В., Добровольский Ф.В., Сагач В.Ф. Роль оксида азота в модуляции открытия митохондриальных пор при ишемии-реперфузии изолированного сердца // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2007. – №3. – С. 121-126.
7. Шиманская Т.В., Добровольский Ф.В., Вавилова Г.Л. и др. NO-зависимая модуляция чувствительности открытия митохондриальной поры при ишемии/реперфузии изолированного сердца // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. — 2009. — Т. 95, № 1. — С. 28–37.
8. Шиманская Т.В., Струтинская Н.А., Вавилова Г.Л. и др. Циклоспорин А – чувствительная митохондриальная пора как мишень кардиопротекторного действия донора сероводорода // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. - 2013. – Т.99, №2. – С. 261-272.
9. Alston C.L., Rocha M.C., Lax N.Z., Turnbull D.M., Taylor R.W. The genetics and pathology of mitochondrial disease // – J Pathol. – 2017. – Vol. 241, – №2. – P. 236–250.
10. Bernardi Forte M. The mitochondrial permeability transition pore//– Novartis. Found.Symp. – 2007. –P. 157-164.
11. Bouchier-Hayes L., Lartigue L., Newmeyer D.D. Mitochondria: pharmacological manipulation of cell death // The Journal of Clinical Investigation. – 2005. – V.115., N10. – P. 2640-2647
12. Bohn T. Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. Nutr Rev. 2014. - 72(7). –P. 429-452.
13. Duthie G., Crozier A. Plant-derived phenolic antioxidants //– Curr. opin. lipidol. – 2000. – V. 11. – P. 43-47.
14. Green D.R., Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death //– Science. – 2012. – V. 305. – P. 626–629.
15. Chinnery P.F. Mitochondrial disease in adults: what's old and what's new? //– EMBO Mol Med. – 2015. – Vol. 7, №12. – P. 1503–1512.
16. Tarahovsky YS, Muzafarov EN, Kim YA. Rafts making and rafts braking: how plant flavonoids may control membrane heterogeneity. Mol Cell Biochem. 2008. -314(1-2). -P.65-71.
17. Liu CY, Huang CJ, Huang LH, et al. Effects of green tea extract on insulin resistance and glucagon-like peptide 1 in patients with type 2 diabetes and lipid abnormalities: a randomized, double-blinded, and placebo-controlled trial. PLoS One. 2014. 9(3). –P. 91163.
18. Halestrap A. P. What is the mitochondrial permeability transition pore // J. Mol. Cell Cardiol. – 2009. – V.46, N6. – P. 821-831.
19. He L., Lemasters J.J. Heat shock suppresses the permeability transition in rat liver mitochondria // –J. Biol. Chem. – 2003. – V. 278(19). – P. 16755-16760.
20. Szewczyk A., Wojtczak L. Mitochondria as a pharmacological target // Pharmacol. Rev. – 2002. – V. 54. – P. 101–127.
21. Skulachev V.P. Mitochondria targeted antioxidants as promising drugs for treatment of age-related brain diseases // J. of Alzheimers Dis. – 2012. – V.28, N2. – P. 283-289.

-
22. Schneider W.C., Hageboom G.H., Pallade G.E. Cytochemical studies of mammalian tissues; isolation of intact mitochondria from rat liver; some biochemical properties of mitochondria and submicroscopic particulate material //– J. Biol. Chem. – 1948. – V. 172 (2). – P. 619-635.