O‘ZBEKISTON MILLIY UNIVERSITETI XABARLARI, 2023, [3/2/1]
ISSN 2181-7324

BIOLOGIYA
http://journals.nuu.uz
Natural sciences

UDK: 577.352.45

Dildora ISAMUXAMEDOVA,
O‘zbekiston Milliy universiteti huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti tayanch doktoranti
E-mail:dildoraisamuxamedova@gmail.com
Raxmatilla RAXIMOV,
O‘zbekiston Fanlar akademiyasi Bioorganik kimyo instituti katta ilmiy xodimi, PhD
Nurali ERGASHEV,
O‘zbekiston Milliy universiteti huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti katta ilmiy xodimi, b.f.d
Muzaffar ASRAROV,
O‘zbekiston Milliy universiteti huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti professori, b.f.d

ANTIOXIDANT AND MEMBRANE-ACTIVE PROPERTIES OF 2,3-DI-O-HALLOIL-β-D-GLUCOSE

Annotation

In this article the effect of the polyphenol 2,3 di o halide-VD glucose on the activity of the Katf channel, its inhibitory effect on the lipid peroxidation process in mitochondria of rats liver was studied and the antiradical property of it was also revealed.
Key words: liver mitochondria, mitoKATF channel, lipid peroxide oxidation, 2,3-di-o-galloyl-β-D-glucose.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ И МЕМБРАННОАКТИВНЫЕ СВОЙСТВА *2,3-ДИ-О-ГАЛЛОИЛ-β-D-ГЛЮКОЗЫ*

Аннотация

В данной статье было изучено влияние полифенола 2,3 ди о галлоидного-В Д глюкозы на активность Катф канала, ингибирующее действие на процесс ПОЛ митохондрии печени крыс, а также выявлено антирадикальное свойство.
Ключевые слова: митохондрии печени, митоКАТФ-канал, перекисное окисление липидов, 2,3-ди-о-галлоил-β-D-глюкоза.

***2,3-DI-O-GALLOIL-β-D-GLYUKOZANING* ANTIOKSIDANT VA MEMBRANAFAOL XOSSALARI**

Annotatsiya

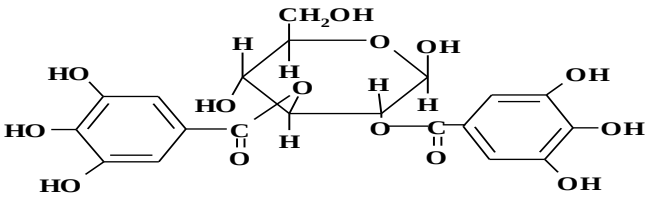
Ushbu maqolada *2,3-di-o-galloil-β-D-glyukoza* polifenollining kalamush jigar mitoxondriyasining mitoK$_{ATF}$-kanali faolligiga, mitoxondriyalari LPO jarayoniga ingibirlovchi ta’siri hamda antiradikallik xossasi aniqlandi
Kalit so‘zlar: jigar mitoxondriyalari, mitoK$_{ATF}$ –kanal, lipidlarni perekisli oksidlanishi, 2,3-di-o-galloil-β-D-glyukoza.

Kirish. Patologik holatlarning molekular mexanizmlarini subhujayra jumladan mitoxondriyalar darajasida o‘rganish xozirgi kunning eng dolzarb muomolaridan biridir. Hujayra metabolizmi uchun zarur bo‘lgan ATFning 90% dan ortig‘i mitoxondriyalar tomonidan sintezlanadi. Shu sababli mitoxondriyalar bir nechta malekular guruhlar uchun qulay nishon bo‘lib, hujayra shikastlanishidan himoya qiladi va sitoprotektor jarayonida asosiy rol o‘ynaydi [2]. Adabiyotlarda hujayra komponentlarining funksional parametrlariga oid ko‘plab ma’lumotlar mavjud bo‘lib, ularda hujayra hamda mitoxondriya membranasida ion transport tizim, antioksidant tizim, erkin radikallarning hosil bo‘lishi, oksidlanish- qaytarilish reaksiyalari va membrana faollik xususiyatlari keng tahlil qilinmoqda. Ular orasida mitoxondriyalardagi ion transport tizimlari ya’ni mPTP, mitoK$_{ATF}$-kanal hamda erkin radikallarni hosil bo‘lishi kabi asosiy funksional parametrlar alohida ahamiyat kasb etadi. Mitoxondriyalardagi ko‘plab oqsillar siklofilin D (CypD), adenin nukleotid translokaza (ANT), ATF-sintaza, tashqi membranada joylashgan potensialga bog‘liq anion kanal (VDAC), fosfat tashuvchi (PiC) hamda SPG-7 kabi bir nechta mitoxondriya oqsillari kanal faoliyatida ishtirok etishi ko‘rsatilgan. CypD transmembran oqsili bo‘lmaganligi sababli, u o‘z-o‘zidan kanal hosil qila olmaydi, lekin uning siklosporin A ligandining ingibirlash ta’siridan ma’lumki u kanal hosil qiluvchi oqsil(lar) bilan bog‘lanadi va kanal faoliyatini tartibga soladi [3,12]. Mitoxondriyalardagi ATF ga bog‘liq K^+-kanalining (mitoK$_{ATF}$-kanal) o‘ziga xos regulyatorlik hususiyati membrana potensialini, Sa^{2+} ionlari o‘tkazuvchanligini, erkin yog kislotalari parchalanishini va hujayralardagi ATF miqdorini fiziologik darajada ushlab turish vazifalarini o‘z ichiga oladi [6].

