

ЮРАК МИТОХОНДРИЯСИ АТФГА БОҒЛИҚ КАЛИЙ КАНАЛИГА 1-(4-ДИМЕТИЛАМИНОФЕНИЛ)-6,7-ДИМЕТОКСИ-1,2,3,4-ТЕТРАГИДРОИЗОХИНОЛИН ИЗОХИНОЛИН АЛКАЛОИДЛАРИНИНГ ТАЪСИРИ

ВЛИЯНИЕ 1-(4-ДИМЕТИЛАМИНОФЕНИЛ)-6,7-ДИМЕТОКСИ-1,2,3,4-ТЕТРАГИДРОИЗОХИНОЛИН ИЗОХИНОЛИНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ НА АТФ-ЗАВИСИМЫЙ КАЛИЕВЫЙ КАНАЛ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА

INFLUENCE OF 1-(4-DIMETHYLAMINOPHENYL)-6,7-DIMETHOXY-1,2,3,4-TETRAHYDROISOQUINOLINE ISOQUINOLINE ALKALOIDS ON THE ATP-DEPENDENT POTASSIUM CHANNEL OF CARDIAC MITOCHONDRIA

Мухамедиева И.Б. - Central Asian Medical University

irodakhon09@gmail.com

Позиллов М.К. - Мирзо Улугбек номидаги Ўзбекистон Миллий университети, mamurjon2281@mail.ru

Исроилжонов С. – Фаргона давлат университети

Журакулов Ш. - Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси, акад. С.Ю. Юнусов номидаги Ўсимлик моддалар кимёси институти

Мухамедиева И. Б., Позиллов М. К., Исроилжонов С., Журакулов Ш. ЮРАК МИТОХОНДРИЯСИ АТФГА БОҒЛИҚ КАЛИЙ КАНАЛИГА 1-(4-ДИМЕТИЛАМИНОФЕНИЛ)-6,7-ДИМЕТОКСИ-1,2,3,4-ТЕТРАГИДРОИЗОХИНОЛИН ИЗОХИНОЛИН АЛКАЛОИДЛАРИНИНГ ТАЪСИРИ. Actacam, 6(6), 53–57. <https://doi.org/10.5281/zenodo.12805109>

Аннотация: Ушбу мақолада каламуш юрак митохондриyasi АТФга боғлиқ калий каналига мито K_{ATP} -канал) 1-(4-диметиламинофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин (F-24) изохинолин алкалоидининг концентрациясига боғлиқ таъсири ўрганилди. Тажрибалар *in vitro* шароитда амалга оширилди. Каламушлар юрак митохондриyasi дифференциал центрифугалаши усули ёрдамида ажратиб олинди. Каламуш юрак мито K_{ATP} -каналига F-24 изохинолин алкалоидининг 5-20 мкМ концентрациялари таъсири ўрганилди. Юрак мито K_{ATP} -каналига изохинолин алкалоидининг таъсири АТФ мавжуд шароитда олиб борилди. АТФ мавжуд шароитда F-24 изохинолин алкалоидининг 10, 15 ва 20 мкМ концентрациялардаги фаолловчи таъсири яққол намоён бўлди. Мито K_{ATP} -каналли активатори diazoxid билан ҳам F-24 изохинолин алкалоидининг қийсий таъсири ўрганилди. F-24 изохинолин алкалоидининг diazoxid билан комплекс таъсири юрак мито K_{ATP} -каналли ўтказувчанлигини яна оширишга олиб келди.

Таянч иборалар: юрак, митохондрия, мито K_{ATP} -канал, F-24 изохинолин алкалоиди, diazoxid.

Аннотация. В данной статье изучено концентрационно-зависимое действие изохинолинового алкалоида 1-(4-диметиламинофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин (F-24) на АТФ-зависимого калиевого канала (мито K_{ATP} -канала) митохондрии сердца крысы подверженные воздействию. Эксперименты проводились *in vitro*. Сердечные митохондрии крыс выделяли с помощью дифференциального центрифугирования. Изучено влияние изохинолинового алкалоида F-24 в концентрации 5-20 мкМ на мито K_{ATP} -канал сердца крысы. Воздействие изохинолинового алкалоида на мито K_{ATP} -канал сердца проводили в присутствии АТФ. В присутствии АТФ активирующее действие изохинолинового алкалоида F-24 в концентрациях 10, 15 и 20 мкМ четко проявлялось. Изучено сравнительное действие изохинолинового алкалоида F-24 с активатором мито K_{ATP} -каналов diazoxidом. Комплексное действие изохинолинового

алкалоида F-24 с диазоксидом привело к дальнейшему увеличению проводимости митоK_{ATP}-каналов сердца.

