

УДК 581.19:634.776

## АНТИОКСИДАНТНАЯ И АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ *IN VITRO* СУММЫ ПОЛИФЕНОЛОВ (СУБСТАНЦИИ ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА РУТАН) ЛИСТЬЕВ СУМАХА ДУБИЛЬНОГО *RHUS CORIARIA L.*

© Т.Ф. Арипов, У.Г. Гайибов, С.Н. Гайибова, А.А. Абдуллаев, Д.Ш. Абдуазимова, Ю.И. Ощепкова\*,  
Ш.И. Салихов

Институт биоорганической химии им. акад. А.С. Садыкова АН РУз,  
ул. Мирзо Улугбека, 83, Ташкент, 100125, Республика Узбекистан,  
joshepkova05@rambler.ru

В результате изучения антирадикальной и антиоксидантной активностей в условиях *in vitro* определено, что Рутан обладает высокой антирадикальной активностью по отношению к свободному радикалу ДФПГ, является истинным антиоксидантом, механизм действия которого заключается в отдаче подвижного водорода свободному радикалу, в результате чего происходит обрыв цепи реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ). Данный факт также подтверждается коэффициентом корреляции  $r=0.94$  между проявлением антиоксидантных и антирадикальных свойств. В экспериментах на способность ингибирования открытия mPTP показано, что Рутан оказывает протекторное действие на Mx в зависимости от концентрации, уменьшая повреждающее действие ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на процесс открытия mPTP и является эффективным регулятором и модификатором ЦсА-чувствительной поры Mx. Дополнительно Рутан влияет на активность АТФ-зависимого канала и фермента-кардиомаркера – креатинкиназы, тем самым обладая кардиопротекторным механизмом и сохраняя жизнедеятельность клеток миокарда.

**Ключевые слова:** *Rhus coriaria L.*, полифенолы, антиоксидантная активность, антирадикальная активность, дифенилпикрилгидразил, ДФПГ.

**Для цитирования:** Арипов Т.Ф., Гайибов У.Г., Гайибова С.Н., Абдуллаев А.А., Абдуазимова Д.Ш., Ощепкова Ю.И., Салихов Ш.И. Антиоксидантная и антирадикальная активность *in vitro* суммы полифенолов (субстанции противовирусного препарата Рутан) листьев сумаха дубильного *Rhus coriaria L.* // Химия растительного сырья. 2024. №4. С. 138–147. DOI: 10.14258/jcprm.20240413433.

### Введение

Антиоксидантный статус организма – один из универсальных показателей, характеризующих состояние здоровья человека. Практически все патологические процессы в организме, в частности ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, патология клапанов сердца и другие сердечно-сосудистые заболевания сопровождаются развитием оксидативного стресса и образованием свободных радикалов [1].

В многочисленных исследованиях последних лет доказано, что в молекулярных механизмах патогенеза многих заболеваний ключевую роль играет дисбаланс в системе свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты [2]. Избыток свободных радикалов негативно влияет на структуру любых молекул клетки, наиболее интенсивно повреждая липиды. Активация перекисного окисления липидов (ПОЛ), накопление свободных радикалов нарушают структурно-функциональную целостность клеточных мембран и, как следствие, влияют на течение биоэнергетических процессов. В то же время имеются данные, согласно которым при гипоксии усиливается свободнорадикальная активность [1].

Окислительный стресс принимает активное участие в патогенезе не только хронических дегенеративных заболеваний, таких как рак, атеросклероз, артериальная гипертензия и другие сердечно-сосудистые заболевания, неврологических расстройств, дисметаболических состояний [3], но и инфекционных

\* Автор, с которым следует вести переписку.

заболеваний. Респираторно-вирусные заболевания часто связаны с продукцией цитокинов, воспалением и другими патофизиологическими процессами, возникающими в результате окислительно-восстановительного дисбаланса, нарушения тиолового окислительно-восстановительного цикла и других окислительно-восстановительных цепей [4]. Таким образом, гиперпродукция активных форм кислорода (АФК) и депривация антиоксидантных механизмов являются одним из ключевых событий, связанных с репликацией вируса и последующим вирусоассоциированным заболеванием [5].

Важность окислительного стресса при COVID-19 также подкрепляется ролью продукции АФК в сопутствующих заболеваниях. Многие исследования подчеркивают важность окислительно-восстановительных путей как новых клеточных мишеней для терапии, направленной на блокирование, как репликации вируса, так и вызванного вирусом воспаления [6]. Для лечения и профилактики свободнорадикальных патологий используются вещества, обладающие антирадикальной активностью [7]. К числу эффективных средств, в значительной степени обладающих указанными свойствами, могут быть отнесены активные вещества растений, в особенности гидролизуемые танины, флавоноиды, катехины и другие фенольные соединения. Широкий спектр биологических потенциальных возможностей полифенолов напрямую связан с их антиоксидантными свойствами. Много работ посвящено участию флавоноидов в защите растительной клетки от стрессовых факторов и детоксикации АФК, таких как супeroxид ( $O_2^-$ ), пероксид водорода ( $H_2O_2$ ), гидроксильный радикал ( $OH\cdot$ ), синглетный кислород ( $^1O_2$ ), гидропероксильный радикал ( $HO_2\cdot$ ) [8, 9]. Часто накопление полифенольных соединений в клетке рассматривают как индикатор стрессовой физиологической нагрузки [10]. Основным источником АФК в растениях является фотосинтетический электронный транспорт и митохондриальное дыхание [11]. Молекулы полифенолов действуют как антиоксиданты, дезактивирующие АФК в результате переноса одного электрона и одного атома водорода [8]. Эффективный захват и детоксикация АФК происходит за счет гидроксильных радикалов. В кислой среде возможны реакции разрыва бензольного кольца и взаимосвязь углеродного скелета с АФК.