Aslini olganda mitoxondriyalarda ko‘p miqdorda signal yo‘llari bo‘lib, hujayra proliferatsiyasi, mitoxondrial biogenez hamda oksidlanish-qaytarilish reaksiyalari orqali hujayra o‘limini nazaratga solishni ham ta’minlaydi [13]. Bundan tashqari hujayrada erkin radikallarni ortishi, hujayrada kislorodning faol shakllarini (ROS) paydo bo‘lishi va shiddat bilan lipidlarning perekisli oksidlanishi (LPO) va malon dialdegid (MDA) miqdorining ortib ketishi natijasida membranadagi ion kanallarning konfarmatsion holati o‘zgarishiga sabab bo‘ladi. Ushbu erkin radikallar generatsiyasini ortishi ion transport tizimlari orqali moddalaring passiv va faol tashilish funksiyasini izdan chiqradi. Ayni paytda LPO natijasida MDA miqdorining ortishi hujayrada turli patologiyalarni kelib chiqishiga asos sifatida keltiriladi [6]. Stress omilga moslashish paytida kaliy siklining faollashishi va ROS shakllanishining keyingi pasayishi ishemiya reperfuziya paytida mitoK$_{ATF}$ kanalining ma’lum himoya rolini tushuntirishi mumkin. Oxirgi yillarda mitoxondrial kaliy kanalining biofizik xususiyatlari va uning fiziologik roli yaxshi o‘rganilgan. Mitoxondrial kaliy kanali uning ichki membranasida joylashgan bo‘lib laboratoriya sharoitida ushbu kanalning xususiyatlariga ega bo‘lgan oqsil ajratilgan [11]. Organizmning kislorod tanqisligiga chidamliligini shakllantirishda mitoK$_{ATF}$-kanalning ishtiroki ko‘rsatilgan. MitoK$_{ATF}$-kanal faollashuvi ishemiya paytida kardiomiotsitlarni himoya qilishda muhim rol o‘ynaydi. Potensial kardioprotektorlik xususiyatiga ega bo‘lgan bir qator mitoK$_{ATF}$ –kanalga faollashtiruvchi sintetik moddalar (diazoksid va nikorandil) topilgan bo‘lib, ular nafaqat mitoK$_{ATF}$-kanalni faollashtiradi, balki yuqori konsentratsiyalarda sitoplazmatik membrana kaliy kanallarini ham faollashtiradi. Ammo, adabiyotlarda o‘simliklardan ajratib olingan biofaol moddalarning mitoK$_{ATF}$ –kanalga ta’siri bo‘yicha ma’lumotlar uchramaydi. Turli stress omillar ta’sirida jigar mitoxondriyasining antioksidant

tizimiga, erkin radikallar hosil bo‘lishini ingibirloachi va mitoK$_{ATF}$ –kanal funksiyasiga samarali ta’sir etuvchi tabiiy birikmalarni aniqlash va ularning ta’sir mexanizmlarini o‘rganish eng dolzarb vazifalardan biri hisoblanadi.

Ushbu vazifalarni amalga oshirish uchun tadqikod ishimizda kalamush jigar mitoxondriyasining mitoK$_{ATF}$ –kanal faolligiga va Fe^{2+}/askorbat yordamida chaqirilgan LPOga ***Euphorbia franchetii*** o‘simligidan ajratib olingan 2,3-di-o-galloil-β-d-glyukoza (1-rasm) polifenolining ta’sirini hamda uning antiradikal faolligini o‘rganishni maqsad qilib olindi.



