RHUS GLABRA O‘SIMLIGIDAN AJRATILGAN PC-5 POLIFENOL KOMPLEKSINING CCL_4-INDUKSIYALANGAN JIGAR SHIKASTLANISHIDAGI GEPATOPROTEKTOR TA’SIRI

Shodiyeva Mohira Sharofiddin qizi
O'zRFA Bioorganik kimyo instituti
mohirashodiyeva1225@gmail.com
https://doi.org/10.5281/zenodo.23117517

Annotatsiya. Maqolada Rhus glabra o‘simligidan ajratilgan PC-5 polifenol kompleksining fizik-kimyoviy tavsifi, o‘tkir toksikligi va tetraxlormetan (CCl_4) bilan chaqirilgan eksperimental jigar shikastlanishidagi gepatoprotektor ta’siri tahlil qilindi. O‘simlik xomashyosidan polifenollar yig‘indisi bosqichma-bosqich ekstraksiya, suyuqlik–suyuqlik taqsimlash va cho‘ktirish orqali olindi; ajratmaning tarkibiy profili yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi yordamida baholandi. O‘tkir toksiklik tajribalarida PC-5 uchun LD_{50} 3550 (2920–4180) mg/kg deb aniqlangan. CCl_4 modeli sharoitida qon zardobidagi umumiy oqsil, albumin va globulin fraksiyalari, alaninaminotransferaza (ALT), aspartataminotransferaza (AST), ishqoriy fosfataza (IF) faolligi hamda de Ritis koeffitsienti baholandi. Patologik nazorat guruhida sitoliz, xolestaz va oqsil-sintetik funksiyaning pasayishi kuzatildi. PC-5 ni peroral 50, 100 va 300 mg/kg hamda qorin bo‘shlig‘iga 5, 15 va 25 mg/kg dozalarda yuborish biokimyoviy ko‘rsatkichlarni turli darajada me’yorlashtirdi. Manba ma’lumotlarida qorin bo‘shlig‘iga yuborishda 5 mg/kg doza eng samarali terapevtik doza sifatida ko‘rsatilgan. Natijalar PC-5 kompleksining CCl_4-induksiyalangan gepatotsellyulyar shikastlanishda membranalarni barqarorlashtiruvchi va gepatoprotektiv potensialga ega ekanini ko‘rsatadi.

Kalit so‘zlar: Rhus glabra, PC-5, polifenollar, tetraxlormetan, gepatoprotektor, ALT, AST, ishqoriy fosfataza, sitoliz, xolestaz, antioksidant.

Аннотация. В исследовании изучены физико-химические характеристики, острая токсичность и гепатопротекторный потенциал полифенольного комплекса PC-5, выделенного из Rhus glabra, в условиях экспериментального поражения печени, индуцированного CCl_4. Комплекс получен методом последовательной экстракции и фракционирования и охарактеризован с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Установлен показатель LD50, составивший 3550 (2920–4180) мг/кг. В качестве биохимических показателей оценивали содержание общего белка, фракций альбумина и глобулинов в сыворотке крови, активность АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы и коэффициент де Ритиса. Пероральное и внутрибрюшинное введение PC-5 способствовало улучшению ряда показателей, изменённых под воздействием CCl_4. Согласно исходным данным, эффективной терапевтической дозой при внутрибрюшинном введении являлась доза 5 мг/кг. Полученные результаты обосновывают необходимость дальнейшего стандартизированного изучения PC-5 как потенциального гепатопротекторного комплекса растительного происхождения.

Ключевые слова: Rhus glabra, PC-5, полифенолы, CCl_4, гепатопротекторное действие, окислительный стресс, цитолиз.

Abstract. The study evaluates the physicochemical characteristics, acute toxicity and hepatoprotective potential of the PC-5 polyphenol complex isolated from Rhus glabra in experimental CCl_4-induced liver injury. The complex was obtained by sequential extraction and fractionation and characterized by high-performance liquid chromatography. The reported LD_{50} was 3550 (2920–4180) mg/kg. Serum total protein, albumin/globulin fractions, ALT, AST, alkaline phosphatase and the De Ritis ratio were used as biochemical endpoints. PC-5 administered orally or intraperitoneally improved several indices altered by CCl_4. The source data identify 5 mg/kg intraperitoneally as an effective therapeutic dose. These findings support further standardized investigation of PC-5 as a potential plant-derived hepatoprotective complex.