Ключевые слова: сердце, митохондрии, митоK_{ATP}-канал, изохинолиновый алкалоид F-24, диазоксид.

Abstract. This article studied the concentration-dependent effect of the isoquinoline alkaloid 1-(4-dimethylaminophenyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (F-24) on the ATP-dependent potassium channel (mitoK_{ATP}-channel) of mitochondria exposed rat hearts. The experiments were carried out *in vitro*. Rat cardiac mitochondria were isolated by differential centrifugation. The effect of the isoquinoline alkaloid F-24 at a concentration of 5-20 μM on the mitoK_{ATP} channel of the rat heart was studied. The impact of isoquinoline alkaloid on the mitoK_{ATP}-channel of the heart was carried out in the presence of ATP. In the presence of ATP, the activating effect of the isoquinoline alkaloid F-24 at concentrations of 10, 15, and 20 μM was clearly manifested. The comparative effect of the isoquinoline alkaloid F-24 with the mitoK_{ATP} channel activator diazoxide was studied. The complex action of the isoquinoline alkaloid F-24 with diazoxide led to a further increase in the conductance of the mitoK_{ATP} channels of the heart.

Keywords: heart, mitochondria, mitoK_{ATP}-channel, isoquinoline alkaloid F-24, diazoxide.

Сўнги йилларда кўплаб илмий лабораторияларда цитоплазматик ва митохондрия ички мембранасидаги митоK_{ATP}-каналларни ўрганиш бўйича кўплаб тадқиқотлар олиб борилмоқда. Митохондрия ички мембранасидаги митоK_{ATP}-канални матрикс ҳажмини назорат қилади ва мембрана потенциали ҳосил бўлишида асосий роль ўйнайди. Бу кардиомиоцит митохондрияларида муҳим аҳамиятга эга бўлиб, уларнинг матриксига K⁺ ионларининг кириши анион каналнинг фаоллашуви билан боради ва матриксда Cl⁻ ионларининг тўпланишига сабаб бўлади [1]. Бунинг натижасида митохондрия ичига сув киришини таъминлайди ва ташқи мембранасининг бузилмасдан бўқишига олиб келади. Матрикс ҳажм ўзгаришларини H⁺/K⁺ алмашувчи тизим орқали қайта тикланади. Inoue I ва бошқа тадқиқотчилар томонидан олиб борилган кўплаб тажрибаларда жигар митохондриясидаги митоK_{ATP}-каналнинг АТФ ва глибенкламид билан ингибирланиши [2] ҳамда диазоксид ва пинацидил [3] билан фаолланиши кўрсатиб берилган.

МитоK_{ATP} фаоллашуви ишемия пайтида юрак мускулларини яъни миокардни ҳимоя қилишда муҳим рол ўйнайди. Ҳозирда митоK_{ATP}-канални потенциал кардиопротекторлари бўлган бир қатор синтетик фаоллаштирувчилари топилди. МитоK_{ATP}-каналнинг самарали ва табиий метаболик фаоллаштирувчиси, уридин-5-дифосфат (УДФ) топилди [4]. Канал фаоллаштирувчилари орасида диазоксид ва никорандил кўриб чиқилади, улар нафақат митоK_{ATP}-канални фаоллаштиради, балки юқори концентрацияларда цитоплазматик мембрана калий каналларини ҳам фаоллаштиради. Митохондрия калий каналининг метаболик регуляторлари функциясини баъзи гормонлар бажариши мумкин. Масалан, β -эстрадиол ва тестостерон жинсий гормонлари митоK_{ATP}-каналига фаоллаштирувчи таъсир кўрсатади.

Кардиомиоцит митоK_{ATP}-каналининг фаолловчи моддаларнинг хоссалари бўйича кўплаб тадқиқотлар олиб борилган [3; 5]. МитоK_{ATP}-канални фаолловчи бундай моддалар юрак митохондриясини деполяризациялаши кўрсатилган [6]. Бироқ канални метаболик активаторлари синтетик аналоглар бўлгани учун улар табиий фаол моддаларга нисбатан хужайрани ион транспорт тизимларини регуляциясини бузилишига ёки уларни янада самарали фаоллашига сабаб бўлиши ҳам мумкин [7]. Мана шундай биофаол бирикмалардан изохинолин F-24 алкалоиди тажрибаларда антиаритмик таъсирга эга эканлиги уларнинг Na⁺-каналлари блокадаси ҳисобига амалга ошиши, шунингдек, уларни манфий инотроп таъсири кардиомиоцитларда Ca²⁺ ионларининг хужайра ички камайиши билан боғлиқлиги аниқланган [8]. Бироқ, алкалоидларнинг каламуш юрак митохондрияси функционал ҳолатига таъсири *in vitro* тажриба шароитларида ўрганилмаган.

