

Copyright © 2016 by Academic Publishing House *Researcher*

Published in the Russian Federation  
European Journal of Medicine. Series B  
Has been issued since 2014.  
ISSN: 2409-6296  
E-ISSN: 2413-7464  
Vol. 5, Is. 1, pp. 18-25, 2016

DOI: 10.13187/ejm.s.b.2016.5.18  
[www.ejournal27.com](http://www.ejournal27.com)



UDC 615.2

### The Cardiotonic Effects of Cycloartane Glycoside – Astragaloside VII

<sup>1,\*</sup> Shunkor Khushmatov  
<sup>2</sup> Manzura Agzamova  
<sup>3</sup> Kuzidjan Baratov  
<sup>4</sup> Utkir Inagamov  
<sup>5</sup> I.M. Isaev

<sup>1, 3, 4</sup> Institute of the Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences, Republic of Uzbekistan  
Mirzo Ulugbek Str., Tashkent, 83 100125

<sup>2, 5</sup> Institute of the Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences, Republic of Uzbekistan  
Mirzo Ulugbek Str., 77, Tashkent 100170

\*Corresponding author

E-mail: [Khushmatov\\_Sh.S@bk.ru](mailto:Khushmatov_Sh.S@bk.ru)

#### Abstract

The aim of the present study is to determine the inotropic effect of astragaloside VII on rat papillary muscle. Mechanical activity of muscles was recorded with isometric force transducer (Type SI-KG20; *World Precision Instruments Inc.*; USA). It is established, that astragaloside VII demonstrated biphasic positive inotropic action, this effect can be caused by its modulation of  $\beta$ -adrenoreceptors and  $\text{Ca}^{2+}$ -transporting systems cardiomyocytes.

**Keywords:** inotropic effect, papillary muscle, astragaloside VII,  $\beta$ -adrenoreceptor.

#### Введение

Растения рода *Astragalus* L. используются в народной медицине для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Экстракт растения *Astragalus* L. обладает кардиопротекторным [1, 2, 3, 4, 5] и антигипертензивным [6] эффектом и уменьшает риск остановки сердца при гипертрофии [7, 8, 9, 10]. В экспериментальных исследованиях показано, что при гипертрофии миокарда, гликозиды улучшают морфо-функциональные параметры миокарда. Некоторые авторы предположили, что кардиопротекторное действие гликозидов выделенных из растений рода *Astragalus* L. может быть связано с их антиапоптотическим [11, 12, 13, 14] и антиоксидантным эффектом [15].

Установлено, что астрагалозид IV положительно действует на работу сердца при экспериментальной ишемии и гипертрофии миокарда, а также нормализует концентрацию ионов кальция в кардиомиоцитах [8, 9, 10, 13, 16].

Кроме того, существует предположение, что кардиопротекторное действие гликозидов при ишемии миокарда может быть связано с активацией  $\text{K}_{\text{ATP}}$ -каналов кардиомиоцитов [17]. В клинических испытаниях (*in vivo*) показано, что гликозиды, оказывают благоприятное действие при патологии сердечной системы [11, 18, 19].

Растения рода *Astragalus* (сем. *Leguminosae*) широко распространены в Средней Азии. Сотрудниками лаборатории химии гликозидов института химии растительных веществ АН

РУз был выделен и идентифицирован целый ряд тритерпеновых и стероидных гликозидов из растений этого рода [20, 21, 22]. Однако, кардиофармакологическая активность многих из них изучалась фрагментарно и, к настоящему времени, механизм действия до конца не изучен.

Таким образом, целью исследования явилось изучение кардиотонического действия астрагалозида VII на функциональную активность миокарда крысы.

### Материалы и методы исследования

При выполнении настоящей работы был использован астрагалозид VII, выделенный М.А.Агзамовой и др. (ИХРВ АН РУз) из растения *Astragalus sp.* (сем. *Leguminosae*) – заготовленного на территории Узбекистана. Ранее этот гликозид был выделен из *Astragalus kuhitangi* [21].

