

FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ

Hümik Doğanın Yüksek Moleküler Ağırlıklı Bileşiklerinin Kardiyovasküler Etkileri MV Zykova1 , LA Logvinova1 , MV Belousov1 , TV Lasukova2,3, AS Gorbunov3, ve AM Dygai4

Byulleten ' Eksperimental'noi Biologii i Meditsiny, Vol. 163, hayır. 2, s. 167-170, Şubat 2017 Orijinal makale 20 Haziran 2016'da gönderildi

Turba hümik maddelerinden ekstrakte edilen aktif bileşen, UV ve IR spektroskopisi, titrasyon ve elemental (C, H, N) analizi ile değerlendirilen fizikokimyasal parametrelerle karakterize edildi. Bu bileşenin kardiyovasküler etkileri, izole edilmiş Langendorff ile perfüze edilmiş sıçan kalbi üzerinde incelenmiştir. 0,01-0,1 mg/ml konsantrasyon aralığında aktif maddenin damar genişletici etki yaptığı; ayrıca diyastol sonu ve sol ventrikülde gelişen basınçları azaltmıştır.

Anahtar Kelimeler: hümik asitler; turba; kalp; kardiyovasküler etkiler

Hümik maddeler (H₂S), antihipoksik, antienflamatuar için tescilli ilaçları tasarlamak için kullanılmış olan geniş bir biyolojik aktivite spektrumuna [1-3,7,8,11,12] sahip yüksek moleküler doğal ajanlara aittir. , insanlarda (Humisol, Humivit, Torfotum, vb.) ve hayvanlarda (Hydrohumate, Oxyhumate, Bioeffect DV-1, vb.) immünomodülatör ve antiviral farmakoterapi.

Hümik maddelerin yüksek biyolojik aktivitesi, biyolojik zarlar için belirgin afiniteleri, iyonik taşınmadaki imaları ve enzim aktivitesi üzerindeki modülatör etkileri ile ilişkilidir [11]. Hümik maddelerin sitoprotektif ve adaptojenik özellikleri üzerine yapılan kapsamlı araştırmalara rağmen [1,2], bu maddelerin kardiyovasküler sistem üzerindeki etkisine dair neredeyse hiçbir veri yoktur. Hümik maddelerin biyolojik aktivitesi ile moleküler yapıları arasındaki etkileşimin analizi, fonksiyonel grupların yapısında nitrojen atomlarının varlığının olduğunu göstermektedir.

ve H₂S moleküllerinin çekirdeği, bu maddelerin yüksek aktivitesinin altında yatan temel sebeplerden biridir. Bu paradigmada, hümik maddeler NO vericisi rolünü oynayabilir ve doğrudan kardiyotropik etkiler üretebilir.

Hümik maddeler etiyolojik olarak belirlenmiş polimorfik yapılardır, bu nedenle doğal kaynaklı potansiyel olarak aktif farmasötik bileşenleri (API), bireysel özelliklerini karakterize etmek ve modern gerekliliklere uygun doğru sonuçları elde etmek için bir dizi parametre ile standartlaştırılmalıdır [4].

Amacımız kardiyovasküler etkileri incelemektir. turba HS'den çıkarılan standartlaştırılmış bir API'nin.

MALZEMELER VE YÖNTEMLER

API ekstraksiyonu için üç temsili HS kaynağı seçildi: yayla çam-pamuk çim turba, Büyük Vasyugan Bataklığı'ndan orta odunsuz turba ve Tagan yatağından (Tomsk Bölgesi) ova odun-çim turba. API ekstraksiyonu ve standardizasyonu rutin yöntemlere [4] göre 1) bir Fourier dönüşümü kızılötesi spektrometre FSM-1201 (Infraspek, Rusya) ile gerçekleştirilen kızılötesi (IR) spektroskopisi; 2) UNICO 2800 ile UV spektroskopisi

