

БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

DOI: 10.32743/UniChem.2022.95.5.13563

ИЗУЧЕНИЕ ИНГИБИРОВАНИЯ СЕРДЕЧНЫМИ ГЛИКОЗИДАМИ
СТРОФАНТИДИНОВОГО РЯДА ФЕРМЕНТА Na,K-АТФАЗЫ
И ИХ ПОЛОЖИТЕЛЬНО-ИНОТРОПНОЕ ДЕЙСТВИЕ**Умарова Фатима Таджибаевна***мл. науч. сотр.,
Институт биофизики и биохимии при НУУз,
Республика Узбекистан, г. Ташкент***Хасанова Махфират Амонмурадовна***преподаватель,
Национальный Университет Узбекистана,
Республика Узбекистан, г. Ташкент***Бердиева Хабиба Якубовна***преподаватель,
Национальный Университет Узбекистана,
Республика Узбекистан, г. Ташкент***Рузибоев Хайдарали Собиржонович***доцент,
Национальный Университет Узбекистана,
Республика Узбекистан, г. Ташкент***Хушбактова Зайнаб Абдурахмановна***ст. науч. сотр.,
Институт химии растительных веществ АН РУз,
Республика Узбекистан, г. Ташкент***Гайибова Сабина Наримановна***PhD, ст. науч. сотр., лаборатория растительных цитопротекторов,
Институт биоорганической химии АН РУз,
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: gayibova.sabina@gmail.com*INHIBITION OF Na, K-ATPASE BY CARDIAC GLYCOSIDES
OF THE STROPHANTHIDINE SERIES AND THEIR POSITIVE INOTROPIC EFFECTS**Fatima Umarova***Junior Researcher, Institute of Biophysics and biochemistry,
National University of Uzbekistan,
Uzbekistan, Tashkent***Makhfirat Khasanova***Lecturer,
National University of Uzbekistan,
Uzbekistan, Tashkent***Khabiba Berdieva***Lecturer,
National University of Uzbekistan,
Uzbekistan, Tashkent*

Haydaraly Ruziboev

*Assistant professor,
National University of Uzbekistan,
Uzbekistan, Tashkent*

Zaynab Khushbaktova

*Senior researcher,
Institute of Chemistry of Plant Substances, Uzbek Academy of Sciences,
Uzbekistan, Tashkent*

Sabina Gayibova

*PhD, Senior researcher,
Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences,
Uzbekistan, Tashkent*

АННОТАЦИЯ

Проведён анализ влияния структурно различающихся сердечных гликозидов группы строфантинидина на ферментативную активность Na,K-АТФазы и их положительно-инотропного действия на папиллярную мышцу. Константы ингибирования рассчитывались методом математического моделирования динамических систем по методу Рунге-Кутты. Положительно-инотропный эффект изучался на папиллярных мышцах левого желудочка крыс. Обнаружена корреляция между структурой сердечных гликозидов, их ингибирующим эффектом и изометрическим сокращением папиллярной мышцы.

ABSTRACT

Analysis of the influence of structurally differing heart glycosides of the group of stroopantidine on the enzymatic activity of Na,K-ATPase and their positive-inotropic effect on the papillary muscle is carried out. The inhibition constants were calculated by the method of mathematical modeling of dynamic systems according to the runge-kutta method. A positive-inotropic effect was studied on the papillary muscles of the left-handed roof of rats. A correlation was detected between the structure of heart glycosides, their inhibiting effect and isometric contraction of the papillary muscle.

Ключевые слова: ингибиторы ферментов, структура фермента, структура белка, ингибирование сердечного гликозида, кардиотонические стероиды, взаимосвязь структура-активность, положительный инотропный эффект.

Keywords: enzyme inhibitors, enzyme structure, protein structure, cardiac glycoside inhibition, cardiotonic steroids, structure-activity relationship, positive-inotropic effect.

Na,K-АТФаза представляет ферментную систему, осуществляющая противогradientный перенос ионов натрия и калия через клеточную мембрану за счет энергии гидролиза АТФ. Фермент входит в состав наружных мембран всех животных клеток и обеспечивает поддержание ионного гомеостаза клетки. Na,K-АТФаза состоит из двух пептидных цепей: каталитической α -субъединицы, куда входят ионные центры, ингибиторный участок, центры связывания и гидролиза субстрата, и гликопротеина β -субъединицы [1, 2]. Оба полипептида образуют компактную глобулу, насквозь пронизывающую мембрану [3].