Антирадикальные свойства фенольных соединений обусловлены наличием нескольких гидроксильных групп. Так, на основе теоретической модели строения молекул кверцетина и кверцитрина была установлена решающая роль атома кислорода в В-кольце в проявлении антиоксидантной активности (АОА) [12]. Оценка антиоксидантных свойств плодов таких растений, как черники, красной и черной малины, клубники, ежевики, джекфрута выявила корреляцию между степенью АОА и суммарным содержанием фенольных соединений [13]. Зачастую эти соединения имеют несколько общих механизмов, что делает их способными оказывать защитное действие широкого спектра и могут играть жизненно важную роль в профилактике, лечении COVID-19 и Long COVID-19 [14].

Ранее нами из листьев сумаха дубильного *Rhus coriaria L.* семейства Сумаховые *Anacardiaceae*, произрастающего на территории Узбекистана, была получена сумма полифенолов – субстанция противовирусного препарата Рутан и методом ступенчатой гидрофобной хроматографии были выделены и охарактеризованы индивидуальные полифенолы класса эллаготанинов [15]. В период пандемии COVID-19 противовирусный препарат Рутан Министерством Здравоохранения Республики Узбекистан был разрешен к широкому применению для лечения больных легкой и средней степени тяжести COVID-19 (Рег. удостоверение №DV/M 03750/03/21 от 01.03.2021). Препарат Рутан эффективно ингибирует две жизненно важные ферментные системы вируса SARS-CoV-2: 3CLpro и РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp) вируса [16]. Рутан ингибирует 3CLpro, с помощью которого вирус образует структурные и функциональные белки, выполняющие патологические действия вируса. В результате ингибирования протеазы уменьшается образование функциональных и структурных белков. Изучение механизма RdRp-ингибирующей активности Рутана показало, что он блокирует образование комплекса RdRp-РНК, препятствуя эффективному связыванию RdRp SARS-CoV-2 с РНК с участием двух вспомогательных белков nsp7 и nsp8 и последующей полимеризации РНК [17].

Преимуществом данного препарата является его пероральная форма и, следовательно, возможность его применения в домашних условиях. Дополнительными проведенными клиническими исследованиями было установлено, что применение препарата Рутан у пациентов с COVID-19 легкой и среднетяжелой формы характеризуется отсутствием побочных действий, хорошей переносимостью и безвредностью для организма и оказывает выраженный клинический и значимый противовирусный эффект, а частота постковидных проявлений регистрируется значительно реже, чем у пациентов контрольной группы [18–20].

Цель настоящего исследования – изучение антирадикальной и антиоксидантной активностей в условиях *in vitro* суммы полифенолов (субстанции противовирусного препарата Рутан) из листьев сумаха дубильного *Rhus coriaria L.*

### **Экспериментальная часть**

**Выделение митохондрий.** Митохондрии (Мх) выделяли методом дифференциального центрифugирования из печени крыс массой 150–200 г [21]. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Европейской Конвенцией 2010/63/EU о защите животных, используемых в научных целях [22], и протоколом Комитета по этике животных на базе Института биоорганической химии АН РУз (номер протокола: 133/1а/ч от 4 августа 2014 г.). Животное декапитировали, извлекали печень и помещали ее в стакан с ледяным раствором, содержащим 250 мМ сахарозы, 10 мМ трис-буфера, pH 7.4. После взвешивания печень слегка просушивали между листками фильтровальной бумаги и продавливали через механический пресс. Затем ее гомогенизировали в тефлоновом гомогенизаторе в 6-кратном объеме среды выделения (СВ) следующего состава: 250 мМ сахарозы, 0.5 мМ ЭДТА, 10 мМ трис-буфера, pH 7.4. Ядра и клеточные фрагменты удаляли центрифугированием при 1500 об./мин в течение 7 мин при температуре 0–1 °C на центрифуге РС-6МЦ с ротором углового типа. Митохондрии осаждали и отмывали при 6000 об./мин в течение 15 мин при той же температуре. Для отмычки митохондрий использовали СВ, не содержащую ЭДТА. Осадок митохондрий после отмычки ресусцинировали в СВ, не содержащей ЭДТА, из расчета, что в каждом мл суспензии будет содержаться 50–70 мг белка митохондрий. Полученную густую суспензию хранили во время опыта в стаканчике, помещенном в сосуд со льдом. Все операции по выделению митохондрий выполняли при температуре 0–2 °C.

**Определение антирадикальной активности субстанции противовирусного препарата Рутан.** Антирадикальную активность субстанции определяли стандартным методом измерения кинетики оптической плотности спиртового раствора свободного радикала ДФПГ (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил). Концентрация свободного радикала составляла 0.1 мМ. Соотношение ДФПГ/субстанция – 1 : 10. Изменение оптической плотности спиртового раствора ДФПГ проводили в кюветах, с длиной оптического пути 1 см, в объеме 3 мл, на спектрофотометре UV-5100 при 20 °C сразу после добавления исследуемой субстанции. Исходная концентрация исследуемой субстанции – 1 мг/мл.