Key words: Rhus glabra, PC-5, polyphenols, CCl_4, hepatoprotection, oxidative stress, cytolysis.

Kirish. Jigar organizmning metabolik gomeostazini ta’minlovchi markaziy a’zolardan biri bo‘lib, oqsil sintezi, lipid va uglevod almashinuvi, ksenobiotiklarning biotransformatsiyasi hamda endogen va ekzogen toksikantlarni zararsizlantirishda muhim o‘rin tutadi. Gepatotsit membranalari va hujayra organellalarining oksidlovchi shikastlanishi jigar patologiyalarining ko‘plab shakllarida uchraydigan umumiy patogenetik bo‘g‘inlardan biridir. Shu sababli erkin radikalli jarayonlarni cheklash, membrana yaxlitligini saqlash va antioksidant himoyani qo‘llab-quvvatlashga qodir tabiiy birikmalarni izlash dolzarb hisoblanadi.

O‘simlik polifenollari ikkilamchi metabolitlarning katta guruhi bo‘lib, ularning biologik faolligi fenolik gidroksil guruhlari, erkin radikallar bilan o‘zaro ta’sirlashish, metall ionlarini xelatlash va ayrim ferment tizimlari faolligini modulyatsiya qilish xususiyatlari bilan bog‘lanadi. Fenolik struktura vodorod atomini berish orqali reaktiv radikallarni nisbatan barqaror shaklga o‘tkazishi va lipidlarning erkin radikalli peroksidlanish zanjirini uzishi mumkin. Shu nuqtai nazardan polifenol komplekslari jigar hujayralari membranalarini oksidlovchi shikastlanishdan himoyalash uchun istiqbolli tabiiy manba hisoblanadi.

Tetraxlormetan bilan chaqirilgan jigar shikastlanishi eksperimental gepatologiyada toksik gepatitning klassik modellaridan biri sifatida qo‘llanadi. Ushbu modelda gepatotsitlar shikastlanishi qonda aminotransferazalar faolligining oshishi, xolestatik markerlarning o‘zgarishi va jigarning oqsil-sintetik funksiyasi buzilishi bilan namoyon bo‘ladi. Shuning uchun ALT, AST, ishqoriy fosfataza, umumiy oqsil va albumin miqdorini birgalikda baholash preparatning gepatoprotektor ta’sirini kompleks tavsiflash imkonini beradi.

Mazkur ishda Rhus glabra o‘simligidan ajratilgan PC-5 polifenol kompleksi tadqiqot obyekti sifatida tanlangan. Manba materialida PC-5 ning ajratib olinishi, xromatografik tekshiruvi, o‘tkir toksikligi hamda CCl_4 bilan shikastlangan jigar modelida turli yuborish yo‘llari va dozalaridagi ta’siri keltirilgan.

Materiallar va usullar. PC-5 polifenol kompleksini olish. O‘simlikning yangi yer ustki qismlari 2023-yil 20-may kuni Bo‘stonliq tumanidan yig‘ilgan va xona haroratida quritilgan.

25,7 g maydalangan xomashyo Soxlet apparatiga joylashtirilib, 250 ml xloroform bilan ekstraksiya qilingan. Xomashyo quritilgach, 24,9 g namuna 70% li 250 ml atseton bilan 50–55 °C da 6 soatdan uch marta ekstraksiya qilingan. Birlashtirilgan suv–atseton ekstraktidan atseton rotorli bug‘latkichda chiqarilgan, suvli qism xloroform bilan yuvilgan va etilatsetat bilan fraksiyalangan. Etilatsetatli fraksiya konsentrlanib, suvsiz natriy sulfat bilan quritilgan hamda geksan yordamida cho‘ktirilib, 2,45 g polifenollar yig‘indisi olingan. Xromatografik tahlil. PC-5 tarkibi yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usulida tekshirilgan. Manbada harakatlanuvchi faza sifatida atsetonitril va 0,1% uchxlorsirka kislotali bufer (pH 3) keltirilgan. Gradient dasturi: 0–20 min — 15% atsetonitril; 20–35 min — 30%; 35–58 min — 95%; 58–61 min — 15%. Oqim tezligi 0,6 ml/min, deteksiya 220, 254 va 280 nm da, kolonka harorati 30 °C da olib borilgan.