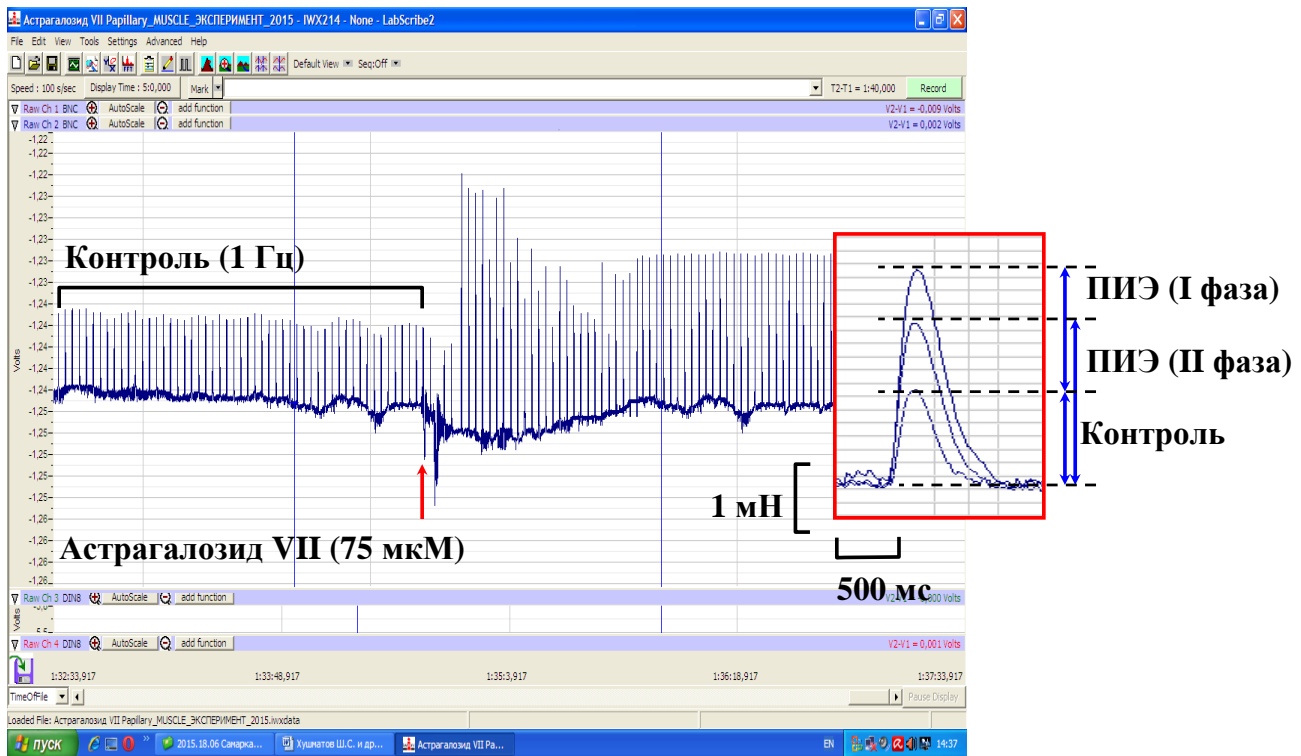
Эксперименты проводили на препаратах папиллярной мышцы беспородных половозрелых белых крыс (150–200 гр.), выделенных из правого желудочка сердца. После декапитации животных, препараты поместили в 4-х вертикально установленных ячейках типа SI-BAM21-LC, предназначенных для фармакологических исследований изолированных мышц в условиях *in vitro* с перфузионным физиологическим раствором Кребса–Хенслайта следующего состава (мМ): NaCl 118; KCl 4,7; CaCl<sub>2</sub> 2,5; MgSO<sub>4</sub> 1,2; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,1; глюкоза 5,5; NaHCO<sub>3</sub> 25, pH=7,4. Температура +36±0,5°С позволяет проводить эксперименты в течение ~8–10 часов без изменения амплитуды сократительной силы папиллярной мышцы. Растворы оксигенировали карбогеном (O<sub>2</sub>–95%, CO<sub>2</sub>–5%). Изучение функциональной активности папиллярной мышцы осуществляли стандартным механографическим методом с помощью преобразователя силы марки SI-KG20 (*World Precision Instruments Inc.* (WPI); USA). Препарат папиллярной мышцы длиной 2–3 мм (Ø=0,5–0,6 мм) закрепляли в экспериментальной камере, один конец подсоединяли к штоку преобразователя силы с помощью специальной проволоочки типа SI-OHO2F (WPI, USA). Мышцу раздражали с помощью платиновых электродов и стимулятора ЭСЛ–2 (Россия) импульсами прямоугольной формы, частотой 0,5–1 Гц, длительностью 10 мс и амплитудой, превышающей пороговую на ~20%. Сигнал с датчика натяжения передается на усилитель (SI-BAM21-LCB, *World Precision Instruments Inc.*; USA) и регистрируется в цифровом формате при помощи 4-канального цифрового преобразователя АЦП/ЦАП (Lab-Trax-4/16, *World Precision Instruments Inc.*; USA) специальным программным обеспечением iWorx LabScribe2 (*iWorx Systems, Inc.* One Washington Street, Suite 404 Dover, NH 03820 USA) (рис. 1).