**Определение продуктов перекисного окисления липидов митохондрий.** Индукцию неферментативного Fe<sup>2+</sup>/аскорбат – зависимого ПОЛ проводили добавлением 10<sup>-5</sup> M FeSO<sub>4</sub> и 2·10<sup>-4</sup> M аскорбата в среду инкубации, содержащую 125 мМ KCl, 10 мМ Трис-HCl, pH 7.5 и суспензию Мх из расчета 8 мг белка на 1 мл среды инкубации. Инкубацию проводили при температуре 37°C на водяном термостате при постоянном перемешивании в течение 30 мин. Количество образовавшегося малонового диальдегида (МДА) определяли спектрофотометрически при длине волны 540 нм и рассчитывали, пользуясь коэффициентом молярной экстинкции ( $\epsilon = 1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ ) по следующей формуле: нмоль МДА/ мг белка = D / 1.56 × 30.

**Метод изучения активности АТФ-зависимого К-канала.** Для измерения объема митохондриального матрикса использовали подход, основанный на регистрации бокового светорассеивания. Боковое светорассеивание регистрировали на спектрофотометре UV-5100 при длине волны 520 нм. Аликвоту суспензии митохондрий вносили в стандартную среду инкубации следующего состава (в мМ): KCl 125, Нерес 10, сукцинат 5, MgCl<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2.5, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.5, ротенон 0.005 и олигомицин 0.001 (ингибитор FoF1-АТР-азы). Конечное содержание митохондриального белка в кювете составляло 0.25 мг/мл. В отдельных опытах KCl заменяли на эквимолярный NaCl или холинхлорид.

**Метод изучения ингибирования субстанции противовирусного препарата Рутан тРТР.** Кинетику набухания Мх (1 мг белка/мл СИ) измеряли по изменению оптической плотности суспензии Мх при 540 нм в открытой термостатируемой ячейке объемом 3 мл с интенсивным перемешиванием при 28 °C [23]. Среда инкубации для энергизованных Мх содержала 125 мМ KCl, 10 мМ трис-HCl, 2.5 мМ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 мМ ЭГТА, 5 мМ глутамата, 1 мМ малата, pH 7.4; для дезэнергизованных Мх – 0.24 M сахарозу, 10 мМ трис-HCl, 1 мМ ЭГТА, 1 мКМ ротенона, pH 7.4.

**Определение активности креатинкиназы в плазме крови *in vivo*.** Гомогенизированную ткань сердечной мышцы крыс центрифугировали при 1500 об./мин в течение 10 мин. Активность креатинкиназы изучали в супернатанте. Для этого использовали жидкий цветной реагент Creatine Kinase NAC. К 2 мл

супернатанта добавляли 40 мкл реагента и измеряли кинетику реакции в течение 5 мин на спектрофотометре УФ-5100 при длине волн 340 нм [24]. Полученные результаты рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{При } 25^\circ\text{C}: \Delta \text{Abs/min} \times 4127 = U/L \text{ KK}$$

$$\text{При } 37^\circ\text{C}: \Delta \text{Abs/min} \times 8095 = U/L \text{ KK}$$

### *Обсуждение результатов*

В многочисленных исследованиях последних лет доказано, что в молекулярных механизмах патогенеза многих заболеваний ключевую роль играет дисбаланс в системе свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты [2]. Избыток свободных радикалов негативно влияет на структуру любых молекул клетки, наиболее интенсивно повреждая липиды. Активация ПОЛ, накопление свободных радикалов нарушают структурно-функциональную целостность клеточных мембран и, как следствие, влияют на течение биоэнергетических процессов. В то же время имеются данные, согласно которым при гипоксии усиливается свободнорадикальная активность [1].

Антирадикальную активность (APA) обычно определяют путем измерения поглощения синтетического радикала 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ). Анализы восстановления предполагают, что антиоксиданты являются восстановителями, которые реагируют со свободными радикалами [25, 26].

При добавлении субстанции противовирусного препарата Рутан в спиртовой раствор ДФПГ происходит переход свободнорадикальных молекул в нерадикальную форму, при этом интенсивно фиолетовый раствор ДФПГ обесцвечивается. На рисунке 1 представлена кинетика изменения оптической плотности раствора ДФПГ при добавлении Рутана в различных концентрациях. При этом наблюдается резкое снижение оптической плотности раствора ДФПГ, что свидетельствует о его высокой APA (рис. 1).

Для количественной оценки APA использовали радикал ДФПГ, а также параметр  $t_{50}$  – время, необходимое изучаемым препаратам для снижения исходной концентрации радикала на 50% и параметр  $IC_{50}$  – концентрация вещества, необходимое для снижения исходной концентрации радикала на 50%. Результаты приведены в таблице.

Полученные данные свидетельствуют, что Рутан обладает высокой APA по отношению к свободному радикалу ДФПГ.