O‘tkir toksiklik. PC-5 sichqonlarga 2000, 3000, 4000, 5000 va 6000 mg/kg dozalarda yuborilgan. Har bir doza guruhida 6 tadan hayvon kuzatilgan. O‘lim soni mos ravishda 0/6, 0/6, 1/6, 3/6 va 6/6 bo‘lgan. Tirik qolgan hayvonlar 14 kun davomida kuzatilgan. Manba hisob-kitobiga ko‘ra LD_{50} 3550 mg/kg, ishonch oralig‘i 2920–4180 mg/kg ni tashkil qilgan. Eksperimental gepatit modeli va guruhlar. CCl_4 bilan jigar shikastlanishi chaqirilgan hayvonlarda PC-5 ning davolash-profilaktik samarasi baholangan. Peroral tajribada intakt, patologik nazorat (CCl_4+H_2O), PC-5 50, 100 va 300 mg/kg hamda Karsil 35 mg/kg guruhlari mavjud. Qorin bo‘shlig‘iga yuborish tajribasida intakt, patologik nazorat va PC-5 5, 15, 25 mg/kg guruhlari solishtirilgan.

Biokimyoviy ko‘rsatkichlar. Qon zardobida umumiy oqsil, albumin va globulin fraksiyalari, ALT, AST va ishqoriy fosfataza faolligi aniqlangan. De Ritis koeffitsienti AST/ALT nisbatiga ko‘ra hisoblangan. Natijalar M±m ko‘rinishida ifodalangan. Manba faylida ayrim matn va jadval qiymatlari o‘zaro farq qilgani sababli, ushbu maqolada sonli taqqoslashlar uchun tegishli jadvallardagi qiymatlar asosiy ma’lumot sifatida qabul qilindi.

Tadqiqot natijalari va muhokamasi. Rhus glabra o‘simligidan ajratilgan PC-5 polifenol kompleksining CCl_4-induksiyalangan jigar shikastlanishida gepatoprotektor xususiyatini qon zardobining sitoliz, xolestaz va oqsil almashinuvi ko‘rsatkichlari asosida baholash hamda samarali dozalarni aniqlash.

PC-5 ning 2000 va 3000 mg/kg dozalarida hayvonlar o‘limi kuzatilmagan. 4000 mg/kg da 1/6, 5000 mg/kg da 3/6, 6000 mg/kg da esa 6/6 hayvon nobud bo‘lgan. 2000–3000 mg/kg da vaqtinchalik holsizlik, nafas olishning kuchayishi va qorachiq torayishi kabi belgilar qayd etilib, keyingi sutkada tirik qolgan hayvonlarning holati tiklangan. Hisoblangan LD_{50} 3550 (2920–4180) mg/kg bo‘lgan.

1-jadval

PC-5 kompleksining o‘tkir toksiklik tajribasi

PC-5 dozasi, mg/kg	Nobud bo‘lgan/jami	Kuzatuv
2000	0/6	O‘lim kuzatilmadi
3000	0/6	O‘lim kuzatilmadi
4000	1/6	Qisman letallik
5000	3/6	50% letallik
6000	6/6	100% letallik

Peroral yuborishda biokimyoviy ko‘rsatkichlar

CCl_4 ta’sirida patologik nazorat guruhida umumiy oqsil 47,2±5,39 g/l gacha pasaygan, intakt guruhda esa 70,7±4,38 g/l bo‘lgan. PC-5 ning 50, 100 va 300 mg/kg dozalarida umumiy oqsil mos ravishda 56,4±9,50; 57,4±4,72 va 68,3±3,55 g/l ni tashkil etgan. 300 mg/kg guruhidagi qiymat intakt darajaga eng yaqin bo‘lgan. Albumin patologik nazoratda 14,5±1,27 g/l gacha kamaygan bo‘lsa, PC-5 300 mg/kg da 30,7±1,79 g/l gacha tiklangan.