Рис. 1. Установка для для фармакологического исследования изолированных папиллярной мышцы в условиях *in vitro* (WPI, *World Precision Instruments, Inc.* USA). Объяснение в тексте.

### Обсуждение результатов

В предварительных экспериментах было обнаружено, что при частоте стимуляции 0,5 Гц астрагалозид VII (15 мкМ) первоначально (I фаза) увеличивал силу сокращения миокарда на  $116,43 \pm 6,3\%$ , относительно контроля. Через ~4–6 сек (II фаза) инкубации, положительный инотропный эффект (ПИЭ) астрагалозида VII стабилизировался на  $38,75 \pm 5,2\%$  относительно контроля ( $n=4-7$ ;  $p < 0,05$ ). Аналогично, такой двухфазный положительный инотропный эффект астрагалозида VII наблюдался во всех исследованных концентрациях (15–75 мкМ) и частотах стимуляции (0,5–1 Гц). При этом максимальный положительный инотропный эффект (ПИЭ II фаза) гликозид наблюдался при концентрации 75 мкМ и частоте 1 Гц, когда сила сокращения мышцы увеличивалась на  $79,42 \pm 7,32\%$  ( $p < 0,05$ ) (рис. 2).



*Рис. 2.* Двухфазный положительный инотропный эффект (ПИЭ) астрагалозида VII на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы. Оригинальная запись сократительных ответов папиллярной мышцы при частоте стимуляции 1 Гц ( $+36 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ), стрелкой указан момент добавления астрагалозида VII (75 мкМ).

В этих условиях значение  $EC_{50}$  (концентрация вызывающая увеличение силы сокращения на 50 %) для астрагалозида VII составило 26,92 мкМ или  $pD_2$  ( $-\log EC_{50}$ ) = 4,57 (рис. 3).

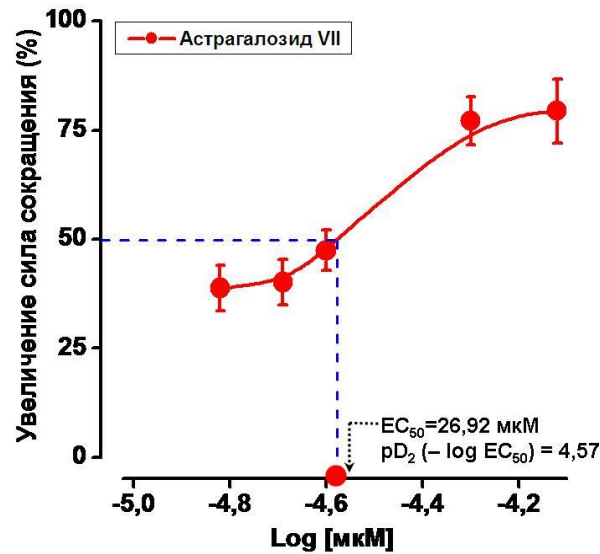


Рис. 3. Кривые доза–эффект астрагалозида VII. По оси ординат – сила сокращения мышцы, выраженная в процентах от максимальной. По оси абсцисс – логарифм концентрации астрагалозида VII в среде инкубации (мкМ).  
Стимуляция препарата проводилась с частотой 1 Гц. Во всех случаях  $p < 0,05$  ( $n = 4-7$ ).