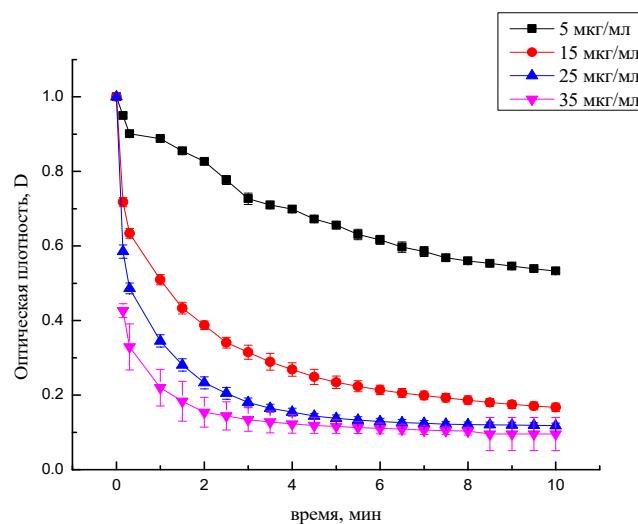


Рис. 1. Изменение оптической плотности спиртового раствора ДФПГ по отношению к контролю при добавлении субстанции противовирусного препарата Рутан в зависимости от времени

Концентрация, ингибирующая на 50% ( $IC_{50}$ ) и время, необходимое для снижения концентрации ДФПГ, на 50% ( $t_{50}$ ) при реакции с Рутаном

IC <sub>50</sub> , мкл	t <sub>50</sub> , сек			
	Рутан	5 мкг/мл	15 мкг/мл	25 мкг/мл
8.4±1.4	–	65±4.5	22±5.2	15±5.6

Дальнейшие исследования заключались в изучении влияния Рутана на процесс ПОЛ мембран. Для этого использовали методику, основанную на индукции ПОЛ в гомогенате печени системой  $\text{Fe}^{2+}$ /аскорбат. Внесение в гомогенат печени систему  $\text{Fe}^{2+}$ /аскорбат индуцирует ПОЛ, в результате чего образуется малоновый диальдегид (МДА). В условиях индукции ПОЛ, при внесении в инкубационную среду Рутана в концентрации 1 мкг/мл из ранее приготовленного раствора мг/мл, наблюдалось незначительное ингибирование ПОЛ. Постепенное увеличение концентрации Рутана в инкубационной среде приводило к дальнейшему ингибированию процесса ПОЛ, что свидетельствует о его антиоксидантных свойствах (рис. 2).

Исследование роли ПОЛ в регуляции важнейших функций клетки представляет интерес по ряду причин. В частности, известно, что перенос электронов по дыхательной цепи (ДЦ) Мх сопровождается образованием АФК, инициирующих реакции перекисного окисления липидов, белков и нуклеиновых кислот [23, 27]. С другой стороны, имеются данные об участии Мх в защите клетки от окислительного стресса (ОС) [28]. В связи с этим далее было изучено действие различных концентраций Рутана на процесс ПОЛ митохондриальных мембран, индуцированный системой  $\text{Fe}^{2+}$ /аскорбат в опытах *in vitro*. Внесение в инкубационную среду систему  $\text{Fe}^{2+}$ /аскорбат индуцирует ПОЛ, в результате чего нарушается барьерная функция митохондриальных мембран, и органеллы резко набухают по сравнению с контролем ( $\text{Fe}^{2+}$ /аскорбат) (рис. 3). В условиях индукции ПОЛ внесение в инкубационную среду Рутана, начиная с концентрации 1 мкг/мл из ранее приготовленного раствора мг/мл, ингибирует набухание митохондрий. Эффект Рутана на ПОЛ в мембранах митохондрий зависит от его концентрации, т.е. с ее увеличением в инкубационной среде процент ингибирования становится более высоким. Полное ингибирование набухания митохондрий, т.е. процесса ПОЛ, отмечается при концентрации Рутана, равной 20 мкл. При этом значение концентрации, вызывающей полумаксимальное ингибирование ПОЛ ( $\text{IC}_{50}$ ), для Рутана составило  $6.08 \pm 0.06$  мкг/мл. Таким образом, в опытах показано, что Рутан обладает антиоксидантными свойствами.

Индукция ПОЛ в Мх приводит к изменению проницаемости мембран, снижению мембранныго потенциала, разобщению ОФ и гидролизу АТФ [27]. Влияние ПОЛ на функции Мх реализуется как на уровне прямого влияния продуктов ПОЛ на липидный матрикс мембран, так и различных опосредованных эффектов [29].

Тот факт, что исследуемое соединение ингибирует накопление продуктов ПОЛ не только в гомогенате печени, но и проявляет высокую антирадикальную активность, свидетельствует о том, что сумма полифенолов субстанции противовирусного препарата Рутан является истинным антиоксидантом, механизм действия которого заключается в отдаче подвижного водорода свободному радикалу, в результате чего происходит обрыв цепи реакции ПОЛ. Данный факт также подтверждается коэффициентом корреляции  $r=0.94$  между проявлением антиоксидантных и антирадикальных свойств.

Одним из важнейших механизмов, через который может быть опосредовано регулирующее влияние реакций ПОЛ на функции Мх, является ЦсА-чувствительная пора их внутренних мембран (mPTP или  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимый мегаканал), переход которой в открытое состояние рассматривается как существенная стадия повреждения Мх при ОС и связанном с ним некрозе и/или апоптозе [28]. Возникает закономерный вопрос, обладает ли Рутан, проявляющий высокую антиоксидантную активность, свойством переводить ЦсА-чувствительную пору (mPTP) в закрытую конфигурацию.