Тадқиқотнинг мақсади: Ушбу тадқиқотимизда каламуш юрак митохондрияси K_{ATP} -каналига изохинолин F-24 алкалоидининг концентрацияга боғлиқ таъсири ушбу канал активатори диазоксид билан қиёсий ўрганилди.

Тадқиқот усуллари. Тажрибаларда зотсиз, оқ каламушлардан (200–220 г.) фойдаланилди ва тажриба ҳайвонлари билан ишлашда халқаро Хельсинки Декларацияси ва халқаро тиббий илмий жамиятлар кенгаши (CIOMS) томонидан ишлаб чиқилган (1985) қоидаларига амал қилинди. Тадқиқотларда ЎзР ФА Ўсимлик моддалари кимёси институти катта илмий ходими кимё фанлари бўйича фалсафа доктори PhD Ш.Н.Жўракулов томонидан тақдим этилган F-24 изохинолин алкалоидидан фойдаланилди.

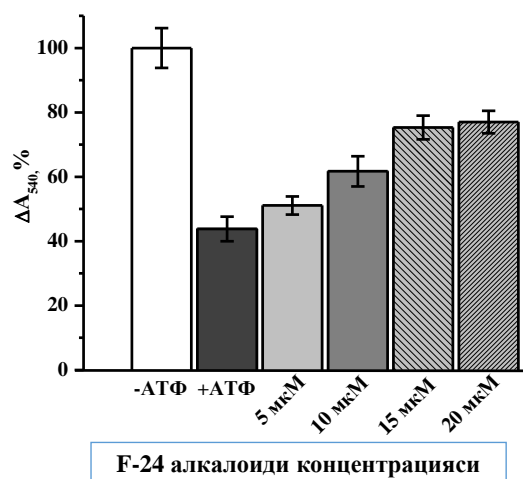
Каламуш юрагидан митохондрияларни ажратиш дифференциал центрифугалаш усули ёрдамида амалга оширилди. Каламуш кўкрак бўшлиғи очилгандан кейин юрак ажратиб олинди ва совутилган ажратиш муҳитига солинди. Ажратиш муҳитининг таркиби қуйидагича сахароза 300 мМ, трис-НСI - 10 мМ, ЭДТА - 2 мМ, альбумин 0,2% pH 7,4. Майдаланган юрак тўқимаси гомогенезаторга солинди [9] ва ажратиш муҳитидан 10:1 нисбатда қуйилди ва тефлонли пестик ёрдамида гомогенезацияланди.

Митохондриядаги АТФга боғлиқ калий канал фаоллигини аниқлаш. Мито K_{ATP} -каналли ўтказувчанлиги (0,3-0,4 мГ/мл) 3 мл ячейкаларда 540 нм тўлқин узунлигида оптик зичликнинг ўзгариши бўйича аниқланди. ИМ қуйидагича: 125 мМ КСI, 10 мМ Hepes, 5 мМ сукцинат, 1 мМ $MgCl_2$, 2,5 мМ K_2HPO_4 , 2,5 мМ KH_2PO_4 , 0,005 мМ ротенон и 0,001 мМ олигомицин, pH 7,4 [10].

Митохондриядаги оксил микдори Лоури усули бўйича аниқланди. Тажрибаларда митохондриянинг бўкиш кинетикаси максималга нисбатан фоиз ҳисобида, 4 та турли тажрибаларнинг ўртача арифметик қийматини ҳисоблаш тарзида амалга оширилди. Назорат ва тажрибадан олинган қийматлар ўртасидаги фарқ t-тест бўйича ҳисоблаб чиқилди. Бунда $P < 0,05$ ва $P < 0,01$ қийматлар статистик ишончлиликни ифодалайди.

Олинган натижалар ва уларнинг таҳлили. Мито K_{ATP} -каналлари фаоллиги матрикс ҳажм ўзгаришларини, шунингдек, калий ионлари циклини регуляция қилишда алоҳида аҳамиятга эга ҳисобланади. Митохондрияда АТФнинг физиологик концентрацияси етарли бўлган шароитда ушбу каналлар функционал фаоллигини намоён этади. Изохинолин алкалоидларини юрак мито K_{ATP} -каналига таъсири аниқлаш учун қуйидаги тажрибалар олиб борилди. Тажрибада F-24 изохинолин алкалоидининг юрак мито K_{ATP} -каналига таъсири 5-20 мкМ концентрацияларда ўрганилди. Инкубация муҳитида АТФнинг 200 мкМ концентрацияси мавжуд бўлганда мито мито K_{ATP} -каналли қисман ингибирланган ҳолатга ўтади.