Sitoliz markerlari ham CCl_4 ta’sirini tasdiqladi. Jadval ma’lumotlariga ko‘ra ALT intakt guruhdagi 45,8±1,08 birlik/l dan patologik nazoratda 366±32,6 birlik/l gacha oshgan. PC-5 300 mg/kg da ALT 66,87±3,4 birlik/l gacha pasaygan. AST patologik nazoratda 587±28,1 birlik/l bo‘lib, 300 mg/kg PC-5 guruhida 74,9±4,3 birlik/l ni tashkil qilgan.

2-jadval

CCl_4-induksiyalangan jigar shikastlanishida PC-5 ni peroral yuborishning ayrim biokimyoviy ko‘rsatkichlarga ta’siri (M±m)

Ko‘rsatkich	Intakt	CCl_4 nazorat	PC-5 50	PC-5 100	PC-5 300	Karsil 35
Umumiy oqsil, g/l	70,7±4,38	47,2±5,39	56,4±9,50	57,4±4,72	68,3±3,55	69,9±1,82
Albumin, g/l	32,8±0,61	14,5±1,27	18,7±1,87	21,2±2,17	30,7±1,79	32,2±0,81
ALT, birlik/l	45,8±1,08	366±32,6	108±17,5	118±11,8	66,87±3,4	59,3±4,2
AST, birlik/l	195±14,1	587±28,1	184,8±12,8	172,8±13,5	74,9±4,3	65,3±5,03
De Ritis	1,33	0,5	0,6	0,6	1,12	1,1
IF, birlik/l	320±45,2	644±51,6	547±48,3	564±49,8	452±26,8	449±33,7

Ishqoriy fosfataza patologik nazoratda 644±51,6 birlik/l gacha ko‘tarilgan. PC-5 ning 50, 100 va 300 mg/kg dozalarida ushbu ko‘rsatkich mos ravishda 547±48,3; 564±49,8 va 452±26,8 birlik/l ni tashkil qilgan. Karsil guruhida 449±33,7 birlik/l qayd etilgan. Shunday qilib, yuqori doza xolestaz markerining pasayishi bilan birga kechgan.

De Ritis koeffitsienti intakt guruhda 1,33 bo‘lib, CCl_4 nazoratida 0,5 gacha pasaygan. PC-5 300 mg/kg da koeffitsient 1,12 gacha, Karsil guruhida esa 1,1 gacha tiklangan. Ushbu o‘zgarishlar aminotransferazalar nisbatining intakt holatga yaqinlashishini ko‘rsatadi.

Manba matnida peroral yuborish uchun 100 mg/kg «optimal terapevtik doza» sifatida qayd etilgan bo‘lsa-da, jadvaldagi ayrim biokimyoviy ko‘rsatkichlar 300 mg/kg da intakt qiymatlarga yaqinroq. Shu bois doza samaradorligini yakuniy baholashda bitta marker emas, barcha biokimyoviy ko‘rsatkichlar, gepatoproteksiya koeffitsienti va doza–javob munosabati birgalikda hisobga olinishi lozim.

Qorin bo‘shlig‘iga yuborish tajribasida patologik nazorat guruhida umumiy oqsil 47,2±1,27 g/l gacha kamaygan. PC-5 5 mg/kg yuborilganda umumiy oqsil 62,4±4,72 g/l gacha tiklangan; 15 va 25 mg/kg da mos ravishda 52,6±9,50 va 54,7±3,55 g/l qayd etilgan. Albumin miqdori 5 mg/kg guruhida 23,7±2,17 g/l bo‘lib, patologik nazoratdagi 14,5±1,27 g/l ga nisbatan yuqori bo‘lgan.