Специфическими ингибиторами Na,K-АТФазы являются сердечные гликозиды, связывающиеся в рецепторном участке фермента. Этот класс растительных соединений относится к кардиотоническим препаратам, с давних времен используемых для борьбы с сердечной недостаточностью. Различают сердечные гликозиды дигиталисного и строфантинидинового ряда. Молекулы сердечных гликозидов состоят из генинов (агликонов) и гликонов. Агликоны имеют стероидную цикло - пентанперигидрофенантроновую структуру, у которых в положении С 17 имеется ненасыщенное лактонное кольцо. В зависимости структуры лактонного кольца генины сердечных гликозидов подразделяют на карденолиды (с пятичленным ненасыщенным кольцом) и буфадиинолиды (с шестичленным дважды ненасыщенным кольцом).

Под гликонами подразумевают остатки циклических сахаров, связанные через кислородный мостик с агликонами в положении С-3 и от этой части зависит сродство сердечных гликозидов к белкам плазмы и миокарда, всасывание и выведение из организма [4]. Na,K-АТФаза является аллостерическим ферментом и не конкурирует с субстратом за место связывания.

Сердечные гликозиды оказывают прямое избирательное действие на миокард и оказывают положительный инотропный эффект, вызывающий усиление сердечных сокращений, отрицательный хронотропный эффект, приводящий к урежению частоты сердцебиений, отрицательный дромотропный эффект, связанный с уменьшением проводимости. Положительное инотропное действие сердечных гликозидов проявляется в условиях сердечной недостаточности, когда удельный объем ограничен вследствие снижения сократимости миокарда.

Целью исследования было изучение процесса торможения сердечными гликозидами строфантинидинового ряда высокоочищенного препарата Na,K-АТФазы (90 % чистоты по белку), полученного из медулы почек свиньи с оценкой инотропного эффекта на папиллярных мышцах крыс и установления корреляции между структурой изученных сердечных гликозидов, их ингибирующим эффектом и положительно-инотропным действием препаратов.

Материалы и методы

В работе использовали сердечные гликозиды, любезно предоставленные Институтом химии растительных веществ АН РУз, а также АТФ, EDTA («Reanal», Венгрия), трис («Serva», ФРГ), остальные реактивы отечественного производства квалификации х.ч. или ос.ч.

Выделение препарата Na,K-АТФ-азы из мозгового слоя почек свиньи осуществляли по методу Йоргенсена [5] в градиенте плотности сахарозы с удельной активностью 25 мкмоль Ф_i на 1 мг белка в мин. АТФ-азную активность определяли по высвобождению неорганического фосфата в среду инкубации, содержащую 130 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 2 мМ MgCl, 1 мМ АТФ, 1 мМ ЭДТА, 30 мМ трис, рН 7,5 в присутствии 0,1 мл сердечного гликозида (Na-K-АТФазная активность) и без него (общая АТФазная активность). Неорганический фосфат определяли по методу Дальсаля [6]. Содержание белка определяли по модифицированному методу Лоури [7].

К растениям, содержащим сердечные гликозиды, относятся разные виды наперстянки (*Digitalis purpurea* L., *Digitalis Lanata* Ehrh. и др.) - дигитоксин, дигоксин; Строфантин (*Strophanthum*) - сердечный гликозид, содержащийся в семенах некоторых многолетних тропических растений (лианах) кутровых (Аросупасеае), строфантин G (*Strophanthus gratus*) – **уабаин**, (*Strophanthus Kombe*) – строфантин К.; ландыш (*Convallaria majalis* L., .) - конваллотоксин; разные виды желтушника (*Erysimum canescens* Roth., *Erysimum cheiranthoides* L.) - эризимин, эризимозид; джут длинноплодный (*Corchorus olitorius* L.) - олиторизид, корхорозид.

Сердечные гликозиды группы строфантина были выделены из растений Средней Азии и частичного синтеза в Институте химии растительных веществ АН РУз. Исследуемые вещества растворяли в воде, а также этиловом спирте и вносили в образец в таком количестве, чтобы конечная концентрация спирта составляла не более 2-4 %.