При предварительной инкубации препаратов мышцы ( $\pm$ )–пропранолол гидрохлоридом (10 мкМ), блокатором  $\beta$ –адренорецептора, почти полностью отсутствует положительный инотропный эффект I фазы. При этом ( $\pm$ )–пропранолол гидрохлорид (10 мкМ) оказывает незначительное действие на амплитуду положительного инотропного эффекта II фазы.

При этом активация  $\beta$ –адренорецепторов кардиомиоцита, связанная с  $\beta$ –рецептором трансмембранного G–белка стимулирует фермент аденилатциклазу, что приводит к увеличению цАМФ. В свою очередь цАМФ активирует протеинкиназу А, которая фосфорилирует клеточные белки, включая  $\text{Ca}^{2+}$ –каналы L–типа. Фосфорилирование  $\text{Ca}^{2+}$ –каналов увеличивает ток  $I_{\text{CaL}}$  внутри клетки, повышая высвобождение  $\text{Ca}^{2+}$  из саркоплазматического ретикулума рианодиновым рецептором (RyR), и увеличивает сократимость миокарда (положительный инотропный эффект). Также, фосфорилирование рианодиновых рецепторов RyR приводит к усиленному высвобождению из саркоплазматического ретикулума, вызывая перегрузку  $\text{Ca}^{2+}$  и триггерную активность. Анализируя полученные данные, можно предположить, что положительное инотропное действие (ПИЭ I фаза) астрагалозида VII обусловлено его влиянием на  $\beta$ –адренорецептор кардиомиоцитов, а также способствует увеличению  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$  в результате модификации функции  $\text{Ca}^{2+}$ –канала сарколеммы. Для проверки возможного взаимодействия астрагалозида VII с  $\text{Ca}^{2+}$ –каналами сарколеммы нами было изучено их влияние на эффекты нифедипин – специфического блокатора  $\text{Ca}^{2+}$ –каналов L–типа. При этом, в экспериментах было обнаружено, что в присутствии в среде нифедипина в концентрации 0,01 мкМ частично уменьшается амплитуда положительного инотропного эффекта II фазы на  $19,48 \pm 7,5$  %, но не изменяется ПИЭ I фазы (рис. 4).

