UO‘K 577.112.7:615.917

KOBRA, KO‘LVOR, QALQONTUMSHUQ ILONLARI ZAHARI VA ULAR FRAKSIYALARINING ANALGETIK TA’SIR FAOLLIGINI BAHOLASH

E.I. Yuldashev, E.S. Sadikov, N.M. Sultanaliyeva, A.V. Shkinev

Maqolada asosan Markaziy Osiyo hududida tarqalgan ilonlar zaharlari fraksiyalarining og‘riq qoldirish xususiyati o‘rganilgan. Bunda kobra, ko‘lvor va qalqontumshuq ilonlarining zaharlari xromatografiya uslubi bilan mos ravishda Superose-12, Sephacryl S-200 va TSKGEL HW-50 gellari yordamida turli fraksiyalarga ajratildi. Olingan fraksiyalar asosida “issiq plastinka” va “sirkali tirishishlar” testlari bilan sichqonlarda chaqirilgan og‘*riqni bartaraf etish sinovlari zamonaviy og‘riq qoldiruvchi ketanol preparati bilan taqqoslash asosida olib borildi. Tajriba natijalariga ko‘ra, kobra zaharining S-6, S-7 fraksiyalari nazoratga va og‘riq qoldiruvchi ketanol preparatiga nisbatan ijobiy natijalarni berdi. Bu esa ushbu fraksiyalarga yangi og‘riq qoldiruvchi farmakologik vosita sifatida qarash imkonini beradi*.

Kalit so‘zlar: *ilonlar, zahar, fraksiyalar, peptidlar, og‘riq, analgetik preparatlar*.

В статье рассмотрены болеутоляющие свойства фракций ядов змей, распространенных преимущественно в Средней Азии. При этом яды кобры, щитомордника и гремучей змеи были разделены на разные фракции с помощью гелей Superose-12, Sephacryl S-200 и TSKGEL HW-50 соответственно методом хроматографии. На основе полученных фракций были проведены испытания обезболиванию болей, вызванных у мышей, тестами «горячая пластина» и «растирание уксусом», на основе сравнения с современным анальгетиком кетонал. По результатам эксперимента фракции яда кобры S-6 и S-7 дали положительные результаты по сравнению с контролем и обезболивающим препаратом кетанол. Это позволяет рассматривать данные фракции как новое анальгезирующее фармакологическое средство.

Ключевые слова: *змеи, яд, фракции, пептиды, боль, анальгетические препараты*.

Kirish

Hozirgi kunda mavjud og‘riq qoldiruvchi dori vositalari odam organizmiga tushganidan keyin og‘riq qoldirishi bilan birgalikda nojo‘ya salbiy ta’sir ko‘rsatishi ham qayd qilinadi, bu esa tabiiy xomashyo, shu jumladan, ilon zaharlari asosida yangi dorilarni ishlab chiqish zarurligini belgilaydi.

Mazkur ishning maqsadi – Markaziy Osiyo hududida tarqalgan kobra *(Naja oxiana Eichw.)*, ko‘lvor *(Vipera lebetina turanica Ch.)* va qalqontumshuq *(Agkistrodon halys halys)* ilonlari zaharlarining fraksiyalarini antinosiseptiv (og‘riq qoldirish) xususiyatini standart og‘riq modellari *(“issiq plastinka”* va *“sirkali tirishishlar”* testlari)da zamonaviy og‘riq qoldiruvchi ketanol preparati bilan taqqoslash asosida o‘rganishdan iborat.

Ilon zahari – bu quruq vaznining 95% dan ortig‘ini (qolgan 5% lipidlar, uglevodlar va biogen aminlarni o‘z ichiga oladi) tashkil qiluvchi, peptidlar va oqsillar bilan turli xil biologik faol molekulalarni o‘z ichiga olgan ko‘p komponentlarning murakkab aralashmasidir [1]. Zaharning tanaga ta’siri gemotoksik, sitotoksik yoki neyrotoksik bo‘lishi mumkin, bu esa mos ravishda qon hujayralarining shikastlanishiga, to‘qimalarning yallig‘lanishiga yoki asab tizimining buzilishiga olib keladi. O‘ziga xos fiziologik ta’sirlar ilon turlariga va zahar tarkibiga bog‘liq [2]. Tarkibi peptidlar darajasida o‘rganilgan ilonlar zaharlaridan tibbiyot va farmakologiyada keng foydalaniladi. Hozirgi paytda dunyoning ko‘pgina davlatlarida ilonlar zaharlari asosida analgetik va mikrobga qarshi dori vositalarini yaratish bo‘yicha ilmiy tadqiqot ishlari olib borilmoqda [3, 4].

Ilmiy jihatdan ta’rif berilishicha, og‘riq bu – nosiseptiv (“noces” – zararli) ta’sirlar natijasida to‘qimalarning bevosita yoki bilvosita shikastlanishi bilan bog‘liq bo‘lgan sensor yoki emotsional kechinma hisoblanadi. Og‘riq kechishiga ko‘ra har xil turlarga bo‘linadi [5].