В связи с этим дальнейшие исследования заключались в изучении влияния субстанции препарата Рутан на способность ингибирования открытия mPTP.

Ионы  $\text{Ca}^{2+}$  являются классическими индукторами  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимого мегаканала мембран Мх. В присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в концентрации 10 мкМ наблюдается набухание Мх, что указывает на переход ЦсА-чувствительной поры в открытое конформационное. Циклоспорин А (ЦсА), специфический ингибитор mPTP, препятствует набуханию митохондрий в вышеуказанных условиях, т.е. mPTP остается в закрытом состоянии даже в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$ .

Исходя из того, что в обеспечении проницаемости мембран митохондрий ключевую роль играет  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимая mPTP [30], далее было изучено влияние субстанции препарата Рутан на активность mPTP. Результаты показали, что Рутан ингибирует открытие mPTP, т.е. предотвращает  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированную пермеабилизацию мембран энергизованных (окисляющих сукцинат) митохондрий в условиях *in vitro* (рис. 4). Ингибирующее действие Рутана открытия mPTP наблюдалось, начиная с концентрации 20 мкг/мл. С увеличением концентрации Рутана до 50 мкл степень ингибирования mPTP составляла практически 100%. Полумаксимальная ингибирующая концентрация mPTP Рутана составила  $\text{IC}_{50}=23.7 \pm 1.6$  мкг/мл.

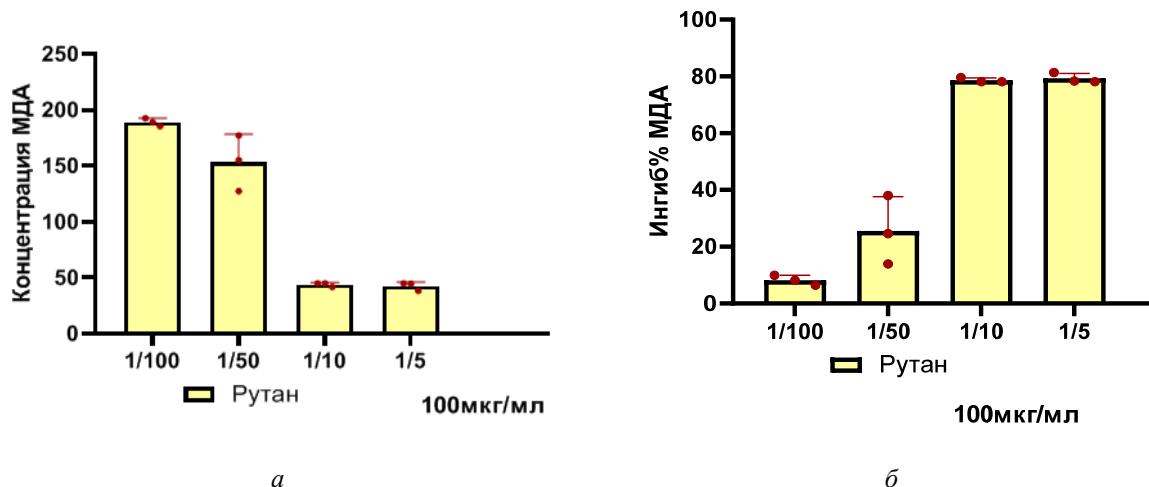


Рис. 2. Действие Рутана на  $\text{Fe}^{2+}$ /аскорбат-индуцированное ПОЛ в гомогенате печени крыс.  
*а* – содержание МДА, *б* – степень ингибирования ПОЛ, %

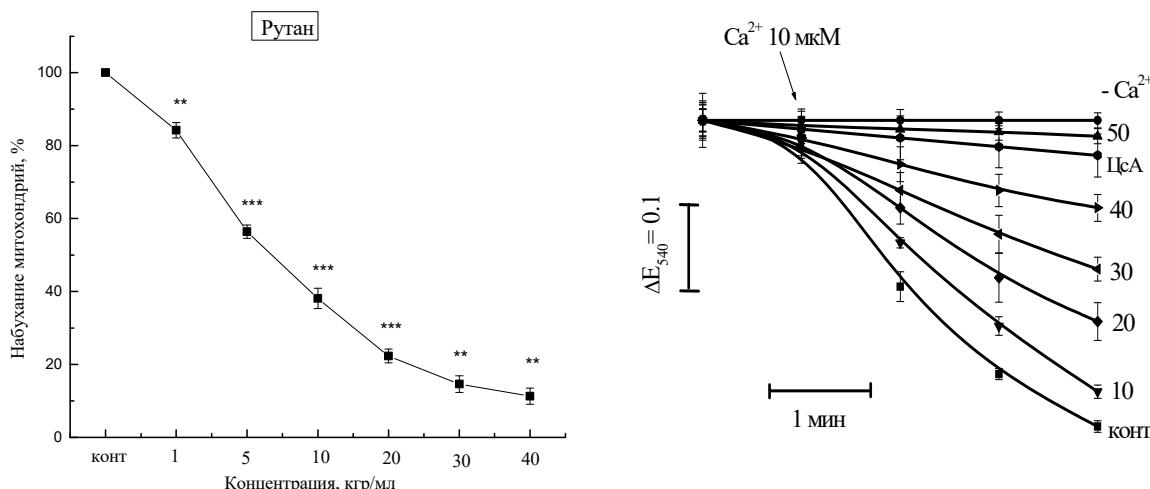


Рис. 3. Действие Рутана на  $\text{Fe}^{2+}$ /аскорбат-индуцированное набухание митохондрий печени крыс

Рис. 4. Действие различных концентраций (мг/мл) Рутана на набухание митохондрий печени

Таким образом, на основании полученных результатов определено, что Рутан оказывает протекторное действие на Мх в зависимости от концентрации, уменьшая повреждающее действие ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на процесс открытия mPTP и является эффективным регулятором и модификатором ЦсА-чувствительной поры Мх.