Кинетические исследования проводились в предстационарном состоянии при $[S]_0 \gg [E]_0$, где $[S]_0$ и $[E]_0$ – начальные концентрации субстрата и фермента при содержании белка в пробе 2 мкг/мл ($1,3 \cdot 10^{-8}$ М), концентрациях субстрата $1 \cdot 10^{-4}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ М, концентрации ингибитора $1 \cdot 10^{-5}$ М. Эксперименты по ферментативной активности проводили для каждой концентрации АТФ по накоплению фосфора неорганического как в присутствии ингибитора так и без него как было описано в работе [8].

Инотропный эффект сердечных гликозидов изучали на папиллярных мышцах левого желудочка

крыс. Препарат сердечной мышцы помещали в термостатируемую перфузионную камеру из органического стекла с питательным раствором при температуре 30°C. Стимуляцию папиллярных мышц проводили электрическим током с частотой 1 Гц, продолжительность импульса 1 мс. Амплитуду изометрического сокращения папиллярных мышц измеряли при концентрациях сердечных гликозидов $5 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-7}$ и $5 \cdot 10^{-8}$ г/л, расчеты проводили в % к контролю.

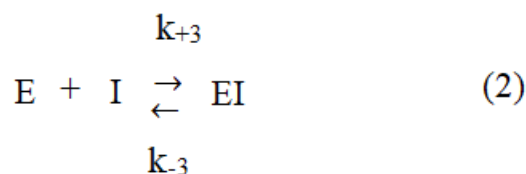
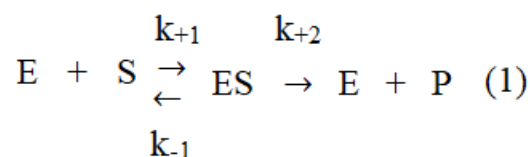
Полученные результаты обрабатывали статистически с помощью программы “Origin 8.6”. Данные оценивали, используя параметрический t-критерий Стьюдента, выражали в виде $M \pm m$. Достоверными считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В таблице 1 приведены структурные формулы строфантина и его производных, их константы ингибирования, положительно- инотропные активности соединений.

Расчет констант ингибирования проводился методом математического моделирования динамических систем.

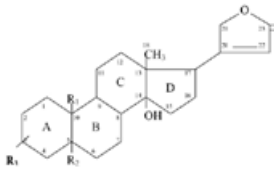
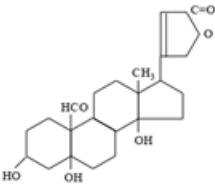
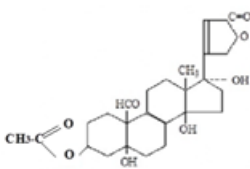
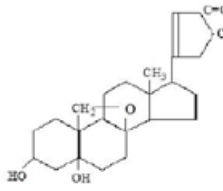
Ферментативную реакцию в случае одностороннего превращения субстрата можно выразить уравнениями (1) и (2):

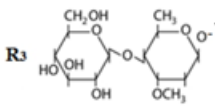
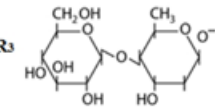
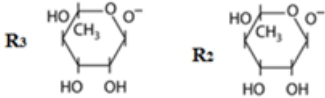


где E – фермент; S – субстрат; ES – фермент- субстратный комплекс; P - продукт реакции; I – ингибитор, EI - фермент- ингибиторный комплекс; k_{+1} и k_{-1} – константы скорости реакций образования и расщепления фермент- субстратного комплекса; k_{+2} - константа скорости распада фермент-субстратного комплекса, k_{+3} и k_{-3} - константы скорости ассоциации и диссоциации фермент-ингибиторного комплекса.

Таблица 1.

**Ингибирование строфантинидом и его производными активности Na,K-АТФазы
и их положительно-инотропное действие на папиллярных мышцах**