Hozirgi paytda og‘riq generatsiyasining boshqariluviga qo‘shimcha ta’siri eng kam bo‘lgan hamda og‘riq jarayoniga imkon qadar bevosita ta’sir ko‘rsata oladigan analgetik vositalar yaratilishiga alohida

ahamiyat berilmoqda. Shulardan biri bu – biotoksinlar, jumladan, ilonlar zahari bo‘lib, ulardan xalq tabobatida asosan yurak-qon tomir tizimi hamda asab kasalliklariga tashxis qo‘yishda va ularni davolashda foydalanib kelinmoqda. Bunday preparatlar samarali davolash xususiyatlariga ega bo‘lish bilan birga ular uzoq vaqt qabul qilinganda ham bu preparatlarga o‘rganib qolish yoki bog‘lanib qolish xavfini yuzaga keltirmaydi. Biotoksinlar – og‘riqning mexanizmlariga aniqlik kiritishda kuchli vosita sifatida o‘rin tutadi, shuningdek, tajriba yo‘li bilan retseptorlarning faollashishi va espressiyalanish konsepsiyasini tekshirish, neyrotransmitterlarni ishlab chiqish va og‘riqning signal yo‘llarini tushunishda muhim o‘rin tutadi. Zaharlarning og‘riq qoldirish mexanizmi ham turlicha bo‘ladi. Asosan asab tizimiga ta’sir etuvchi ilon zaharlarida postsinaptik α-neyrotoksinlar va presinaptik β-neyrotoksinlar mavjud [6]. α-neyrotoksinlar neyromuskul birikmalarida va vegetativ gangliylarda nikotin xolinretseptorlari faolligini qaytar tavsifda bloklaydi (susaytiradi), bunda vegetativ funksiya qisman yoki butunlay yo‘qoladi α-neyrotoksin Xitoy (yoki Tayvan) kobrasidan ajratib olingan va unga kobrotoksin deb nom berilgan [9]. Kobrotoksin ta’sirida o‘sma (saraton) kasalligiga chalingan bemorlarda og‘riq yo‘qolishi Xitoy olimlari tomonidan aniqlangan, biroq undan foydalanishning xavfsizlik masalalariga aniqlik kiritish uchun hali kelgusida ko‘plab tadqiqotlar amalga oshirilishi talab qilinadi [10].

Elapidlar oilasiga mansub ilonlar (kobra) zaharining analgetik xususiyatlari yaxshi o‘rganilgan [8] va bu faollik ular tarkibida mavjud bo‘lgan neyrotoksinlar hamda sitotoksinlar hisobiga amalga oshadi. Sitotoksinlar (kardiotoksinlar ham deyiladi) neyrotoksinlardan farqli ravishda maxsus oqsilli nishonlarga ega emas va ular ko‘pgina hujayralarga nisbatan hatto rak (xavfli o‘smalar)ga ham sitotoksik ta’sir eta oladi [11]. Ko‘lvor iloni zaharidan xavfli o‘sma kasalliklari (erta bosqichlarda) va pes (moxov) kasalligiga tashxis qo‘yishda foydalaniladi, arterial qon bosimini tushirishda, og‘riq qoldiruvchi, bronxial astma, revmatik artrit va boshqa bir qator kasalliklarni davolashda foydalaniluvchi dori vositalarini ishlab chiqarishda foydalaniladi [12]. Kobra (*Naja Naja atra*) ilon tur zahari tajribalarda revmatoid artrit kasalligida og‘iz orqali kiritilganda, antinosiseptiv va yallig‘lanishga qarshi ta’sir ko‘rsatishi aniqlangan [7].

Nanotibbiyot yo‘nalishida qo‘lga kiritilgan yutuqlardan foydalanib, yangi uslublar va yondashuvlarni ishlab chiqish zaharlar asosida ishlab chiqariluvchi yangi dori preparatlarining imkoniyatlaridan yana ham to‘liq foydalanish uchun yo‘l ochib berishi mumkin. Shuningdek, ushbu preparatlarning organizmda kerakli joyga yetkazilishi tizimlarini yaxshilash imkoniyati yuzaga kelishi mumkin [6].

Hozirgi vaqtda Markaziy Osiyo hududlarida tarqalgan ilonlar zaharlarining oqsil-peptid tabiatli tarkibiy qismlarini identifikatsiyalash va ularning analgetik ta’sir faolliklarini o‘rganish, ularning ta’sir mexanizmlarini aniqlash biotoksinlar asosida og‘riq qoldiruvchi vositalarni yaratish nuqtayi nazaridan yangi yo‘nalishning boshlanishi, shuningdek, O‘zbekiston Respublikasida og‘riq bilan kechuvchi kasalliklarni davolashning yangi yo‘nalishi hisoblanadi.

Tadqiqot materiallari va metodlari

Tajribalarda maxsus tashkilotlardan olingan kobra *(Naja oxiana Eichw.)*, ko‘lvor *(Vipera lebetina turanica Ch.)* va oddiy qalqontumshuq *(Agkistrodon halys halys)* ilonlari zaharlari, og‘riq qoldiruvchi preparat (ketanol), Superose-12, Sephacryl S-200, TSKGEL HW-50 gellari va xromatografik qurilma (Pharmacia, Shvetsiya), elektroforez uchun apparat va reaktivlar (Bio rad, AQSh), LMW-marker oqsillari (Sigma, AQSh) va “ч.д.а”, “х.ч” seriyasidagi reaktivlardan foydalanildi.