1Sibirya Devlet Tıp Üniversitesi, Rusya Federasyonu Sağlık Bakanlığı; 2Tomsk Devlet Pedagoji Üniversitesi, Bilim ve Eğitim Bakanlığı; 3Kardiyoloji Araştırma Enstitüsü, 4E. D. Goldberg Farmakoloji ve Rejeneratif Tıp Araştırma Enstitüsü, Tomsk Ulusal Araştırma Tıp Merkezi, Rusya Bilimler Akademisi, Tomsk, Rusya. Yazışma adresi: gmv2@rambler.ru.

spektrofotometre; 3) asit fonksiyonel grupları için tahlil yapmak üzere geri titrasyon; 4) bir CHN Analyzer 1106 (Carlo Erba Strumentazione) ile gerçekleştirilen yanma yöntemine dayalı elemental analiz, numunenin toplam kütlesi ile özetlenmiş C, H ve N kütlesi arasındaki fark olarak oksijen miktarını da verir.

API'nin biyolojik aktivitesi, eter anestezisi altında Wistar sıçanlarından (vücut ağırlığı 250-300 g) izole edilen kalplerde incelenmiştir. Torakotomiden sonra kalp çıkarıldı ve spontan kasılmalar bitene kadar soğuk (40C) Krebs—Henseleit solüsyonuna yerleştirildi. İzole edilen kalbe açık kontur Langendorff yöntemine göre 52 mm Hg sabit basınç altında oksijenli Krebs-Henseleit solüsyonu (%95 O₂ /%5 CO₂ ; pH 7.5, 37.0±0.50 C) perfüze edildi. Kardiyak kasılma aktivitesinin parametreleri, bir MP35 Veri Toplama Sistemi (Biopac Sistemi) ile belirlendi. Çalışma, 0.001, 0.01 ve 0.1 mg/ml konsantrasyonlarında perfüzyon solüsyonunda çözünen API'nin kasılma kuvveti, diyastol sonu basıncı (EDP, mm Hg) ve koroner akış hızı (CFR) üzerindeki etkilerini değerlendirdi. Kardiyak kasılma kuvveti, sistolik ve diyastolik KB arasındaki fark olarak hesaplanan sol ventriküler gelişmiş basınçtan (LVDP, mm Hg) değerlendirildi. CFR, kalpten 1 dakikada geçen perfüzyon miktarı (ml/dak) olarak belirlendi. Tüm parametreler, 20 dakikalık bir perfüzyon akomodasyon süresinden sonra, API uygulama sonrası 10. dakikada ve kalp API içermeyen çözelti ile perfüze edildiğinde 10 dakikalık bir yıkama süresinden sonra kaydedildi. Kontrol kalpleri, aynı rejimle API içermeyen çözelti ile perfüze edildi.

Veriler, Statistica 6.0 yazılımı kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi. Önem, parametrik olmayan Mann—Whitney U testi ile p<0.05 veya p<0.01'de değerlendirildi. Sonuçlar m±SEM olarak özetlendi.

SONUÇLAR

En yüksek nitrojen içeriği, karşılık gelen API'yi en çok promisyen olarak gösteren ova odun-çim turbasından ekstrakte edilen bileşiklerde gözlemlendi.

Turbadan türetilen kardiyovasküler ilaçlar için aramada önemli bir unsur (Tablo 1).

Bu çalışmada kullanılan izole perfüze kalp modelinin bir avantajı, miyokardiyumun herhangi bir organizma kontrol sisteminin düzenleyici etkilerinden serbest bırakılması gerçeğine dayanmaktadır. Bu yaklaşım, incelenen ajanların özellikle miyokard yapısındaki değişiklikler ve kardiyak metabolizmadaki değişikliklerden kaynaklanan içsel kardiyovasküler etkilerini ortaya çıkarabilir.

HS ile ekstrakte edilmiş API, kokusuz, koyu kahverengi amorf bir tozdur. İncelenen API'nin IR spektrumu, 3500-3300, 3250-3200, 2930-2920, 2860-2840, 1460-1440, 900-700, 2600-2500, 1725-1700, 1625-1610, 1510-1500, 1250-1225, 1150-1050 cm⁻¹. Karboksil ve fenolik hidroksil gruplarının içerikleri sırasıyla 2,56 ve 3,12 mEq/g idi.