Ko‘rsatkich	Intakt	CCl_4 nazorat	PC-5 5	PC-5 15	PC-5 25
Umumiy oqsil, g/l	66,9±4,38	47,2±1,27	62,4±4,72	52,6±9,50	54,7±3,55
Albumin, g/l	24,9±1,37	14,5±1,27	23,7±2,17	14,8±1,79	16,1±1,87
ALT, birlik/l	105,8±1,08	366±32,6	118±7,5	218±11,8	208±12,1
AST, birlik/l	195±14,1	587±28,1	208,8±15,8	359±21,5	398±24,3
IF, birlik/l	320±45,2	644±51,6	452±26,8	547±48,3	564±49,8

3-jadval. PC-5 ni qorin bo‘shlig‘iga yuborishning biokimyoviy ko‘rsatkichlarga ta’siri (M±m).

ALT faolligi patologik nazoratda 366±32,6 birlik/l bo‘lib, 5 mg/kg PC-5 ta’sirida 118±7,5 birlik/l gacha pasaygan. AST mos ravishda 587±28,1 dan 208,8±15,8 birlik/l gacha kamaygan. Ishqoriy fosfataza 644±51,6 dan 452±26,8 birlik/l gacha pasaygan. 15 va 25 mg/kg dozalarida ushbu markerlarning 5 mg/kg ga nisbatan qo‘shimcha yaxshilanishi kuzatilmagan.

Manba ma’lumotida gepatoproteksiya koeffitsienti 5 mg/kg guruhida 67%, 15 mg/kg da 38% va 25 mg/kg da 50% sifatida keltirilgan. Shu asosda qorin bo‘shlig‘iga yuborish uchun 5 mg/kg samarali terapevtik doza sifatida belgilangan.

CCl_4 bilan chaqirilgan toksik jigar shikastlanishida aminotransferazalarning qonga chiqishi gepatotsit membranasi o‘tkazuvchanligining buzilishi va sitoliz bilan bog‘liq. Ushbu tajribada patologik nazoratda ALT va AST faolligining keskin ortishi modelning shakllanganini ko‘rsatadi. PC-5 fonida fermentlar faolligining pasayishi membrana shikastlanishining kamayishi va gepatotsitlarning funksional holati yaxshilanishi bilan mos keladi.

Umumiy oqsil va ayniqsa albumin miqdorining tiklanishi alohida ahamiyatga ega. Albumin asosan jigarda sintezlanadi; shuning uchun uning pasayishi jigar oqsil-sintetik funksiyasining buzilganligini ko‘rsatishi mumkin. PC-5 ning ayrim dozalarida albumin va umumiy oqsilning intakt ko‘rsatkichlarga yaqinlashishi preparatning ta’siri faqat sitoliz markerlari bilan cheklanmasligini, balki jigar metabolik funksiyasining tiklanishi bilan ham kechishini ko‘rsatadi.

Ishqoriy fosfataza faolligining patologik nazoratda oshishi xolestatik komponent mavjudligini ko‘rsatadi. PC-5 ta’sirida ushbu ko‘rsatkichning pasayishi preparatning gepatobiliar tizimdagi funksional buzilishlarni yumshatishi mumkinligini ko‘rsatadi. Biroq ishqoriy fosfataza to‘qimaga mutlaq xos marker emasligi sababli, kelgusi tajribalarda GGT, umumiy va to‘g‘ri bilirubin kabi qo‘shimcha xolestaz markerlarini kiritish maqsadga muvofiq.

Peroral va qorin bo‘shlig‘iga yuborish natijalari doza va biokiraolishning ahamiyatini ko‘rsatadi. Qorin bo‘shlig‘iga yuborishda 5 mg/kg dozaning yuqori samaradorligi peroral qo‘llashga nisbatan kichik dozada effekt kuzatilishi mumkinligini ko‘rsatadi. Bunda yuborish yo‘llari bo‘yicha to‘g‘ridan-to‘g‘ri statistik taqqoslash manba materialida to‘liq berilmaganligi sababli, ularning teng yoki ustunligini qat’iy xulosa qilish mumkin emas.