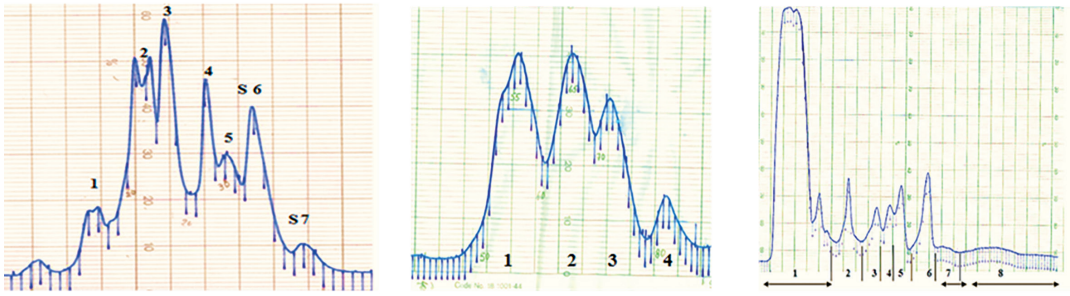
Analgetik faollikni tekshirish uchun tajribalar BBI (Biofizika va biokimyo instituti) axloqiy komissiyasining bayonnomasi (06.01.2021-yil 6-son)ga muvofiq laborator hayvonlar bilan ishlash talablariga javob bergan holda har ikkala jinsdagi og‘irligi 18–22 gramm bo‘lgan oq zotsiz sichqonlarda an’anaviy usullar (“issiq plastinka” va “sirkali tirishishlar” testlari) yordamida o‘tkazildi.

Kobra, ko‘lvor va qalqontumshuq ilonlari zaharlarining analgetik faollikka ega bo‘lgan fraksiyalari xromatografiya uslubi bilan mos ravishda Superose-12, Sephacryl S-200 va TSKGEL HW-50 gellari yordamida ajratib olindi va ularning tozaligi va molekulyar og‘irligi Laemli bo‘yicha SDS–PAAG elektroforez uslublari bilan tekshirildi [13]. Fraksiyalarning analgetik faolligi *“issiq plastinka”* va *“sirkali tirishishlar”* testlari yordamida o‘rganildi. Og‘riq sezgisining boshlang‘ich holati va issiqlik ta’sirida qo‘zg‘alishga nisbatan tekshirilayotgan preparatlarning analgetik ta’siri – *“issiq plastinka”* uslubining asosini tashkil etadi [14]. Preparat yuborilganidan 30 minut, 60 minut va 180 minutdan keyin sichqon 55,0±0,5°C qizdirilgan plastinkaga qo‘yiladi va bir minut davomida latent vaqti, ya’ni issiqni sezishgacha bo‘lgan vaqt belgilanadi. So‘ngra old va orqa oyoqlari kaftlarini yalashi, sakrash holatlari qayd etiladi hamda analgetik faollikni aniqlash uchun o‘rtacha latent vaqti olinadi (guruhda 4–6 tadan sichqon bor). Bu uslub tekshirilayot-

gan preparatning analgetik faolligini, analgeziyaning eng yuqori vaqtini va davomiyligini baholaydi. *"Sirkali tirishishlar"* testi o'tkir visseral va somatik og'riqlarni o'rganishga qaratilgan [15]. Bunda "tirishtiruvchi" o'ziga xos og'riq jarayoni sichqonlarning qorin bo'shlig'iga tekshirilayogan preparat yuborilgandan 0,5 soat, 1 soat va 3 soatdan keyin yana qorin bo'shlig'iga 0,1ml/10gr miqdorda 0,75 foizli sirka kislotasini yuborib, 15 minut davomida qorin muskullarining qisqarishi va bo'shashishi, orqa oyoqlarining uzatilishi hamda bel sohasining bukilishi kuzatiladi. Analgetik faollik nazoratga nisbatan tirishishlar sonining kamayishi bilan belgilanadi (nazorat uchun har ikkala modelda ham 0,9 % li NaCl ishlatiladi), taqqoslash uchun esa zamonaviy og'riq qoldiruvchi preparat sifatida ketanol ishlatildi (sichqonlar uchun doza: 20 mg/kg). Olingan eksperimental natijalar Origin 8.6 dasturi yordamida qayta ishlandi.

Natijalar va ularning muhokamasi

Bundan oldingi tadqiqotlarimizda kobra, ko'lvor va qalqontumshuq ilonlari zaharlarining og'riq qoldiruvchi ta'siri o'rganilgan edi [8]. Ushbu og'riq qoldiruvchi faollikka ega bo'lgan oqsil-peptid tarkibiy qismlarni qidirish va tavsiflash uchun xromatografiya uslubidan foydalanib, mazkur ilonlar zaharlari fraksiyalarga ajratildi. Bunda har bir ilon zahari alohida muhitda fraksiyalarga ajratildi (1-rasm). Xususan, kobra iloni zahari Superose 12 gelida 0,05 M Tris-HCl pH 7,6 bo'lgan bufer yordamida 7 ta (S-1 dan S-7 gacha) fraksiyalarga ajratildi. Buning uchun 50 mg quritilgan zahar 0,5 ml 0,05 M Tris-HCl (pH 7,6) buferida eritildi va 10 minut davomida 9000 ayl/min tezlikda sentrifugada aylantirilib olingan supernatant maxsus kolonkaga solindi. Bunda elyutsiya tezligi 30 ml/soat ga teng bo'ldi (1a-rasm). Ko'lvor iloni zahari esa Sephacryl S-200 gelida 0,1 M ammoniy atsetat pH 7,2 bo'lgan bufer yordamida 4 ta (S-1 dan S-4 gacha) fraksiyaga ajratildi. Buning uchun 150 mg quritilgan zahar 5 ml 0,1 M ammoniy atsetat (pH 7,2) buferida eritildi va 10 minut davomida 6000 ayl/min tezlikda sentrifugada aylantirilib olingan supernatant maxsus kolonkaga solindi. Bunda elyutsiya tezligi 20 ml/soat ga teng bo'ldi (1b-rasm). Xuddi shunday usulda qalqontumshuq iloni zahari ham TSKGEL HW-50 gelida 0,1 M ammoniy bikarbonat pH 7,8 bo'lgan bufer yordamida 8 ta (S-1 dan S-8 gacha) fraksiyalarga ajratildi. Buning uchun 300 mg quritilgan zahar 2 ml 0,1 M ammoniy bikarbonat (pH 7,8) buferida eritildi va 5 minut davomida 6000 ayl/min tezlikda sentrifugada aylantirilib olingan supernatant maxsus kolonkaga solindi. Bunda elyutsiya tezligi 20 ml/soat ga teng bo'ldi (1c-rasm).