API'nin UV absorpsiyon spektrumu, kısa dalga tarafında belirgin bir şekilde artan 220-800 nm dalga boyu aralığında toplam absorbansı bildiren düz bir eğriydi. Karşılık gelen dalga boylarında, sönme katsayıları E₄₆₅=0,126±0,004 ve E₆₅₀=0,0397±0,0005, hesaplanan renklilik katsayısı E₄₆₅/E₆₅₀=3,18±0,07 idi.

0.1 mg/ml konsantrasyonda API, API ile desteklenmiş Krebs-Henseleit solüsyonu ile kalbin 10 dakikalık perfüzyonundan sonra meydana gelen önemli bir (p<0.01) CFR artışı ile karakterize edilen belirgin bir kardiyovasküler aktivite sergiledi (Tablo 2). Kontrol serisinde, CFR 30 dakikalık normoksik perfüzyon sırasında önemsiz ölçüde azaldı (Tablo 2). API'nin ortaya çıkan etkisi kısa süreliydi çünkü kalbi yıkadıktan 10 dakika sonra CFR ilgili kontrol değerlerine geri döndü (Tablo 2). 0.01 mg/ml'lik 10 kat daha az konsantrasyonda API ayrıca CFR'de önemli bir artış sağladı, ancak bu durumda etki o kadar belirgin değildi (Tablo 2). Buna karşılık, en az test edilen API konsantrasyonu (0,001 mg/ml) hiçbir etki göstermedi (Tablo 2).

Ek olarak, sunulan veriler API'nin miyokardiyumun kasılma aktivitesini modüle ettiğini göstermektedir.

TABLO 1. Tomsk Bölgesinde Çeşitli Hüyük Maddelerden Elde Edilen API'lerin Elemental Bileşimi ve Atomik Oranları

turba tipi	Külsüz numune başına atomik kütle (atomik yüzde olarak)				Atom oranları*		
	S	N	N	—	Yok	N/K	—
Yayla çam-pamuk çim torf	36,95±0,44	46,16±0,40	1,62±0,02	16,27±0,19	1.28	0.04	0.45
Orta odun-saz turba	37,16±0,39	44,09±0,50	1,84±0,02	16,91±0,20	1.19	0,05	0.45
Ova odun-çim turba	36,12±0,40	44,83±0,41	2,26±0,02	16,79±0,20	1.24	0,06	0,46

Not. *Atomik oranlar ortalama verilerden hesaplanmıştır.

TABLO 2. İzole Sıçan Kalbinde (m±SEM, n=10) API'nin CFR (ml/dak) üzerindeki etkisi

Zaman	Kontrol	API (0.1mg/ml)	API (0.01mg/ml)	API (0,001 mg/ml)
Konaklama dakika 20	13,20±0,39	13,20±0,44	13,10±0,45	13,20±0,41
API perfüzyon dakika 10	11,70±0,26	15,70±0,67**	14,40±0,56*	12,10±0,62
API içermeyen perfüzyon dakika 10	10,90±0,23	11,7±0,3	11,50±0,41	10,50±0,46

Not. Burada ve Tablo 3'te: *p<0.05, **p<0.01, kontrol ile karşılaştırıldığında.