	Наименование соединений	Структурная формула соединений	K _{инг} мкМ/л	Положительно-инотропное действие (% к контролю)		
				5·10 ⁻⁷ г/мл	1·10 ⁻⁷ г/мл	5·10 ⁻⁸ г/мл
	Общая формула					
1	Строфантинидин		1,22	20,5± 1,78	12,4± 1,31	6,3± 0,24
2	Строфантинидин-3-ацетат	$R_3 \text{ CH}_2 \text{ C} \begin{matrix} \text{O} \\ \text{O} \end{matrix}$	1,10	42,4± 2,02	17,6± 1,81	12,0± 0,93
3	Строфантидол	$R_1 \text{ CH}_2\text{OH}$	1,46	12,5± 0,97	-	-
4	Строфантинидиновая кислота	$R_1 \text{ COOH}$	26,7	-	-	-
5	17α-Окси-строфантинидин-3-ацетат		3,91	-	-	-
6	17α-Псевдо-строфантидол		48,2	-	-	-
7	Корхорозид-А (строфантинидин-3-бонвинозид)	$R_3 = \begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{HO} \text{---} \text{O} \text{---} \text{O}^- \\ \text{HO} \end{matrix}$	1,33	72,4± 3,41	46,3± 2,73	36,2± 2,18
8	Эризимин (строфантинидин-3-дигитоксозид)	$R_3 = \begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{OH} \text{---} \text{O} \text{---} \text{O}^- \\ \text{OH} \end{matrix}$	1,24	62,5± 3,12	40,2± 2,42	20,4± 1,81
9	Строфантинидин-5-рамнопиранозид-3-ацетат	$R_3 \text{ CH}_2 \text{ C} \begin{matrix} \text{O} \\ \text{O} \end{matrix}$ $R_2 = \begin{matrix} \text{HO} \\ \text{CH}_3 \\ \text{O} \text{---} \text{O}^- \\ \text{HO} \end{matrix}$	1,98	25,4± 1,85	15,1± 1,77	7,5± 0,22

	Наименование соединений	Структурная формула соединений	K _{инг} мкМ/л	Положительно-инотропное действие (% к контролю)		
				5·10 ⁻⁷ г/мл	1·10 ⁻⁷ г/мл	5·10 ⁻⁸ г/мл
10	К-строфантин-β (строфантин-3-строфантобиозид)	 Глюкоза и шимароза	1,11	66,7± 2,54	39,8± 1,92	22,2± 1,66
11	Эризимозид (строфантин-3-дигиланидобинозид)	 Глюкоза и дигитоксоза	1,31	70,1± 3,17	45,6± 2,47	32,7± 2,04
12	Строфантин-3,5-бисрамнопиранозид		1,82	66,1± 2,77	44,8± 2,26	29,3± 1,95

Проведение ферментативной реакции методами предстационарной кинетики в условиях избытка субстрата, который много больше фермента $S \gg E$ приводит к линеаризации кривых, что значительно упрощает вычисление констант скоростей реакции [9, 10, 11]. Однако в предстационарном состоянии кинетику ферментативной реакции необходимо проводить в очень узком временном диапазоне меньше 1 секунды, где требуются высокоточные спектрометры. В некоторых работах для определения констант использовались методы математического моделирования динамических систем в сочетании с методами компьютерной итерации (т. е. многократно повторяющийся численный метод) [12]. В нашей работе эксперименты по ферментативной кинетике проводились при $S \gg E$ и для вычисления кинетических параметров применялся метод математического моделирования динамической системы Рунге-Кутты. Константы ингибирования определяли по формуле $K_i = k_3/k_3$ методом наименьших квадратов, отклонения составляли 0,003.

Механизм положительного инотропного действия сердечных гликозидов связывают с их способностью повышать содержание ионов кальция в кардиомиоцитах. Ингибирование Na,K-АТФ-азы мембраны кардиомиоцитов под действием сердечных гликозидов приводит к увеличению внутриклеточного содержания ионов натрия, который за счет трансмембранного обмена на внеклеточные ионы кальция, стимулирует его поступление в клетку и способствует высвобождению дополнительных количеств кальция из саркоплазматического ретикула. Кальций взаимодействуя с тропониновым комплексом, устраняет его тормозящее влияние на сократительные белки миокарда, что приводит к большему образованию актомиозиновых связей и сильному сокращению сердечной мышцы [4].

В таблице 1 константы ингибирования сердечных гликозидов представлены в микромолях на литр, положительно- инотропное действие выражалось в %

к контролю амплитуды изометрического сокращения папиллярных мышц при концентрациях сердечных гликозидов $5 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-7}$ и $5 \cdot 10^{-8}$ г/л. В исследованные сердечные гликозиды входили строфантин (соед.1) и аналоги агликона (соед.2-6), моногликозиды строфантина (соед.7-9), дигликозиды строфантина (соед.10-12). Для агликонов характерно наличие цис-связи между кольцами А и В, С и D, а также транс-связи между кольцами В и С. Конфигурационные изменения на С-17 атоме углеродного скелета приводят к сильной потере ингибирующей способности.