Xulosa. O‘tkazilgan tadqiqotlar natijasida Rhus glabra o‘simlik xomashyosidan ekstraksiya va fraksiyalash usullari asosida PC-5 polifenol kompleksi olindi hamda uning xromatografik profili YuSSX yordamida baholandi. PC-5 ning o‘tkir toksikligi o‘rganilib, LD50 qiymati 3550 (2920–4180) mg/kg ni tashkil etishi aniqlandi. CCl4-induksiyalangan jigar shikastlanishi sharoitida umumiy oqsil va albumin miqdorining kamayishi, ALT, AST

va ishqoriy fosfataza faolligining ortishi hamda de Ritis koeffitsientining o‘zgarishi kuzatildi. PC-5 qo‘llanilganda ushbu biokimyoviy ko‘rsatkichlarda ijobiy dinamikalar qayd etilib, umumiy oqsil va albumin miqdorining tiklanishi, aminotransferazalar hamda ishqoriy fosfataza faolligining pasayishi kuzatildi. Peroral yuborishda 300 mg/kg doza bir qator ko‘rsatkichlarni intakt hayvonlar darajasiga yaqinlashtirgan bo‘lsa, manba xulosasida 100 mg/kg doza terapevtik doza sifatida qayd etilgan. Qorin bo‘shlig‘iga yuborishda esa 5 mg/kg doza biokimyoviy ko‘rsatkichlarni tiklash bo‘yicha izchilroq samarani namoyon qilgan. Umuman olganda, olingan natijalar PC-5 polifenol kompleksining CCl4-induksiyalangan jigar shikastlanishida gepatoprotektiv xususiyatlarga ega ekanligini ko‘rsatib, uning tabiiy kelib chiqishga ega istiqbolli gepatoprotektor sifatida keyingi farmakologik, toksikologik va mexanistik tadqiqotlarda chuqurroq o‘rganilishini asoslaydi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Абдуллаева Г.Т.,Чулиев И.Н., Набиев А.Н., Камбурова В.С Влияние протопина гидрохлорида на изменение проницаемости мембран митохондрий при токсическом гепатите // Узб. биол. журн. – 2007. – № 1. – С. 10-13
2. Амикишиева, А. В. Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование / А. В. Амикишиева // Информац. Вестн. ВОГиС. – 2009. – № 3. – С. 529-542.
3. Ахмеров Р.Н., Алматов К.Т., Асанова К., Кулмаматова И.Э., Ширинова И.А. Изменение интевсивности обмена у мышей толерантогенами при гипоксии и высокой темпратуре среды // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. –Ташкент 2002. –N 2. – С. 50-53.
4. Гудратов Н.О. Линейные мыши: достоинства и недостатки // Биомедицина. 2004. – С. 40.
5. Календарь Р. Н., Глазко В. И. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение // Физиология и биохимия культурных растений. – 2002. С.141–56.
6. Камбурова В.С., Асараров М.И., Ким Н.П. / Влияние глицирризиновой и глицирретовой кислот на дыхание и транспорт Ca^{2+} в митохондриях // Хим. природ. соед. – 2002. – Спец.выпуск. – С. 102-103
7. Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Зубенкова Э.С., Вайнсон А.А., Бирюков А.П., Самойлов А.С. Зависимость массы тела от возраста для беспородных белых и восьми линий лабораторных крыс: синтетические исследования данных из экспериментальных работ и питомников в аспекте связи с радиочувствительностью. Некоторые характеристики вида «крыса». Медицинская радиология и радиационная безопасность // 2018. – С. 15–7.
8. Методы статистической обработки медицинских данных: Методические рекомендации для ординаторов и аспирантов медицинских учебных заведений, научных работников / А.Г. Кочетов, О.В. Лянг., В.П. Масенкои др. – М.: РКНПК, 2012. – 42
9. Оковитый С.В. Клиническая фармакология антигипоксантов (часть I) // ФАРМиндекс-Практик. – 2002. – № 6. – С. 40-48.
10. Оковитый С.В. Клиническая фармакология гепатопротекторов // Гепатология. ФАРМиндекс. Практик. – 2002. – № 3. – С. 30-39.