1-rasm. 2,3-di-o-galloil-β-D-glyukoza polifenolining struktura formulasi

Tadqiqotning materiallari va usullari. Kalamush jigar mitoxondriyasi differensial sentrifugalash usuli bilan ajratildi. Ajratish muhiti tarkibi: 250 mM saxaroza, 10 mM tris-HCl, 1 mM EDTA, [9]. pH-7,4.

Mitoxondriya K$_{ATF}$-kanalini o‘tkazuvchanligi (0,3-0,4 mg/ml) 3 ml yacheykalarda 540 nm to‘lqin uzunligida optik zichlikning o‘zgarishi bo‘yicha spektrofotometrik usulda aniqlandi. Inkubatsiya muhiti tarkibi quyidagicha: 125mM KC1, 10 mM Hepes, 5 mM suksinat, 1 mM magniy xlorid, 2,5 mM kaliy gidrofosfat, 2,5 mM kaliy digidrofosfat, 5 mkM rotenon va 1 mkg/ml mM oligomitsin (pH-7.4). Inkubatsiya muhiti hajmi 3 ml olindi [10].

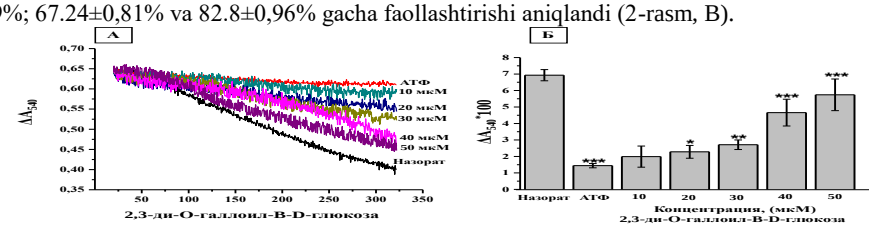
Biofaol moddalarning antiradikallik faolligini aniqlashning spektrofotometrik usulida 2,2-difenil-1-pikrilgidrazil (DFPG) standart spirtli ishchi eritmasi 1:10 aniqlandi [5].

Shuningdek, mitoxondriya membranasida LPO jarayonini o‘rganish uchun Fe^{2+}/askorbat tizimidan foydalanildi. Ushbu tizim mitoxondriya Fe^{2+}/askorbat tizimi orqali bo‘kishi va uning hajmi o‘zgarishiga asoslanadi. Ushbu hajm o‘zgarishi spektrofotometrik usulda aniqlandi. IM: KCI - 125 mM, tris-HCI - 10mM, pH 7,4; Konsentratsiyalar: $FeSO_4$ - 10 mkM, askorbat - 600 mkM; mitoxondriya miqdori 0,5 mg/ml;

Mitoxondriyalarda oqsil miqdori biuret usuli bilan aniqlandi. Standart oqsil sifatida BSA ishlatildi. Kyuvetada oqsil miqdori 0,3-0,4 mg/ml ni tashkil etdi.

Olingan natijalar va ularning tahlili. Mitoxondriya xajm boshqarilishida va potensial hosil bo‘lishida muhim rol o‘ynovchi kaliy kanallari faolligi o‘zgarishi qayd etilishi mumkin. Jumladan mitoK$_{ATF}$-kanali faolligi mitoxondriya va sitozol o‘rtasida kaliy ionlari siklida ishtirok etadi. MitoK$_{ATF}$-kanali ingibitorlari va aktivatorlari mavjud. O‘simliklardan ajratib olingan biofaol moddalar mitoK$_{ATF}$-kanali faolligiga turlicha ta’sir etishi mumkin. Bularni aniqlash maqsadi navbatdagi tajribamizda 2,3-di-o-galloil-β-D-glyukoza polifenolining jigar mitoK$_{ATF}$-kanali faolligi ta’siri o‘rganildi.