В структуре строфантина характерным является наличие в молекуле альдегидной группы в положении С-10, метильной группы в положении С-13, гидроксильной группы в радикалах при С-3, при С-5 и в положении С-14. Из таблицы 1 видно, что строфантин обладает сильным ингибирующим действием на Na,K-АТФазу ($K_i = 1,22$ мкМ) и в этом он близок к наиболее известному кардиостероиду убаину ($K_i = 1,04$ мкМ). Строфантин и оказывает умеренное положительно- инотропное действие, соответствующее $\approx 20, 12$ % при концентрациях $5 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-7}$ г/л. Ацетилирование 3-ОН группы строфантина привело к высокому уровню торможения фермента ($K_i = 1,10$ мкМ) и к увеличению положительно- инотропного действия в $\approx 42 - 12\%$ при концентрациях $5 \cdot 10^{-7} - 5 \cdot 10^{-8}$ г/л. Под действием строфантидола, имеющего спиртовую группу при R₁ – радикале, ингибирование фермента уменьшилось в 1,2 раза и влияние на папиллярную мышцу свелось к минимуму, составив лишь ≈ 12 % при концентрации $5 \cdot 10^{-7}$ г/л. Однако введение кислотной группы в R₁ – радикал агликона резко на 2 порядка снизило ингибирующую способность строфантинной кислоты ($K_i = 26,7$ мкМ) и лишило ее положительно- инотропного действия. В ≈ 3 раза уступает своему агликону по эффекту торможения 17α-оксистофантин-3-ацетат, имеющий дополнительную гидроксильную группу при С-15 и ацетатную при С-3 радикале,

также не влияющий на папиллярную мышцу. Практически не тормозит ферментативную активность псевдострофантидола ($K_i = 48,2$ мкМ) с нарушенной структурной целостностью стероидного ядра агликона и не оказывает положительно-инотропного действия.

Среди гликонов высокое ингибирующее действие проявляют моногликозиды строфантина с сахарным компонентом, присоединенным через С-3-ОН группу молекулы агликона. Молекула корхорозида-А, с введенным С-3-бонвинозидом тормозит ферментативную активность с $K_i = 1,33$ мкМ и оказывает сильное положительно-инотропное действие в $\approx 72 - 36\%$ при концентрациях $5 \cdot 10^{-7} - 5 \cdot 10^{-8}$ г/л. Эризимин с С-3-дигитоксозидом подавляет ферментативную активность ($K_i = 1,24$ мкМ) строфантину, но превышает его по положительно-инотропному эффекту в $\approx 62 - 20\%$ при концентрациях $5 \cdot 10^{-7} - 5 \cdot 10^{-8}$ г/л. Введение в ацетат строфантина углеводного остатка в С-5-ОН группу, что видно на молекуле строфантин-5-рамнопиранозид-3-ацетата, приводит к уменьшению эффекта торможения фермента в $\approx 1,6$ раза ($K_i = 1,98$ мкМ) и снижению изометрического сокращения мышцы в $\approx 25 - 7,5\%$ при вышеназванных концентрациях.

Дигликозиды строфантина, имеющие два углеводных производных – биозидов, введенных в молекулу через С-3-ОН радикал, отличаются сильным эффектом торможения ферментативной активности и высоким влиянием на сердечную мышцу. К-строфантин - В (строфантин-3-строфантобиозид) ингибирует Na,K-АТФазу с $K_i = 1,11$ мкМ, и оказывает сильное положительно-инотропное действие, составляющему $\approx 66 - 22\%$ при концентрациях $5 \cdot 10^{-7} - 5 \cdot 10^{-8}$ г/л. Не отстает от него и эризимозид (строфантин-3-дигиланидобиозид) ингибирующий ферментативную активность с $K_i = 1,31$ мкМ и проявляющий положительно-инотропный эффект, равный $\approx 70 - 32\%$ при тех же концентрациях. Но введение двух сахарных компонентов через С-5 и С-3 группы в молекулу строфантин-3,5-бисрамнопиранозида сразу снизило процесс торможения примерно в 1,5 раза, сохранив при этом положительно-инотропное действие в $\approx 66 - 12\%$ при аналогичных концентрациях.

Анализ влияния большого числа структурно различающихся сердечных гликозидов строфантинового ряда на ферментативную активность Na,K-АТФазы позволил выявить взаимосвязь между структурой изученных соединений и их ингибирующим действием. Также установлена взаимосвязь между процессом торможения производными строфантина ферментативной активности и их положительно-инотропным действием на сердечную мышцу.