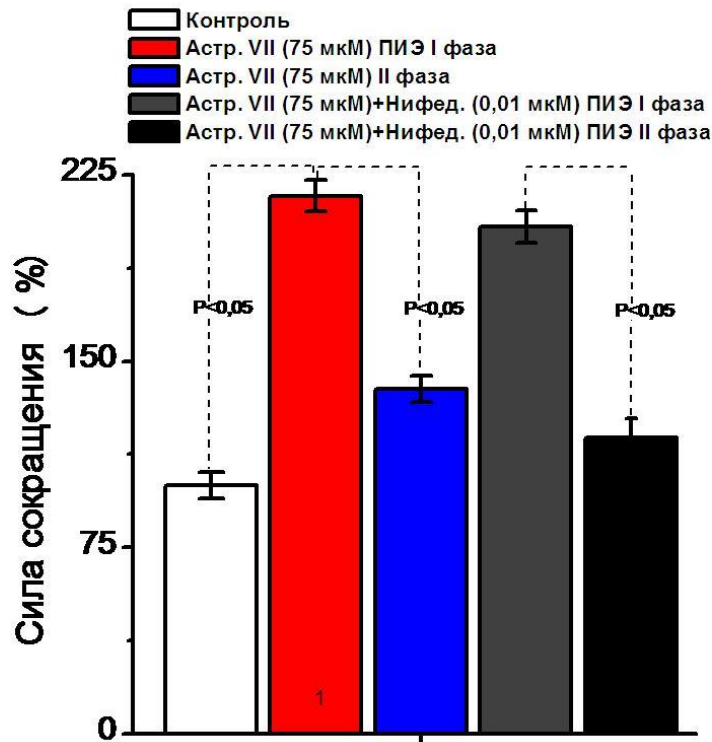
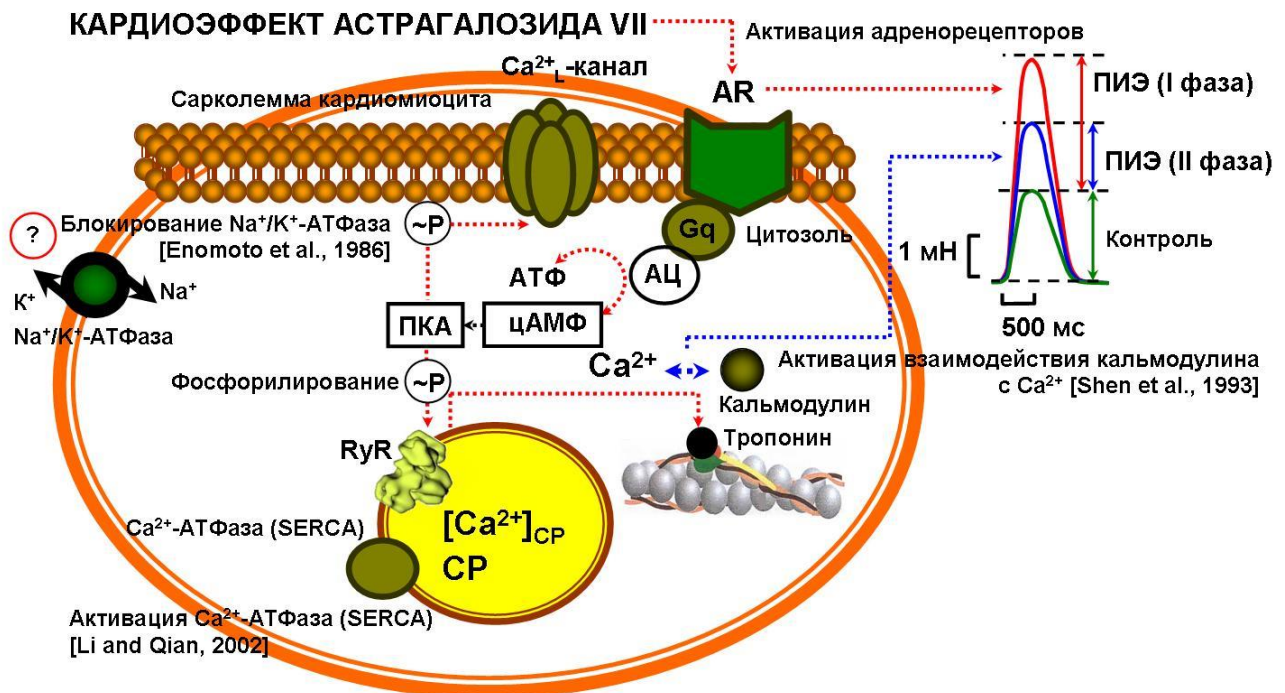


Рис. 4. Сравнительные инотропные эффекты астрагалозида VII (Астр. VII) и нифедипина (Нифед.) на сократительную силу изолированной папиллярной мышцы крысы. Стимуляция: 1 Гц,  $+36 \pm 0,5^\circ\text{C}$  ( $n = 4-7$ ).

Полученные результаты соответствуют приведенным данным некоторых авторов, которые обнаружили, что астрагалозид IV выделенный из некоторых видов растений рода *Astragalus* L. оказывает положительный инотропный эффект на функцию миокарда [23, 24, 25], предотвращают перекисное окисление липидов, уменьшают коагуляцию системы крови [26]. Кроме того, что положительный инотропный эффект астрагалозидов уменьшается в присутствии в инкубационной среде блокатора  $\text{Ca}^{2+}$ -канала верапамила. Авторы предположили, что этот эффект связан с модификацией транспорта ионов кальция в кардиомиоцитах, но не связан с активностью  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы [27].

Установлено, что астрагалозид IV, выделенный из растения *Astragalus membranaceus*, оказывает кардиопротекторное действие при ишемии (реперфузия), а также нормализует ионов кальция в кардиомиоцитах. Авторы предположили, что этот эффект может быть связан с его стабилизирующим действием на функцию  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы саркоплазматического ретикулума (SERCA) [28, 29].

Некоторые авторы предположили, что активность SERCA увеличивается при действии астрагалозидов, что приводит к увеличению концентрации ионов  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ср}}$  и, следовательно, происходит увеличение силы сокращения миокарда (положительный инотропный эффект) [16] (рис. 5).