АТФ-зависимый калиевый канал (mitoK<sub>ATP</sub>) является одним из важных каналов мембранны митохондрий, который контролирует объем матрикса и играет важную роль в образовании мембранны потенциала. Исходя из этого далее было изучено действие Рутана на активность mitoK<sub>ATP</sub> Мх. Анализ экспериментальных данных показывает, что при концентрации 5 мкл Рутан проявляет незначительное активирующее действие данного канала, а при увеличении концентрации Рутана до 10 и 20 мкл активность mitoK<sub>ATP</sub> резко возрастает в 2–2.5 раза по сравнению с контролем (рис. 5).

Согласно литературным данным [31], активаторы mitoK<sub>ATP</sub> могут являться потенциальными кардиопротекторами. Следовательно, фармакологическая активация mitoK<sub>ATP</sub>, как ожидается, будет имитировать эндогенный кардиопротекторный механизм.

Для подтверждения возможного кардиопротекторного действия Рутана были проведены исследования по изучению его влияния на уровень креатинкиназы – фермента-кардиомаркера, который поддерживает соотношение АТФ и АДФ, являясь катализатором преобразований АТФ, при адреналиновой ишемии миокарда крыс (рис. 6).

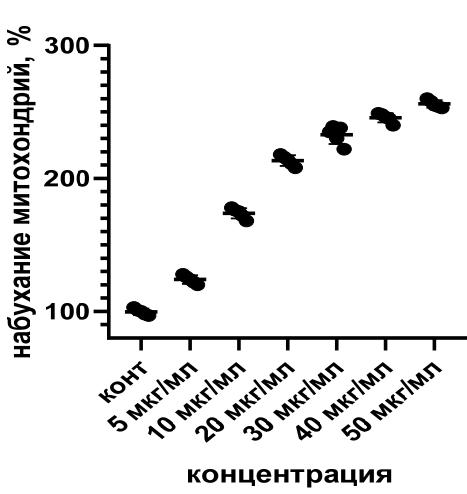


Рис. 5. Влияние Рутана на активность АТФ-зависимого  $K^+$ -канала митохондрий

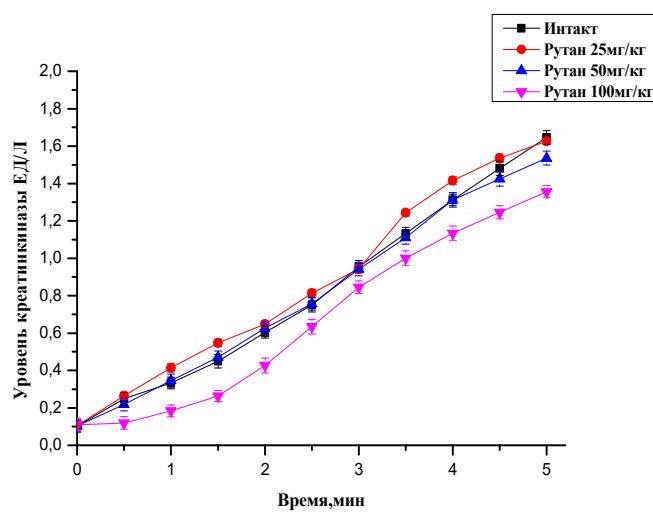


Рис. 6. Влияние Рутана на уровень креатинкиназы в крови крысы

В эксперименте показано дозозависимое снижение креатинкиназы под действием Рутана в диапазоне концентраций 25–100 мг/кг, позволившее предположить наличие кардиопротекторного действия Рутана.

Полученные в работе данные коррелируют с литературными [32], в которых показано наличие некой потенциальной возможности полифенолов изменять оксидативный статус организма ввиду способности *in vitro* выраженного антирадикального эффекта и *in vivo* увеличивать антиоксидантный компонент клеточной защиты.

### Выходы

В результате изучения антирадикальной и антиоксидантной активностей в условиях *in vitro* определено, что Рутан обладает высокой антирадикальной активностью по отношению к свободному радикалу DPPH, является истинным антиоксидантом, механизм действия которого заключается в отдаче подвижного водорода свободному радикалу, в результате чего происходит обрыв цепи реакции ПОЛ. Данный факт также подтверждается коэффициентом корреляции  $r=0.94$  между проявлением антиоксидантных и антирадикальных свойств. В экспериментах на способность ингибиования открытия mPTP показано, что Рутан оказывает протекторное действие на Mx в зависимости от концентрации, уменьшая повреждающее действие ионов  $Ca^{2+}$  на процесс открытия mPTP и является эффективным регулятором и модификатором ЦсА-чувствительной поры Mx. Дополнительно Рутан влияет на активность АТФ-зависимого канала и уровень фермента-кардиомаркера – креатинкиназы, тем самым обладая кардиопротекторным механизмом и сохраняя жизнедеятельность клеток миокарда.

### Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Института биоорганической химии имени академика А.С. Садыкова. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

### Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

**Список литературы**

1. Активация свободнорадикального окисления – эфферентное звено типовых патологических процессов / под ред. Н.П. Чесноковой, М.Ю. Ледванова. Саратов, 2006. 177 с.
2. Чеснокова Н.П., Моррисон В.В., Понукалина Е.Ф., Афанасьева Г.А., Бизенкова М.Н., Барсуков В.Ю., Морозова О.Л., Полутова Н.В., Жевак Т.И. О роли активации свободнорадикального окисления в структурной и функциональной дезорганизации биосистем в условиях патологии // Фундаментальные исследования. 2009. №5. С. 122–130.
3. García-Sánchez A., Miranda-Díaz A.G., Cardona-Muñoz E.G. The role of oxidative stress in physiopathology and pharmacological treatment with pro- and antioxidant properties in chronic diseases // Oxid. Med. Cell. Longev. 2020. Vol. 2020. 2082145. <https://doi.org/10.1155/2020/2082145>.
4. Delgado-Roche L., Mesta F. Oxidative stress as key player in severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection // Arch. Med. Res. 2020. Vol. 51. Pp. 384–387. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.04.019>.
5. Khomich O.A., Kochetkov S.N., Bartosch B., Ivanov A.V. Redox biology of respiratory viral infections // Viruses. 2018. Vol. 10. 392. <https://doi.org/10.3390/v10080392>.
6. Checconi P., De Angelis M., Marcocci M.E., Fraternale A., Magnani Palamara A.T., Nencioni L. Redox-modulating agents in the treatment of viral infections // Int. J. Mol. Sci. 2020. Vol. 21. 4084. <https://doi.org/10.3390/ijms21114084>.
7. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестник Российской академии медицинских наук. 1998. №7. С. 43–50.
8. Rice-Evans C., Miller N., Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds // Trends Plant Sci. 1997. Vol. 2(4). Pp. 152–159.
9. Pourcel L., Routaboul J.M., Cheynier V., Lepiniec L., Debeaujon I. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions // Trends Plant Sci. 2007. Vol. 12(1). Pp. 29–36.
10. Winkel-Shirley B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress // Curr. Opin. Plant Biol. 2002. Vol. 5(3). Pp. 218–223.
11. Suzuki N., Koussevitzky S., Mittler R.O.N., Miller G.A.D. ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress // Plant Cell & Environ. 2012. Vol. 35(2). Pp. 259–270.
12. Tang J., Diao P., Shu X., Li L., Xiong L. Quercetin and quercitrin attenuates the inflammatory response and oxidative stress in LPS induced RAW264.7 cells: in vitro assessment and a theoretical model // Biomed. Res. Int. 2019. Vol. 2019. Article 7039802. <https://doi.org/10.1155/2019/7039802>.
13. Basu P., Maier C. In vitro antioxidant activities and polyphenol contents of seven commercially available fruits // Pharmacognosy Res. 2016. Vol. 8(4). P. 258. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.188875>.
14. BourBour F., Mirzaei Dahka S., Gholamalizadeh M., Akbari M.E., Shadnoush M., Haghghi M., Taghvaye-Masoumi H., Ashoori N., Doaei S. Nutrients in prevention, treatment, and management of viral infections; special focus on Coronavirus // Arch Physiol. Biochem. 2020. Vol. 1. P. 10. <https://doi.org/10.1080/13813455.2020.1791188>.
15. Зияйтдинов Ж.Ф., Ошепкова Ю.И., Абдулладжанова Н.Г., Салихов Ш.И. Структура полифенолов листьев сумаха дубильного *Rhus coriaria* L. // Химия растительного сырья. 2020. №1. С. 133–140. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2020016316>.
16. Патент IAP 06574 (РУз). Средство, блокирующее протеазу 3CLpro и РНК-полимеразу RdRp РНК-вирусов / Ш.И. Салихов и др. – 21.09.2021.
17. Salikhov S.I., Abdurakhmonov I.Y., Oshchepkova Y.I. et al. Repurposing of Rutan showed effective treatment for COVID-19 disease // Front. Med. 2023. Vol. 10. 1310129. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1310129>.
18. Ибадова Г.А., Мусабаев Э.И., Ражабов И.Б., Байназаров М.М. Оценка эффективности препарата Рутан в комплексной терапии COVID-19 и постковидных состояний у детей // Биология в тиббиёт муаммолари. 2022. №4.1 (138). С. 39–45.
19. Ибадова Г.А., Мусабаев Э.И., Ражабов И.Б., Кадырова Н.Э., Каримов Д.А., Байназаров М.М., Мардонова Х.А. Отечественный препарат Рутан и его возможности при лечении COVID-19 у детей // Журнал теоретической и клинической медицины. 2022. №4. С. 102–104.
20. Саматова И.Р., Байжанов А.К., Хикматуллаева А.С. Эффективность комплексной терапии больных с легким и среднетяжелым течением COVID-19 // Инфекция. Иммунитет и фармакология. 2021. №4. С. 90–94.
21. Schneider W.C., Hageboom G.H., Pallade G.E. Cytochemical studies of mammalian tissues; isolation of intact mitochondria from rat liver; some biochemical properties of mitochondria and submicroscopic particulate material // J. Biol. Chem. 1948. Vol. 172 (2). Pp. 619–635.
22. Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes. September 22, 2010. Official Journal of the European Union, L 276/33- L276/79.
23. Скулачев В.П. Снижение внутриклеточной концентрации кислорода как особая функция дыхательной системы клетки // Биохимия. 1994. Т. 59. С. 1910–1912.
24. Mathieu M. et. al. Recommandation pour la mesure de la concentration catalytique de la créatininekinase dans la sérum humain // Ann. Biol. Clin. 1982. Vol. 40. P. 87.
25. Tirzitidis G., Bartosz G. Determination of antiradical and antioxidant activity: Basic principles and new insights // Acta Biochim. Pol. 2010. Vol. 57(2). Pp. 139–142. [https://doi.org/10.18388/abp.2010\\_2386](https://doi.org/10.18388/abp.2010_2386).
26. Bartosz G. Total antioxidant capacity // Adv. Clin. Chem. 2003. Vol. 37. Pp. 219–292. [https://doi.org/10.1016/s0065-2423\(03\)37010-6](https://doi.org/10.1016/s0065-2423(03)37010-6).