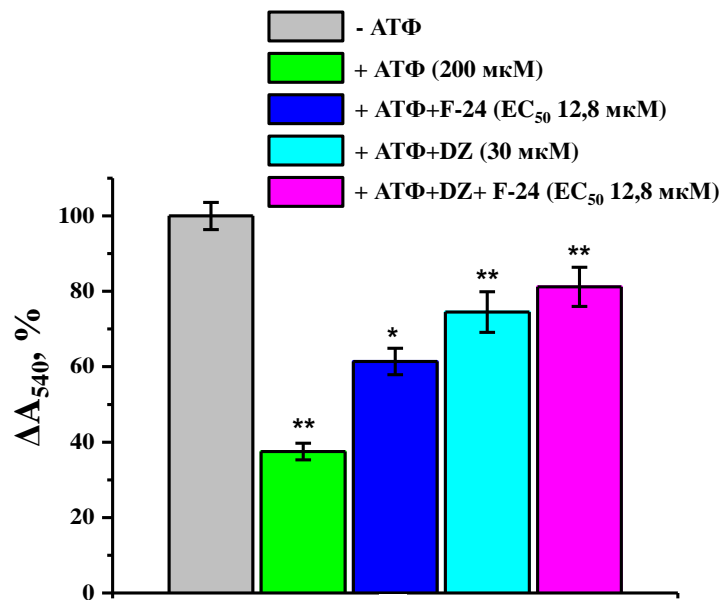
Олинган натижаларга кўра, изохинолин F-24 алкалоиди (5-20 мкМ) юрак мито K_{ATP} -каналига ишончли таъсир этади.



1-расм. Каламуш юрак мито K_{ATP} - каналига F-24 алкалоидининг таъсири $P < 0,05$; $n=4$.

Каламуш юрак мито $K_{AT\Phi}$ -канални фаоллигига F-24 алкалоидининг таъсирини ўрганилди. Олинган натижаларга кўра, инкубация муҳитида АТФ (200 мкМ) ва F-24 алкалоиди мавжуд шароитда каламуш юрак мито $K_{AT\Phi}$ -каналининг фаоллиги ортганлиги аниқланди. Ушбу алкалоиднинг 20 мкМ концентрацияси юрак мито $K_{AT\Phi}$ -канални фаоллигини назоратга нисбатан (+АТФ) 23,1% га ошириши кузатилди (1-расм). F-24 алкалоидининг юрак мито $K_{AT\Phi}$ -канални фаоллигини ярим максимал фаолловчи концентрацияси (EC_{50}) 12,8 мкМ эканлиги аниқланди.

Навбатдаги тажрибамизда, инкубация муҳитида мито $K_{AT\Phi}$ -каналининг классик активатори диазоксиднинг 30 мкМ концентрацияси мавжуд шароитда F-24 изохинолин алкалоидининг активатор таъсири ўрганилди. Инкубация муҳитида АТФ мавжуд шароитда мито $K_{AT\Phi}$ -каналининг назоратга (-АТФ) нисбатан 62,5% га ингибирланиши аниқланди (2-расм).



2-расм. Каламуш юрак мито $K_{AT\Phi}$ - каналнигига F-24 алкалоидининг таъсири $P < 0,05$; $n=4$.

Инкубация муҳитида алкалоиднинг ярим максимал фаолловчи концентрацияси (EC_{50}) 12,8 мкМ мавжуд шароитда юрак мито $K_{AT\Phi}$ -канални фаоллигини АТФ мавжуд бўлмаган шароитга нисбатан 38,6% га ингибирлаши аниқланди. Бу эса АТФ мавжуд шароитга нисбатан мито $K_{AT\Phi}$ -канални фаоллигини оширганлиги намоён бўлди. ИМ да мито $K_{AT\Phi}$ -канални активатори диазоксиднинг 30 мкМ концентрацияси мавжуд бўлганда унинг фаоллиги АТФ мавжуд шароитга нисбатан 37,0% га фаоллашганлиги аниқланди. Тажрибамизда ИМда мито $K_{AT\Phi}$ -канални активатори диазоксиднинг 30 мкМ ва алкалоиднинг (EC_{50}) 12,8 мкМ концентрациялари мавжуд шароитда каналнинг фаоллиги АТФ мавжуд шароитга нисбатан 43,7% га ортиши аниқланди (2-расм).