**Рис. 5.** Гипотетический механизм кардиотропного эффекта астрагалозида VII. Здесь:  $\beta$ -АР –  $\beta$ -адренорецептор; G – G-белок; АЦ – фермент аденилатциклаза; RyR – рианодинный рецептор; CP – саркоплазматический ретикулум; цАМФ – циклический аденозин монофосфат; PKA – протеинкиназа А; ПИЭ – положительный инотропный эффект.

### Заключение

Таким образом, установлено, что астрагалозид VII оказывает двухфазное положительное инотропное действие, обусловленное его влиянием на  $\beta$ -адренорецепторы и  $Ca^{2+}$ -транспортирующие системы кардиомиоцита. Подробное объяснение механизма действия астрагалозида VII требует дальнейших экспериментальных исследований.

Результаты работ показали, что исследуемое тритерпеновое соединение циклоартанового ряда – астрагалозид VII – представляет значительный интерес для разработки на его основе эффективного кардиотонического лекарственного препарата для использования при патологии сердечно-сосудистой системы.

### Примечания:

1. Sun C.W., Lu W.W. Effects of Astragalus saponins on experimental heart failure // Baiqiu'en Yikedaxue Xuebao. 1994. V. 20(2). P. 125–127.
2. Liu Y.X. et al. Effects of Astragaloside IV on myocardial dynamics and cardiac function with normal and depressant cardiac function in rats // Zhongcaoyao. V. 2001. V. 32(4). P. 332–334.
3. Wu W.P. The experimental study of astragaloside IV on cardiac effect // Zhongyaocai. 2005. V. 28(7). P. 591–592.
4. Zhang W.D. et al. Astragaloside IV from *Astragalus membranaceus* shows cardioprotection during myocardial ischemia in vivo and in vitro // Planta Med. 2006. V. 72. P. 48.
5. Zheng P.L. et al. Influence of astragaloside IV (ASIV) on systolic and diastolic function in dogs with acute heart failure // Zhongguo Yaolixue Tongbao. 2005. V. 21(12). P. 1534–1535.
6. Zhang Y.D. et al. Effects of *Astragalus* saponins on antiinflammation and antihypertension // Acta Pharmacol. Sin. 1984. V. 19. P. 333–337.
7. Hong Y. et al. Study of the inhibitory effect of *Hangqi* (*Astragalus*) injection on experimental cardiac hypertrophy in rats // Zhongchengyao. 2002. V. 24(7). P. 525–529.
8. Yuan G.P. Evaluation of efficacy of *Astragalus* injection in treatment of patients with chronic heart failure // Zhongguo Linchuang Yaolixue Yu Zhilixue. 2003. V. 8(6). P. 710–711.