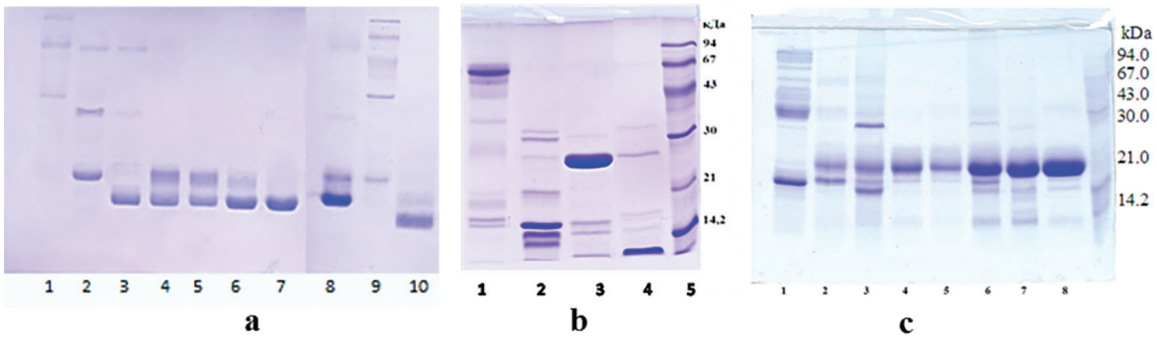


a **b** **c**

1-rasm. Ilonlar zaharlarini gellar yordamida fraksiyalarga ajratish:
a) kobra iloni; b) ko'lvor iloni; c) qalqontumshuq iloni;

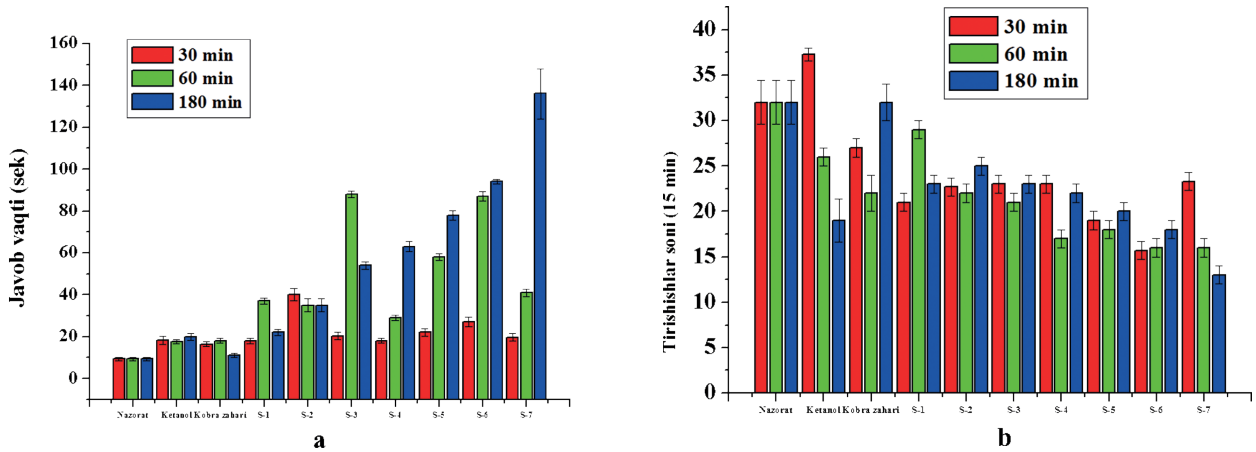
Kobra, ko'lvor, qalqontumshuq ilonlari zaharlari va ulardan olingan fraksiyalarning tozalik darajasi, molekulyar og'irligi SDS–PAAG elektroforez uslubi bilan tekshirildi. Olingan fraksiyalarning denaturatsiyalangan holatda elektroforez uslubi yordamidagi tahlillari natijalari (2-rasm) ko'rsatishicha, kobra iloni zaharining birinchi faol oqsilli fraksiyasida molekulyar og'irligi 55-65 kDa bo'lgan ikkita komponent va ba'zi bir minor komponentlar (<94 kDa va 30 kDa) mavjud. Qolgan oqsilli fraksiyalarining molekulyar og'irligi 16-6,5 kDa bo'lgan polipeptidlardan iboratligi qayd qilindi (2a-rasm). Ko'lvor iloni zaharidan olingan fraksiyalarni nativ va denaturlangan sharoitlarda elektroforez qilish natijasida 1-fraksiya asosan molekulyar og'irligi 43-94 kDa bo'lgan komponentlardan, 2-fraksiya molekulyar og'irligi 14 dan 32 kDa oralig'idagi oqsillardan, 3-fraksiya esa 23-30 kDa molekular og'irlikdagi asosiy komponentlardan iborat ekanligi ko'rsatildi. Xromatografiya uslubida olingan 4-fraksiya ko'rinishidan zaharning quyi molekulali fragment-