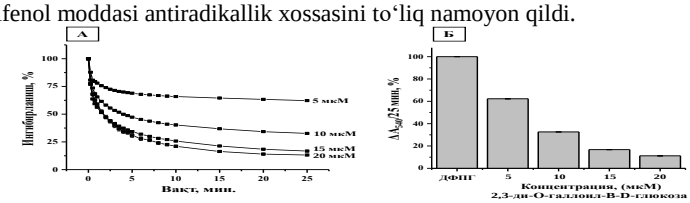
Tadqiqotlarmizda kalamush jigari mitoxondriyalari mitoK$_{ATF}$-kanali faolligiga 2,3-di-o-galloil-β-D-glyukoza polifenolining 10, 20, 30, 40 va 50 mkM konsentratsiyalarining ta’siri o‘rganildi (3-rasm, A). Bunda mitoK$_{ATF}$-kanal faolligi 200 mkM ATF bilan ingibirlangan holatda polifenol moddaning ta’siri tadqiq qilindi. Polifenol birikmaning 10 mkM konsentratsiyasi ta’sirida mitoK$_{ATF}$-kanalni ATF ingibirlagan sharoitda 28.71±0,64% ga faollashtirishi aniqlandi. Shu bilan birga polifenol moddaning 20 mkM konsentratsiyasi ta’sirida esa 32.9±0,39% ga faollashtirishi ko‘rsatildi. Keyingi tadqiqotlarimizda 2,3-di-o-galloil-β-D-glyukoza moddasining 30, 40 va 50 mkM konsentratsiyalarining ta’siri kalamush jigar mitoxondriyalari mitoK$_{ATF}$-kanal faolligiga ta’siri o‘rganilganda, polifenolning ushbu konsentratsiyalari kanalni ATF ingibirlagan holatga nisbatan mos ravishda 39.1±0,29%; 67.24±0,81% va 82.8±0,96% gacha faollashtirishi aniqlandi (2-rasm, B).



2-rasm. 2,3-di-o-galloil-β-D-glyukoza polifenollarining kalamush jigar mitoK$_{ATF}$-kanaliga ta’siri.

A – polifenolning jigar mitoK$_{ATF}$-kanaliga ta’siri orginal chizmasi, mitoK$_{ATF}$-kanalining faolligini ifodalovchi gistogramma (Б).; n=5-6, *-P>0,05; **- P>0,01; ***- P>0,001.

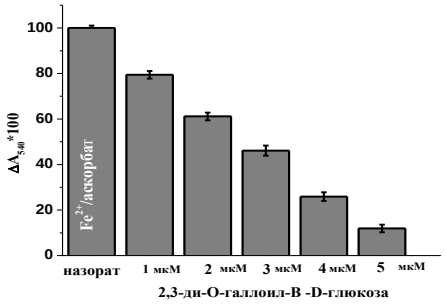
2,3-di-O-galloil-β-D-glyukoza polifenol moddasini antiradikallik faolligini 517 nm to‘lqin uzunligida 2,2-difenil-1-pikrilgidrazil (DFPG) reaktivi yordamida aniqladik. 2,2-difenil-1-pikrilgidrazil (DFPG) standart spirtli ishchi eritmasi 1:10 tayyorlandi. DFPG/polifenol moddaga nisbati qiymati 1:10 ga teng. Aralashgan eritmaning optik zichligi 25 daqiqa davomida 517 nm to‘lqin uzunligida spektrofotometrda qayd etiladi (4-rasm, A). Tajribalarda DFPG ishchi eritmasiga 2,3-di-O-galloil-β-D-glyukoza polifenol moddasini 5 mkM miqdorda erkin radikallarni nazoratga nisbatan 37.75±0,24%, 10 mkM miqdorda 67.39 ±0,13%, 15 mkM miqdorda esa 83.29±0,12% neytralashi aniqlandi. Ushbu konsentratsiyaning 20 mkM miqdori erkin radikallarni nazoratga nisbatan 88.84±0,23 % neytralladi (3-rasm, B). Olingan natijalardan shuni ko‘rish mumkunki *2,3-di-O-galloil-β-D-glyukoza* polifenol moddasi antiradikallik xossasini to‘liq namoyon qildi.



3-rasm. Antiradikallik faolligini aniqlashda spektrofotometrik usulidan foydalanildi.

Original rasm (A) 2,2-difenil-1-pikrilgidrazil (DFPG) standart spirtli ishchi eritmasi 1:10 aniqlandi. 2,3-di-O-galloil-β-D-glyukoza polifenolining antiradikal faolligini ifodalovchi gistogramma (Б).

Ko‘plab tadqiqotlarda va adabiyotlarda antiradikal xususiyatga ega bo‘lgan polifenol birikmalarning antioksidant xossalari ham mavjud ekanligi aniqlangan [4]. Antiradikal xossaga ega bo‘lgan 2,3-di-O-galloil-β-D-glyukoza polifenolining antioksidant faolligini aniqlash maqsadida navbatdagi tajribamizda kalamush jigari mitoxondriyalari LPO jarayoniga ta’siri o‘rganildi. Antioksidantlik xossalarini o‘rganish uchun mitoxondriya membranasida LPO jarayoni Fe^{2+}/askorbatni ta’sirida chaqirildi. Ushbu tizim ta’sirida mitoxondriyalarda LPO jarayoning intevsivligi oshdi. Mitoxondriya membranasining o‘tkazuvchanligini ortib borishi 100% (nazorat) deb belgilandi. Inkubatsiya muhitiga 2,3-di-O-galloil-β-D-glyukoza polifenolining moddasini 1 mkM mikdorini qo‘shish LPO jarayonini 19,9% ga, 2 mkM miqdori 47,6% ga, 3 mkM da 52,2% ga, 4 mkM mikdori 66,5% ga, 5 mkM mikdori 88,1% gacha ingibirlandi



.