9. Zhai L.H. et al. The clinical study of *Astragalus* injection in treatment of patients with chronic heart failure // Shanghai Yiyao Zazhi. 1995. V. 11. P. 10–12.
10. Zhu B.Q. et al. Study of the positive effect of Astragala injection on heart // Shanghai Zhongyiyao Zazhi. 1987. V. 7(1). P. 47–48.
11. Luo H.M. et al. Nuclearcardiology study on effective ingredients of *Astragalus membranaceus* in treating heart failure // Zhongguo Zhongxiyi Jiehe Zazhi. 1995. V. 15(12). P. 707–709.
12. Xu M.E. et al. Effects of astragaloside IV on pathogenesis of metabolic syndrome in vitro // Acta Pharmacol. Sin. 2006. V. 27. P. 229–236.
13. Zhang Z.C. et al. Effect of astragaloside on cardiomyocyte apoptosis in murine coxsackie virus B<sub>3</sub> myocarditis // J. Asian Nat. Prod. Res. 2007. V. 9(2). P. 145–51.
14. Zhuanyou Zhao et al. Effects of Astragaloside IV on heart failure in rats // Chin. Med. – 2009. V. 4(6). P. 1–6.
15. Chen L.X. et al. Effects of *Astragalus membranaceus* on left ventricular function and oxygen free radical in acute myocardial infarction patients and mechanism of its cardiotoxic action // Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 1995. V. 15. P. 141–143.
16. Li and Qian. Effects of astragaloside IV on myocardial calcium transport and cardiac function in ischemic rats // Acta Pharm. Sin. 2002. V. 23(10). P. 898–904.
17. Li et al. Chemical constituents and biological activities of saponin from the seed of *Camellia oleifera* // Sci. Res. Essays. 2010. V. 5(25). P. 4088–4092.
18. Lei Z.Y. et al. Action of *Astragalus membranaceus* on left ventricular function of angina pectoris // Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 1994. V. 14(199–202). P. 195.
19. Li S.Q. et al. Clinical observation on the treatment of ischemic heart disease with *Astragalus membranaceus*. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 1995. V. 15. P. 77–80.
20. Агзамова М.А. и др. Тритерпеновые гликозиды *Astragalus* и их генины // Химия природных соедин. 1986. №1. С. 117–118.
21. Agzamova M.A. et al. Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins. XXIX. Cycloartanes of *Astragalus kuhitangi* // Chem. Nat. Comp. 1988. V. 24(6). P. 755–756.
22. Fadeev Yu.M. et al. Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins. XXV. Cyclocanthoside D from *Astragalus tragacantha* // Chem. Nat. Comp. 1988. V. 24. P. 62–65.
23. Shen et al. Positive inotropic activity of Huangqi (*Astragalus membranaceus*) and its active constituent, Astragaloside–XGA. // Acta Pharm. Sin. 1993. V. 14. P. 95.
24. Zhang S. et al. Effects of Astragaloside on hemodynamic and oxygen free radical of myocardium is chemic–reperfusion injury in rats // Chin. J. Inf. Tradit. Chin. Med. 2000. V. 7. P. 7–8.
25. Zhong G.G. et al. Positive inotropic action of *Astragalus membranaceus* saponins on isolated working heart // J. Norman Bethune Univ. Med. Sci. 1994. V. 20. P. 448–449.
26. Purmova J., Opletal L. Phytotherapeutic aspects of diseases of the cardiovascular system. 5. Saponins and possibilities of their use in prevention and therapy // Ceska. Slov. Farm. 1995. V. 44. P. 246–251.
27. Enomoto Y. et al. Positive inotropic action of saponins on isolated atrial and papillary muscles from the guinea–pig // Br. J. Pharm. 1986. V. 88. P. 259–267.
28. Li et al. Effects of astragaloside IV on myocardial calcium transport and cardiac function in ischemic rats // Acta Pharmacologica Sinica. 2002. V. 23(10). P. 898–904.
29. Xiao–Le Xu et al. Astragaloside IV improved intracellular calcium handling in hypoxia–reoxygenated cardiomyocytes via the sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>–ATPase // Pharmacology. – 2008. V. 81(4). P. 325–32.

УДК 615.2

### Кардиотоническое действие циклоартанового гликозида – астрагалозида VII

<sup>1\*</sup> Шункор Хушматов

<sup>2</sup> Манзура Агзамова

<sup>3</sup> Кузиджан Баратов

<sup>4</sup> Уткир Инагамов

<sup>5</sup> И.М. Исаев

<sup>1,3,4</sup> Академия наук Республики Узбекистан, Институт биоорганической химии им. академика А.С. Садыкова, Республика Узбекистан

ул. Мирзо Улугбека, 83, г. Ташкент 100125

<sup>2,5</sup> Академия наук Республики Узбекистан, Институт химии растительных веществ им. С.Ю. Юнусова, Республика Узбекистан

100170 г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека 77

\* Корреспондирующий автор

Институт биоорганической химии им. академика А.С. Садыкова АН РУз, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

E-mail: Khushmatov\_Sh.S@bk.ru

**Аннотация.** Целью настоящего исследования является изучение инотропного действия астрагалозида VII на сократительную активность папиллярной мышцы крысы. Механическая активность мышц регистрировалась в изометрическом режиме с помощью механотрона SI-KG20 (*World Precision Instruments Inc.; USA*). Установлено, что астрагалозид VII оказывает двухфазное положительное инотропное действие, предположительно обусловленное его взаимодействием с  $\beta$ -адренорецепторами и  $Ca^{2+}$ -транспортирующей системой кардиомиоцитов.

**Ключевые слова:** инотропная действия, папиллярная мышца, астрагалозид VII,  $\beta$ -адренорецептор.