Изучение генинов строфантина показало, что для связывания с рецепторным участком Na,K-АТФазы весьма важным является структурная целостность стероидного ядра агликона и наличие при С-17 ненасыщенного лактонового кольца. Так замена в строфантине альдегидной группы в положении С-10 на спиртовую и особенно кислотную

группировки, введение дополнительной ОН-группы в С-17 положение (соед. 3-6) снижало, а сильные изменения в структуре псевдострофантидола лишало ее ингибирующей способности. Не оказывали эти соединения и положительно-инотропного действия. Для активации агликона предполагается наличие внутримолекулярного Н – мостика между ОН группой С-14 положения и кислородом при С-22, который обеспечивает подходящую конформацию лактонового кольца. Однако в молекуле 17а – оксistroфантин - 3-ацетата и особенно псевдострофантидола не наблюдалось должной конформации лактонового кольца.

У моногликозидов и дигликозидов строфантина наибольшим торможением ферментативной активности и высоким положительно-инотропным эффектом отличались соединения с введенными через С-3-ОН группу углеводными компонентами (соед. 6,7,11,12). Наличие одной и двух сахарных компонент в молекуле сердечного гликозида, связанных с R_3 – радикалом весьма важно для стабилизации фермент-ингибиторного комплекса как за счет водородных связей в сахарном остатке, так и благодаря полярным группировкам углеводной компоненты, увеличивающих степень растворимости кардиостероидов. Присоединение сахарного компонента через С-5-ОН группировку вызвало снижение процесса торможения ферментативной активности гликонов. Таким образом для активации сердечных гликозидов весьма важным является не только обеспечение при С-17 ненасыщенного лактонового кольца, но и наличие гидроксильных групп при С-3, С-5 и С-14 положениях.

Основным показанием положительно-инотропного действия сердечных гликозидов является сердечная недостаточность, обусловленная перегрузками сердца (артериальная гипертензия, клапанные пороки сердца, атеросклеротический кардиосклероз). При сердечной недостаточности сердечные гликозиды увеличивают ударный и минутный объем, снижают венозное давление и объем циркулирующей крови, улучшают кровоснабжение миокарда. Увеличение силы сердечных сокращений под влиянием кардиостероидов при сердечной недостаточности не сопровождается повышением потребления кислорода миокардом, поскольку уменьшение объема сердца и развиваемого им напряжения переводят его на энергетически более выгодный уровень работы.

Гликозиды группы строфантина являются полярными, мало растворимы в липидах, практически не проникают в соединительную ткань, быстро оказывают действие, быстро выводятся из организма, не обладают кумулятивными свойствами [13]. В проведенной нами работе прослеживается корреляция между ингибирующим действием сердечных гликозидов и их положительно-инотропным действием на сердечную мышцу. Эти данные согласуются с работой [14] по влиянию производных убаина и дигоксина на сократимость миоцитов желудочков кошки, где была обнаружена большая положительно-инотропная варибельность между соединениями как с сильным так и слабым действием пре-

паратов в зависимости от структуры. причем некоторые давали полные инотропные эффекты до наступления автоматизма, в то время как другие оказывали минимальную инотропию даже при больших концентрациях, вызывающих токсичность. Несмотря на то, что в ряде работ выдвигаются альтернативные механизмы инотропии, индуцированные гликозидами как активация каналов высвобождения кальция через рецепторы рианодина, в режиме скольжения, через пути передачи сигналов они не выдерживают проверок и как было показано с использованием убаина, дигоксина и ацетилстрофантидина [15] не находят практических подтверждений изменять переходные процессы Ca^{2+} в инотропных процессах. Хотя в рамках в рамках современной терапии сердечной недостаточности используется также введение β -блокаторов, это не смогло отодвинуть на второй план применение сердечных гликозидов, которые успешно применяются в клинической практике в лечении сердечной патологии [16]. Применение сердечных гликозидов при начальной

или скрытой сердечной недостаточности является не только терапевтическим, но и профилактическим мероприятием, с помощью которого можно выправить имеющиеся функциональные нарушения и предотвратить развитие явной недостаточности сердца.