TABLO 3. API'nin İzole Sıçan Kalbinin LVDP ve EDP'sine Etkisi (m±SEM, n=10)

Parametre	Kontrol	API (0.1mg/ml)	API (0,01 mg/ml)	API (0,001 mg/ml)
LVDP, mm Hg				
konaklama dakika 20	73,70±3,50	67,9±3,2	70,0±3,4	71,0±3,2
API perfüzyon dakika 20	73,60±1,24	52,0±4,5**	61,3±4,3*	69,3±4,5
API içermeyen perfüzyon dakika 30	75,10±0,90	60,8±2,9**	65,8±2,8*	70,8±2,7
EDP, mm Hg				
konaklama dakika 20	15,70±0,30	15,20±0,49	15,1±0,5	15,20±0,50
API perfüzyon dakika 10	13,50±0,22	12,5±0,5*	12,9±0,5*	13,20±0,20
API içermeyen perfüzyon dakika 10	13,00±0,25	10,0±0,6**	12,1±0,6*	13,10±0,35

İncelenen maddeler, perfüze kalbin kasılma gücünü önemli ölçüde azalttı ve bu etki, API içermeyen Krebs-Henseleit solüsyonu ile kalbin yıkanması sırasında korundu (Tablo 3). Kasılma kuvvetinin azalması doza bağımlıydı ve bu en yüksek 0.1 mg/kg API'deydi. Aynı deneysel seride API, EDP'yi önemli ölçüde azalttı (Tablo 3).

Ancak, etki 0,01 mg/ml'de daha az belirgindi ve 0,001 mg/ml'de kayboldu (Tablo 3).

Bu nedenle, in vitro deneyler, API'nin doğrudan bir kardiyovasküler etki gösterdiğini ve normoksi altında koroner damar tonunun kontrolüne katıldığını göstermiştir. Bu nedenle API, 0.1 mg/kg'da gözlemlenen maksimum damar genişletici etkiyle koroner dolaşımı modüle eder.

Sunulan verilerin yayınlanmış raporlarla karşılaştırılması, in vitro API kaynaklı kardiyovasküler etki mekanizmalarının (yani, merkezi düzenleyici etkilerin yokluğunda), incelenen API'nin NO üretimi üzerindeki doğrudan etkisi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Vasküler tonusun kontrolünde belirleyici rolün, NO dahil olmak üzere belirli endotelial faktörlere ait olduğu yaygın bir bilgidir [10]. L-arginin'den salınan NO, düz kas hücrelerinde guanilat siklazı aktive ederek bu hücrelerin cGMP üretimine ve aktif gevşemesine neden olur. Kültürlenmiş venöz endotelialiyositlerden elde edilen veriler, API'nin NO oluşumunu uyardığını göstermiştir [9]. NO sentezi uyarıcılarının, tıbbi bitkilerden izole edilen bazı maddeleri içermesi dikkat çekicidir.

API'nin etiyolojik öncülleri olabilen bitkiler [5]. Bu sinyal yolunun aktivasyonunun, API ile indüklenen vazodilatasyonun uygulanmasında anahtar rol oynaması muhtemel görünmektedir. Tüm kalp alt bölümlerinde NO sentazlarının saptanmış olması yol göstericidir [10]; bu nedenle, NO sadece kan damarlarının tonunu ve tepkisini etkilemekle kalmaz, aynı zamanda kardiyak fonksiyonları da modüle eder. NO aynı zamanda hem endotelial hem de indüklenabilir NOS'u eksprese ettiği bilinen kardiyomiyositler tarafından da üretilebilir [10] ve bu da kardiyak fonksiyonların kontrolünde yer alan NO'nun salınmasına neden olur. API'nin kardiyomiyositlerde NO sentezini yukarı-regüle ettiği varsayımına dayanarak, bu bileşenin gösterilen negatif inotropik etkisi aşağıdaki şekilde açıklanabilir. Bildirilen verilere göre [10], NO izole kardiyomiyositlerin kontraktıl kuvvetini düzenler ve diyastolik basıncı düşürür. Muhtemelen, API'nin izole kalpteki benzer etkileri NO sentezi aktivasyonundan da kaynaklanmaktadır.

Bu nedenle, açıklanan izole kalp modelinde API'nin belirgin damar genişletici etkisi, intrakardiyak hemodinamiğin iyileştirilmesi için yeni etkili ilaçların geliştirilmesini amaçlayan bu bileşenin kardiyotropik etkilerinden sorumlu mekanizmaların daha ileri çalışmaları için ufuk açmaktadır.