4-rasm. 2,3-di-o-galloil-β-D-glyukoza polifenollarining mitoxondriyalardagi LPO jarayoniga ta’siri.

Izoh: IM tarkibi KCI - 125 mM, tris-HCl - 10mM, rN 7.4; Konsentratsiyalar: $FeSO_4$ – 10 mkM, askorbat – 600 mkM; mitoxondriya oqsili 0.5 mg/ml., nazorat - Fe^{2+}/askorbat; **P<0.01; ***P<0.001; n = 6).

Xulosalar. Olingan natijalardan ko‘rinib turibdiki, polifenol modda mitoxondriya funksional parametrlariga stabillovchi ta’sir ko‘rsatdi. Shuningdek, polifenol birikma jigar mitoK_{ATF}-kanal o‘tkazuvchanligi faollaydi va matriks hajmini tartibga solish orqali o‘zining membranatrop xossasini namoyon qildi. 2,3-di-O-galloil-β-D-glyukoza polifenoli kuchli antiradikal xossasini namoyon etdi, bu esa ushbu birikmaning antioksidant faolligi mavjud ekanligidan dalolat beradi.

ADABIYOTLAR

1. Almeida A.M., Bertoncini C.R. Mitochondrial DNA damage associated with lipid peroxidation of the mitochondrial membrane induced by Fe^{2+}-citrate// An. Acad. Bras. Cienc. –2006. –78. –P.505-514.
2. Brand M.C., David G.N. Assessing mitochondrial dysfunction in cells// Biochem. J. –2011.–V. 435–P. 297–312.
3. Hagai R., Hoek J.B. The mitochondrial permeability transition: nexus of aging, disease and longevity// Cells –2021. –V 10. –P. 79.
4. Molino S., Francino M.P., Henares J.A. Why is it important to understand the nature and chemistry of tannins to exploit their potential as nutraceuticals?// Food research international –2023. –V 173. –P.1–18.
5. Moronkola D.O.; Adesanwo J.K.; Aiyelaagbe O.O. and Faruq U.Z. Essential Oil Composition of Three Compositae-Aspillia africana, Chromolaena odorata, Syndrella nodiflora and One Labiatae- Hyptis suaveolens Utilized as Rabbit Feeds. //Journal of Science Research –2013. V–12, –P 327-344
6. Szewczyk A., Bednarczyk P., JędraszkoJ., Kampa R.P., Koprowski P., Krajewska M., Kucman Sh., Kulawiak B., Laskowski M., Rotko D., Sęk A., Walewska A., Żochowska M., Wrzosek A. Mitochondrial potassium channels – an overview// Postepy Biochemii –2018. –V 64. –P. 2-3.
7. Smeriglio A., Barreca D., Bellocco E., Trombetta D. Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects// British journal of pharmacology. –2017. –V 174. –P. 1244–1262.
8. Schneider W.C., Hogeboom G.H. Cytochemical studies of mammalion tissues: the isolation of cell components by differential centrifugation// Cancer. Res. –1951. –V. 11(1). –P. 1-22.
9. Вадзюк О.Б., Костерин С.А. Индуцированное диазоксидом набухание митохондрий миометрия крыс как свидетельство активации АТР-чувствительного К -канала// Укр. биохим. журн. -2008. -Т. 80(5). –С 45-50
10. Качаева Е.В. Митохондриальной АТФ-чувствительный калиевый канал и его роль в адаптации организма к гипоксии// –2007. Автореф. дис. канд. биол.
11. Мартинович Т.Г., Черенкевич С.Н. Редокс-гомеостаз клеток// Belarusian state university –2008. – V 39. –P. 29-44.
12. Заднипряный И.В., Третьякова О.С., Кубышкин А.В., Сатаева Т.П. Кардиопротекторный эффект отечественных антигипоксантов при экспериментальной кобальтовой кардиомиопатии// Бюллетень сибирской медицины, –2016. – V 15. –P. 33–40.