Демак, F-24 алкалоиди каламуш юрак мито $K_{AT\Phi}$ -каналнигига (5-20 мкМ) фаолловчи таъсир этади. F-24 алкалоиди алкалоиди турли патологик шароитларда юрак мито $K_{AT\Phi}$ -каналнигига самарали таъсир этиши ва кардиомиоцитларда оксидланишли стресс таъсирида келиб чиқадиган апаптозни ингибирлаши мумкин.

Цитоплазматик мембрана ва мито $K_{AT\Phi}$ -каналлар юракнинг функционал ҳолатдаги энг селектив ва хилма-хил ион каналлари ҳисобланади [11]. Шунингдек, улар юрак реполяризациясини регуляция қилади ҳамда ҳаракат потенциали сигнализациясини барқарор ва изчил таъминлайди. Мито $K_{AT\Phi}$ -каналларининг бир неча турлари мавжуд бўлсада, улар

бир-бирига ўхшаш аммо кўплаб функцияларни бажаради. МитоКАТФ-каналнинг *mitosur* ва *mitokir* суббирликлари канал ҳосил қилувчи оксил доменларидан иборат бўлиб, K^+ ионларининг митохондрия мембранаси орқали электрокимёвий градиент бўйича ҳаракатланиш ва K^+ ионлари учун танлаб ўтказиш имконини беради. Демак F-24 изохинолин алкалоиди ҳужайра митоКАТФ-каналига активатор сифатида таъсир этиши юракнинг ишемик ҳолатида матрикснинг ҳажмини сақлашда, калий ионлари циклини компенсация қилинишида муҳим роль ўйнаши мумкин.

Фойдаланилган адабиётлар

1. Garlid K.D., Paucek P., Mitochondrial potassium transport: the K^+ cycle, *Biochim. Biophys. Acta.* – 2003. – V.1606(1-3). – P. 23-41.
2. Inoue I., Nagase H., Kishi K., Higuti T. ATP-sensitive K^+ channel in the mitochondrial inner membrane // *Nature.* – 1991. – V.352(6332). – P. 244-247.
3. Holmuhamedov E.L., Jahangir A., Oberlin A., Komarov A., Colombini M., Terzic A. Potassium channel openers are uncoupling protonophores: implication in cardioprotection // *Febs Letters.* – 2004. – V.568(1-3). – P. 167-170.
4. Миронова Г.Д. Использование модуляторов ионных каналов как возможный путь лечения сердечнососудистых заболеваний, окислительного стресса и нейродегенеративных нарушений // *Патогенез*– 2011– Т. 9, № 3– С. 47.
5. Yamada M. Mitochondrial ATP-sensitive K^+ channels, protectors of the heart // *J Physiol.* – 2010. – V.588(2). – P. 283- 286.
6. Zhu H., Dong J., Zhu W., Ding H., Zhou Z. ATP-dependent potassium channels involved in cardiac protection induced by intermittent hypoxia against ischemia-reperfusion injury // *Life Sci.* – 2003. – V.73(10). – P. 1275-1287.
7. Позилов М.К., Эргашев Н.А., Асраров М.И., Рахматуллаева М.М., Аминов С.Н. Гликоразмулиннинг митохондрия нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишига таъсири // *Фармацевтика журнали.*– Тошкент, 2014. – №2. – Б 94-98.
8. **Jumayev I., Usmanov P., Rustamov S., Zhurakulov S.** [Comparative inotropic effects of the some isoquinoline alkaloids](#) // *Biomedical & Pharmacology Journal* – 2020. – V.13(1). – P. 325-333.
9. Ахмеров Р.Н. Размельчитель ткани (комбинированный гомогенизатор) с резьбовым ножевым блоком и тканеподающим устройством // *Узб. биол. журн.* – 1979. – №5. – С. 71-72.
10. Вадзюк О.Б., Костерин С.А. Индуцированное диазоксидом набухание митохондрий миометрия крыс как свидетельство активации АТР-чувствительного K^+ -канала // *Укр. биохим. журн.* – 2008. – Т. 80(5). – С. 45-51.
11. Giudicessi J.R., Ackerman M.J. Potassium-channel mutations and cardiac arrhythmias-diagnosis and therapy//*Nat Rev Cardiol.* – 2012. – 9(6). – P. 319-332.