lari ekanligini ko‘rsatdi (2b-rasm). Qalqontumshuq iloni zaharidan olingan fraksiyalarning elektroforetik tahlili natijasida yuqori molekulali 1-fraksiya molekulyar og‘irligi 30 dan 100 kDa gacha bo‘lgan oqsillar aralashmasidan iborat ekanligi va denaturlangan sharoitda 15-12 kDa ga teng komponentlar ham aniqlanganligi zaharda geterodimer oqsillar kompleksi mavjud ekanligidan dalolot beradi. Quyi molekulali 4-, 5- 6- va 8-fraksiyalar xromatografiya uslubida kolonkada har xil hajmdagi elyuentlarda ajralgan bo‘lsalar ham, elektroforezda ular 15-16 kDa molekulyar og‘irlikka ega bo‘lgan gomologik oqsillar kabi namoyon bo‘ldilar, bu esa ularning zahardagi oqsil bo‘lmagan komponentlar bilan kompleks hosil qilishi mumkinligini ko‘rsatadi (2c-rasm).



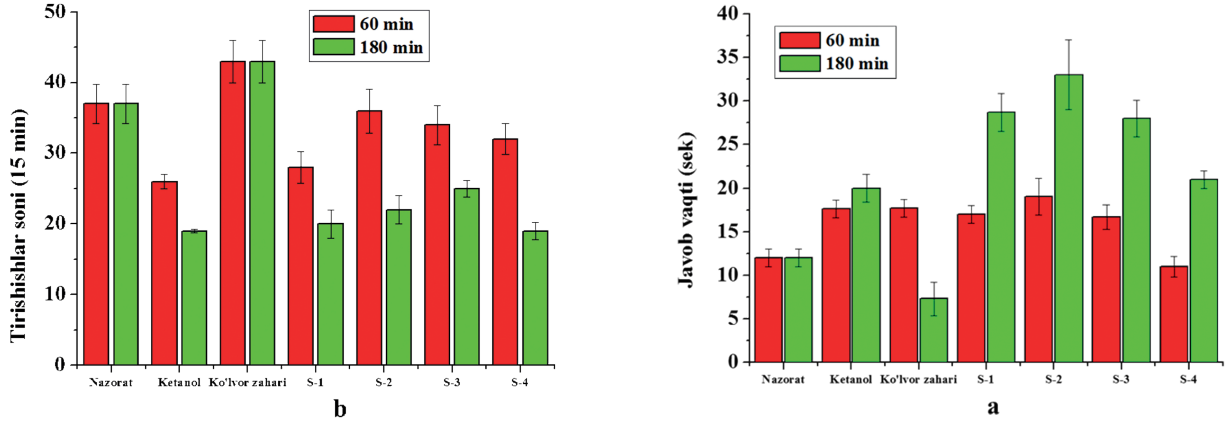
2-rasm. Ilonlar zaharlaridan olingan fraksiyalarning SDS-elektroforezi:
a) kobra iloni; b) ko‘lvor iloni; c) qalqontumshuq iloni;

O‘rganilayotgan ilonlar zaharlari fraksiyalarining analgetik faolligini tadqiq qilish ishlari standart og‘riq modellarida (“issiq plastinka” va “sirkali tirishishlar” testlari) og‘riq qoldiruvchi ta’sir faolligini skrining qilish bo‘yicha tajribalardan boshlandi. Tajribalarni amalga oshirishda mavjud ko‘rsatmalarga amal qilindi [14]. Kobra iloni zahari fraksiyalarining og‘riq qoldiruvchi ta’sirini tadqiq qilish uchun tajriba hayvonlarining (*“issiq plastinka”* testida) qorin bo‘shlig‘iga 0,4 mkg/kg dozada yuborilganidan 0,5, 1, 3 soatdan keyin (nazorat: 9,3±0,7 sek) nazoratga nisbatan latent vaqti aniqlandi va analgetik faolligi og‘riq qoldiruvchi ketanol preparati bilan taqqoslandi. Tajriba hayvonlarida og‘riq sezgisi susayishi 0,5 soatdan keyin shakllandi va tahlil qilinayotgan vaqt 16,4±1,2 sekundgacha o‘zgarishi qayd qilindi. Bunda hayvonlar tanasiga yuborilganidan keyin S-6 va S-7 fraksiyalar 3 soat davomida nazorat, boshqa fraksiyalar va ketanol preparatiga nisbatan yuqori faollikni namoyon qildi (3a-rasm), *“sirkali tirishishlar”* testida ham fraksiyalar yuborilganidan 0,5, 1, 3 soatdan keyin analgetik faollik 15 daqiqa davomida yuzaga keluvchi “tirishishlar” sonining kamayishi bilan baholandi. Bunda “tirishishlar” soni (nazorat: 33±1,0 ta) nazoratga va ketanol preparatiga nisbatan solishtirildi va kerakli natijalar olindi (3b-rasm).



3-rasm. Kobra iloni zahari fraksiyalarining (0,4 mkg/kg) tajriba hayvonlarida: a) “*issiq plastinka*”, b) “*sirkali tirishishlar*” testida og‘riq qoldiruvchi faolligi, (M±m; n=6).