REFERANSLAR

1. Belousov MV, Zykova MV, Vasil'ev KY, Yusubov MS, Akh medzhanov RR. Tomsk Re'den doğal hümkik asitlerin etkisi

- hipoksik koşullar altında mitokondriyal oksidatif fosforilasyon üzerinde gion ova turbası Ecz. kimya J.2015;49(4):250-253.
2. Buzlama AV, Çernov UN. Hüyük maddeler: Farmakolojik özellikler, etki mekanizmaları ve tıpta kullanım beklentileri. Eksp. Klin. Farmakol. 2010;73(9):43-48. Rusça.
 3. Veremei EI, Zhurba VA. Sığırlarda parmak hastalıklarının tedavisinde torf oksidat kullanımı. Veterinerlik. 2002;8(8):41-43. Rusça.
 4. Zykova MV, Balousov MV, Gur'ev AM, Akhmedzhanov RR, Yusubov MS. Tomsk Bölgesi'nden alçak arazi odun-çim torfunun hüyük asitlerinin standardizasyonu. Khim.-Çiftlik. Zh. 2013;47(12):53-56. Rusça.
 5. Ligacheva AA, Danilets MG, Trofimova ES, Sherstoboev EY, Zhdanov VV, Guriev AM, Belousov MV, Yusubov MS, Korzh AP, Krivoshchekov SV, Dygai AM. Acorus calamus L. ve Trifolium pratense L.'den izole edilen farklı kimyasal yapıya sahip suda çözünür polisakkaritlerin nitrik oksit üretimi üzerine etkileri: bir tarama çalışması. Boğa. Tecrübe. Biol. Med. 2016;160(3):330-336.
 6. Smirnova YuV, Vinogradov VS. Hüyük preparatların etki mekanizması ve işlevleri. Agrokhim. Vestn. 2004;1(1): 22-23. Rusça.
 7. Stepchenko LM, Zhorina LV, Kravtsova LV. Sodyum humatın metabolizma ve yüksek verimliliğe olan direnci üzerindeki etkisi kümes hayvanları Biol. Nauki. 1991;10(10):90-95. Rusça.
 8. Hseu YC, Senthil Kumar KJ, Chen CS, Cho HJ, Lin SW, Shen PC, Lin CW, Lu FJ, Yang HL. İçme suyundaki hüyük asit, reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve nükleer faktör-κB/aktivatör protein-1 sinyal yollarının aktivasyonu yoluyla iltihaplanmaya neden olur: aterosklerozda olası bir rol. Toksikol. Uygulama Eczane. 2014;274(2):249-262.
 9. Hseu YC, Wang SY, Chen HY, Lu FJ, Gau RJ, Chang WC, Liu TZ, Yang HL. Hüyük asit, insan göbük damarı endotel hücrelerinde nitrik oksit oluşumunu indükler: hücre hasarı sırasında nitrik oksit sentazın uyarılması. Serbest Radikal. Biol. İle. 2002;32(7):619-629.
 10. Massion PB, Feron O, Dessy C, Balligand JL. Nitrik oksit ve kalp fonksiyonu: on yıl sonra ve devam ediyor. sirk. Res. 2003;93(5):388-398.
 11. Pena-Mendez EM, Havel J, Patoska J. Hüyük maddeler — hala bilinmeyen yapıya sahip bileşikler: tarım, endüstri, çevre ve biyotıp uygulamaları. J. Uygulama Biyomed. 2005;3(3):13-24.
- [PMC ücretsiz makale] [PubMed] 12. Vucskits AV, Hullar I, Bersényi A, Andrasofszky E, Kulcsar M, Szabo J. Fulvik ve hüyük asitlerin sıçanlarda performans, bağışıklık tepkisi ve tiroid fonksiyonu üzerindeki etkileri. J. Yüz. Fizyol. Animasyon Nutr. (Berlin). 2010;94(6):721-728.
-