Таким образом проведенные нами исследования по взаимодействию сердечных гликозидов строфантидинового ряда с Na,K-АТФазой, определение кинетических параметров фермента, вносят существенный вклад в понимание природы процессов регуляции фермента специфическими ингибиторами. Совместное изучение активности сердечных гликозидов на молекулярном уровне на транспортном ферменте и положительно инотропном действии на сердечной мышце оказывает неоценимый вклад для поиска перспективных кардиотонических препаратов в качестве высоко-эффективных лекарственных препаратов целенаправленного действия.

Список литературы:

- Jorgensen P.L., Pedersen P.A. Structure-function relationships of Na, K, ATP, or Mg binding and energy transduction in Na,K-ATPase // *Biochim. et biophys. Acta*. 2001. Vol.1505.№1. P.57-74.
- Laursen M., Yatime L., Nissen P., Fedosova N. Crystal structure of the high-affinity Na⁺,K⁺-ATPase – ouabain complex with Mg²⁺ bound in the cation binding site // *PROC. NATL. ACAD. SCI*. 2013. Vol.110. №27. P. 10958–10963.
- Clausen M.V., Hilbers F., Poulsen H. The Structure and Function of the Na,K-ATPase Isoforms in Health and Disease // *Frontiers in Physiology*. 2017. Vol.8, № 371. P.1-16.
- Cornelius F., Kanai R., Toyoshima C. A Structural View on the Functional Importance of the Sugar Moiety and Steroid Hydroxyls of Cardiotonic Steroids in Binding to Na,K-ATPase // *J. Biological Chemistry*. 2013. Vol. 288. P. 6602-6616.
- Jorgensen P.L. Purification and characterization of (Na⁺,K⁺)-ATPase. III. Purification from the outer medulla of mammalian kidney after selective removal of membrane components by sodium dodecylsulphate // *Biochim. et biophys. acta*. 1974. V. 356. № 1. P. 36—52.
- Panusz H.T., Graczyk G., Wilmanska D., Skarzynski J. Analysis of Orthophosphate-Pyrophosphate Mixtures Resulting from Weak Pyrophosphatase Activities // *Anal. Biochem*. 1970. V. 35. P. 494—504.
- Hartree E.F. Determination of protein. A modification of the Lowry method has a linear photometric response // *Anal. Biochem*. 1972. V. 48. № 2. P. 422—427.
- Umarova F.T., Khushbactova Z.A., Batirov E.H. and Mekler V.M. Inhibition of (Na⁺,K⁺)-ATPase by Flavonoids and Their Inotropic Effect. Investigation of the Structure-Activity Relationship // *Membr. Cell Biol*. 1998. Vol.12. № 1. PP. 27-40.
- Березин И.В., Варфоломеев С.Д. Биокинетика // Москва. 1979. «Наука», 312 с.
- Clarke R.J., Apell H.J., Kong B.Y. Allosteric Effect of ATP on Na⁺,K⁺-ATPase Conformational Kinetics // *Biochemistry*. 2007. Vol. 46, PP. 7034-7044.
- Kane D.J., Fendler K., Grell E., Bamberg E., Taniguchi K., Froehlich J.P., Clarke, R.J. Stopped-flow kinetic investigations of conformational changes of pig kidney Na⁺,K⁺-ATPase // *Biochemistry*. 1997. Vol.36. PP.13406-13420.
- Garcia A., Rasmussen H.H., Apell H.J., Clarke J. Kinetic Comparisons of Heart and Kidney Na⁺,K⁺-ATPases // *Biophysical Journal*. 2012. Vol.103. P. 677–688.
- Харкевич Д.А. Фармакология. М.:Изд. группа «ГЭОТАР-Медиа», 2012.750 с.
- Ruch S.T., Nishio M., Wasserstrom A.J. Effect of Cardiac Glycosides on Action Potential Characteristics and Contractility in Cat Ventricular Myocytes: Role of Calcium Overload // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2003. Vol. 307. № 1. PP. 419-428.
- Altamirano J., Li X., DeSantiago J., Piacentino V., Houser S.R., Donald M.B. The inotropic effect of cardioactive glycosides in ventricular myocytes requires Na⁺-Ca²⁺ exchanger function // *J Physiol*. 2006. Vol. 575. № 3. PP. 845–854.
- Konstantinou D.M., Karvounis H., Giannakoulas G. Digoxin in Heart Failure with a Reduced Ejection Fraction: A Risk Factor or a Risk Marker? // *Cardiology*. 2016. Vol. 134. №3. PP. 11–319.