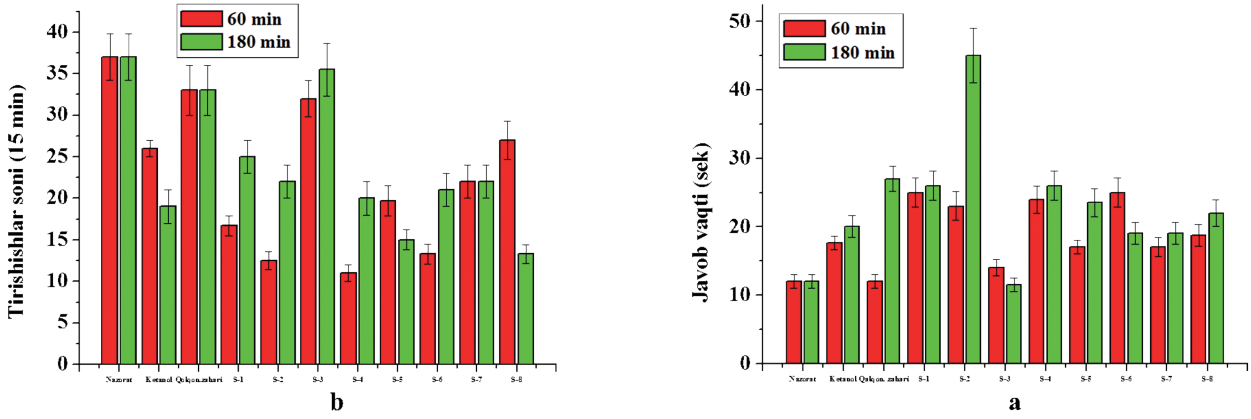
Ko‘lvor iloni zahari fraksiyalari tajriba hayvonlarining (*“issiq plastinka”* testida) qorin bo‘shlig‘iga 50 mkg/kg dozada yuborilganidan keyin latent vaqtining (nazorat: 12±1,0 sek) nazoratga nisbatan o‘zgarishi qayd qilindi. Bunda fraksiyalar ichidan S-2 fraksiya nazoratga nisbatan latent vaqtini 1 soatdan keyin 19,0±2,1 sek.gacha, 3 soatdan keyin esa 33,0±4,0 sek.gacha uzaytirdi (4a-rasm); *“sirkali tirishishlar”* testida esa fraksiyalar yuborilganidan 1 va 3 soatdan keyin (nazorat: 37±2,0 ta) nazoratga nisbatan *“tirishishlar”* soni aniqlandi.



4-rasm. Ko‘lvor iloni zahari fraksiyalarining (0,05 mg/kg) tajriba hayvonlarida: a) “*issiq plastinka”,* b) “*sirkali tirishishlar”* testida og‘riq qoldiruvchi faolligi, (M±m; n=6).

Ko‘lvor iloni zahari fraksiyalaridan asosan S-1 va S-4 nazoratga nisbatan tirishishlar sonini kamaytirdi. Bunda S-1 1 va 3 soatdan keyin tegishli ravishda 28,0±2,2 va 20,3±2,0 tagacha kamaytirgan bo‘lsa, S-4 esa 1 soatdan keyin 32,0±2,2 tagacha, 3 soatdan keyin 19,3±1,2 tagacha kamaytirdi (4b-rasm).

Qalqontumshuq iloni zaharining fraksiyalari tajriba hayvonlarining (“*issiq plastinka”* testida) qorin bo‘shlig‘iga 100 mkg/kg dozada yuborilganidan 1 va 3 soatdan keyin (nazorat: 12±1,0 sek) nazoratga nisbatan latent vaqti aniqlandi.



5-rasm. Qalqontumshuq iloni zahari fraksiyalarining (0,1 mg/kg) tajriba hayvonlarida: a) “*issiq plastinka”,* b) “*sirkali tirishishlar”* testida og‘riq qoldiruvchi faolligi, (M±m; n=6).

Bunda asosan S-1, S-2, S-4, S-8 fraksiyalar latent vaqtini tegishli ravishda (1 va 3 soat) S-1: 25,0±2,2; 26,0±2,2, S-2: 23,0±2,1; 45,0±4,0, S-4: 24,0±2,0; 26,0±2,2, S-8: 18,7±1,6; 22,0±2,0 sek.gacha uzaytirdi (5a-rasm), “*sirkali tirishishlar”* testida ham fraksiyalar yuborilganidan 1 soat o‘tgach, S-1, S-2, S-4 va S-6 fraksiyalar (54–70%), 3 soatdan keyin S-4, S-5, S-8 fraksiylar (46–64%) nazoratga (nazorat: 37±2,0 ta) nisbatan yuqori faollikni namoyon qildi (5b-rasm). Har ikkala test bo‘yicha umumiy xulosa qiladigan bo‘lsak, analgetik faollik deyarli kuzatilmadi. Tajribalarimiz natijalari ko‘rsatishicha, o‘rganilgan barcha ilon

zaharlari fraksiyalarining turli xil darajada og‘riq qoldiruvchi ta’sir ko‘rsatishi qayd qilindi va ketanol preparati bilan taqqoslanganda, ayrim ilon zaharlari deyarli bir xil yoki undan ham past analgetik faollikni namoyon qilganini ko‘rish mumkin.

Xulosa

Ilonlar zaharlarining gemotoksik, sitotoksik va neyrotoksik ta’sirga ega bo‘lgan ko‘p komponentli tarkibi ularni yangi dori-darmonlarni kashf qilish va rivojlantirish uchun potensial manbaga aylantiradi. Olib borgan tajribalarimizda ko‘lvor iloni zaharining fraksiyalari og‘riq jarayonini kuchaytirishi ham, to‘xtatishi ham mumkinligi aniqlandi; qalqontumshuq iloni zaharining fraksiyalari markaziy hamda periferik antinosiseptik ta’sirni namoyon qildi; kobra iloni zaharining fraksiyalari esa, asosan S-6 va S-7 fraksiyalar (molek. og‘irligi 6 kDa dan 7,5 kDa gacha) 0,4 mkg/kg miqdorda markaziy va periferik ta’sirga ega bo‘lib, ketanol preparatiga nisbatan yaxshi ta’sir ko‘rsatdi. Shuning uchun bu fraksiyalarni samarali analgetik vosita deb hisoblash mumkin. Kobra zaharining istiqbolli komponentlari ustida olib borilgan keyingi tadqiqotlar ulardan samarali va xavfsiz dori preparatlarining asosini yaratishda mahalliy xomashyo sifatida foydalanish imkonini beradi.

Adabiyotlar:

1. *Tasoulis T., Isbister G.K.* A review and database of snake venom proteomes.// Toxins, 2017. – № 9. – P. 290.

2. *Oliveira A.L., Viegas M.F., da Silva S.L., Soares A.M., Ramos M.J., Fernandes P.A*. The chemistry of snake venom and its medicinal potential // Nature Reviews Chemistty, 2022. – №6. P. 451–469.

3. *Waheed H., F Moin S., I Choudhary M*. Snake venom: from deadly toxins to life-saving therapeutics // Current Medicinal Chemistry, 2017. – Vol. 24. – №.17. – Pp. 1874–1891.

4. *Pérez-Peinado C., Defaus S., Andreu* D. Hitchhiking with Nature: snake venom peptides to fight cancer and superbugs // Toxins, 2020. – Vol.12. – №. 4. – P. 255.

5. *Бондаренко Д.А., Дьяченко И.А., Скобцов Д.И., Мурашеви А.Н*. In vivo модели для изучения анальгетической активности // Биомедицина, 2011. – № 2. – С. 84–94.

6. *Gazerani P., Cairns B.E*. Venom-based biotoxins as potential analgesics // Expert Review of Neurotherapeutics, 2014. – Vol. 14. – №. 11. – Pp. 1261–1274.

7. *Lopez M.D.A.* Natural products as sources of new drugs. A general overview // The Anales de la *Real Academia* Nacional de Farmacia, 2011. – Vol. 77. – №. 1. – Pp. 12–26.

8. *Yuldashev E.I., Sultanaliyeva N.M., Shkinev A.V., Sadikov E.S*. Markaziy Osiyo ayrim ilonlari zaharlarining og‘riq qoldirish xususiyatini o‘rganish. // Инфекция, иммунитет и фармакология, 2023. – № 3. – Б. 196–203.

9. *Koh D. C. I., Armugam A., Jeyaseelan K*. Snake venom components and their applications in biomedicine // Cellular and Molecular Life Sciences, 2006. – Vol. 63 (24). – Pp. 3030–3041.

10. *Osipov A., Utkin Y*. Effects of snake venom polypeptides on central nervous system // Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry, 2012. –Vol.12(4). – Pp. 315–328.

11. *Konshina A.G., Dubovskii P.V., Efremov R.G*. Structure and dynamics of cardiotoxins // Current Protein & Peptide Science, 2012. – Vol. 13(6). Pp. 570–584.

12. *Пигулевский С.В*. Ядовитые змеи и первая помощь при их укусах. – Ленинград: Медгиз, 1961. – 76 с.

13. *Laemmli U.K*. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature, 1970. – Vol.227. – Pp. 680–685.

14. Методические рекомендации по изучению анальгетичесой активности лекарственных средств // В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / Ред. А.Н.Миронов и др. – Москва: Гриф и К., 2012. – С. 197–218.

15. *Lu Yu, Fei Yang, Hao Luo, Feng-Yu Liu, Ji-Sheng Han, Guo-Gang Xing, You Wan.* The role of TRPV1 in different subtypes of dorsal root ganglion neurons in rat chronic inflammatory nociception induced by complete Freund’s adjuvant // Molecular Pain, 2008. – Vol. 4 (61). – Pp. 54–61.

ASSESSMENT OF ANALGESIC ACTIVITY OF VENOM AND THEIR FRACTIONS OF COBRA, GYURZA AND RATTLESNAKES

Eldor I. Yuldashev[1], Erkin S. Sadikov[1], Nodira M. Sultanaliyeva[1], Artur V. Shkinev[1]

Ilmiy xabarnoma. Seriya: Biologik tadqiqotlar – Scientific Bulletin. Series: Biological Research. 2024. 4(80). 60-67.

[1]Institute of Biophysics and Biochemistry under National University of Uzbekistan, Tashkent, 100174, str. University, 174 (Uzbekistan). E-mail: ibb-nuu@mail.ru

Key words: snakes, venom, fractions, peptides, pain, analgesics.

Snake venom is a rich source of bioactive molecules and holds great promise for therapeutic use. These molecules can be divided into enzymes (peptides, proteins) and non-enzymatic substances. Each of them has its medicinal properties.

The purpose of this work is to study the pain-inducing properties of the venom fractions of a cobra, gyurza and rattlesnakes distributed in the territory of Central Asia.

To achieve this goal, the venoms of cobra (S-1 to S-7), gyurza (S-1 to S-4), and rattlesnake (S-1 to S-8) snakes were separated into fractions using Superose-12, Sephacryl S-200 and TSKGEL HW-50 gels, respectively, using the chromatography method. Their purity and molecular weight were determined by SDS-PAAG electrophoresis. Analgesic activities of the obtained fractions were studied, that is, pain relief induced in mice by the “hot plate” and “acetic roots” models was evaluated based on a comparison with the control and the modern painkiller ketonol drug.

In this case, S-2 (14-32 kDa) and S-4 (15-20 kDa) fractions of gyurza venom are the sources of compounds with an analgesic effect, and they showed an analgesic effect in the amount of 50 μg/kg in model experiments. Fractions S-1, S-2 and S-4 (15-20 kDa) of rattlesnake snake venom showed an analgesic effect in pain models in the amount of 100 μg/kg. Analgesic components were also noted in these snake venom fractions. Submolecular (6-7.5 kDa) polypeptide fractions (S-6 and S-7) of cobra venom showed high analgesic activity in standard pain models at 0.4 μg/kg.

Our experiments showed that it was found that the fractions of the gyurza venom can both increase and stop the pain process; fractions of the venom of the rattlesnake snake showed central and peripheral antinociceptive effects; cobra venom fractions, mainly S-6 and S-7 fractions (molecular weight from 6 kDa to 7.5 kDa) have central and peripheral effects in the amount of 0.4 μg/kg, and are better compared to the ketonol drug. had an effect. These fractions can be considered good analgesic peptides. Further research on these promising components of cobra venom will allow them to be used as local raw materials for creating the basis of effective and safe medicinal preparations.

References:

1. Tasoulis, T., Isbister, G.K. (2017) A review and database of snake venom proteomes. *Toxins*. 9(9). Pp. 290.

2. Oliveira, A.L., Viegas, M.F., da Silva, S.L., Soares, A.M., Ramos, M.J., Fernandes, P.A. (2022) The chemistry of snake venom and its medicinal potential. *Nature Reviews Chemistty*. 6. Pp. 451-469.

3. Waheed, H., F Moin, S., I Choudhary, M. (2017) Snake venom: from deadly toxins to life-saving therapeutics. *Current Medicinal Chemistry*. Vol. 24. Issue 17. Pp. 1874-1891.

4. Pérez-Peinado, C., Defaus, S., Andreu, D. (2020) Hitchhiking with Nature: snake venom peptides to fight cancer and superbugs. *Toxins*. Vol. 12. Issue 4. Pp. 255.

5. Bondarenko, D.A., Dyachenko, I.A., Skobcov, D.I., Murashevi, A.N. (2011) *In vivo* modeli dlya izucheniya analgeticheskoj aktivnosti [In vivo models for studying analgesic activity]. *Biomedicina.* 2. Pp. 84-94.

6. Gazerani, P., Cairns, B.E. (2014). Venom-based biotoxins as potential analgesics. *Expert Review of Neurotherapeutics*. Vol. 14. Issue 11. Pp. 1261-1274.

7. Lopez, M.D.A. (2011). Natural products as sources of new drugs. A general overview. *The Anales de la Real Academia* Nacional de Farmacia. Vol. 77. Issue 1. Pp. 12-26.

8. Yuldashev, E.I., Sultanalieva, N.M., Shkinev, A.V., Sadykov, E.S. (2023) Markaziy Osiyo ayrim ilonlari zaharlarining og‘riq qoldirish xususiyatini o‘rganish [The study of the analgesic effect of some Central Asian snake venoms]. *Infeksiya, immunitet i farmakologiya*. 3. Pp. 196-203.

9. Koh, D.C.I., Armugam, A., Jeyaseelan. K. (2006). Snake venom components and their applications in biomedicine. *Cellular and Molecular Life Sciences.* Vol. 63. Issue 24. Pp. 3030-3041.

10. Osipov, A., Utkin, Y. (2012) Effects of snake venom polypeptides on central nervous system. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*. Vol. 12. Issue 4. Pp. 315-328.

11. Konshina, A.G., Dubovskii, P.V., Efremov, R.G. (2012). Structure and dynamics of cardiotoxins. *Current Protein & Peptide Science*. Vol. 13. Issue 6. Pp. 570-584.

12. Pigulevskiy, S.V. (1961). *Yadovitye zmei i pervaya pomoshch pri ih ukusah* [Venomous snakes and first aid for their bites]. Leningrad: Medgiz.

13. Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. Vol. 227. Pp. 680-685.

14. Mironov, A.N. (ed.) (2012). Metodicheskie rekomendacii po izucheniyu analgetichesoj aktivnosti lekarstvennyh sredstv [Methodological recommendations for studying the analgesic activity of drugs]. In: *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskih issledovanij lekarstvennyh sredstv* [Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products]. Part 1. Moscow: Grif i K.

15. Lu Yu, Fei Yang, Hao Luo, Feng-Yu Liu, Ji-Sheng Han, Guo-Gang Xing, You Wan. (2008). The role of TRPV1 in different subtypes of dorsal root ganglion neurons in rat chronic inflammatory nociception induced by complete Freund’s adjuvant. *Molecular Pain*. Vol. 4 No 61. Pp. 54-61.

Mualliflar haqida ma’lumot:

YULDASHEV Eldor Ilhomjon o‘g‘li – O‘zbekiston Milliy universiteti huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti tayanch doktoranti. E-mail: eldorbek_yuldashev92@mail.ru

SADIKOV Erkin Saodatovich – biologiya fanlari nomzodi, O‘zbekiston Milliy universiteti huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti laboratoriya mudiri.

SULTANALIYEVA Nodira Muradovna – biologiya fanlari nomzodi, O‘zbekiston Milliy universiteti huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti katta ilmiy xodimi.

Shkinev Artur Vsevolodovich – biologiya fanlari nomzodi, O‘zbekiston Milliy universiteti huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti katta ilmiy xodimi.