27. Lemasters J.J., Nieminen A.L., Qian T., Trost L.C., Herman B. The mitochondrial permeability transition in toxic, hypoxic and reperfusion injury // Mol. Cell. Biochem. 1997. Vol. 174(1-2). Pp. 159–165.
28. Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death // Biochem. J. 1999. Vol. 341. Pp. 233–249.
29. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И., Козлов А.В. и др. Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники. Серия Биофизика. М., 1991. Т. 29.
30. Акопова О.И., Носарь В.И., Маньковская И.Н., Сагач В.Ф. Влияние  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированного открывания циклоспорин чувствительной поры на потребление кислорода и функциональное состояние митохондрий печени крыс // Украинский биохимический журнал. 2013. Т. 85(5). С. 37–49.
31. Rohilla A., Manav A., Rohilla S., Kushnoor A. Mitochondrial ATP-sensitive potassium channels and cardioprotection // International Journal of Drug Development & Research. 2012. Vol. 4(2). Pp. 92–98.
32. Белова Е.А., Кавушевская Н.С., Кривых Е.А., Коваленко Л.В. Антирадикальная активность полифенольных экстрактов плодов рода *Vaccinium* и влияние их на оксидативный статус // Вестник НовГУ. Сер.: Медицинские науки. 2022. №1(126). С. 47–51.

*Поступила в редакцию 16 августа 2023 г.*

*После переработки 29 марта 2024 г.*

*Принята к публикации 18 сентября 2024 г.*

Aripov T.F., Gayibov U.G., Gaibova S.N., Abdullaev A.A., Abduazimov D.Sh., Oshchepkova Yu.I.\*<sup>†</sup>, Salikhov Sh.I. IN VITRO ANTIOXIDANT AND ANTIRADICAL ACTIVITY OF THE TOTAL POLYPHENOLS (SUBSTANCES OF THE ANTIVIRAL DRUG RUTAN) OF THE LEAVES OF TANNIC SUMACH RHUS CORIARIA L.

Institute of Bioorganic Chemistry. acad. A.S. Sadykov Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Mirzo Ulugbek st., 83, Tashkent, 100125, Republic of Uzbekistan, joshepkova05@rambler.ru

As a result of the study of antiradical and antioxidant activities under in vitro conditions, it was determined that Rutan has a high antiradical activity to the free radical DPPH, it is a verified antioxidant, the mechanism of action of which is the release of transportable hydrogen to the free radical, resulting in the chain termination of the peroxidation reaction lipids (LPO). This fact is also confirmed by the correlation coefficient  $r=0.94$  between the manifestation of antioxidant and antiradical properties. In experiments on the ability to inhibit the opening of mPTP, it was shown that Rutan has a protective effect on mitochondrion, depending on the concentration, reducing the damaging effect of  $\text{Ca}^{2+}$  ions on the process of mPTP opening and is an effective regulator and modifier of the CsA-sensitive mitochondrion pore. Additionally, Rutan affects the activity of the ATP-dependent potassium channel and the enzyme-cardiomarker – creatine kinase, thereby possessing a cardioprotective mechanism and preserving the vital activity of myocardial cells.

**Keywords:** *Rhus coriaria L.*, polyphenols, antioxidant activity, antiradical activity, diphenylpicrylhydrazyl, DPPH.

**For citing:** Aripov T.F., Gayibov U.G., Gaibova S.N., Abdullaev A.A., Abduazimov D.Sh., Oshchepkova Yu.I., Salikhov Sh.I. Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya, 2024, no. 4, pp. 138–147. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20240413433.

## References

1. Aktivatsiya svobodnoradikal'nogo okisleniya – effertennoye zveno tipovykh patologicheskikh protsessov [Activation of free radical oxidation – an effenter link of typical pathological processes], ed. N.P. Chesnokova, M.Yu. Ledvanov. Saratov, 2006, 177 p. (in Russ.).
2. Chesnokova N.P., Morrison V.V., Ponukalina Ye.F., Afanas'yeva G.A., Bizenkova M.N., Barsukov V.Yu., Morozova O.L., Polutova N.V., Zhevak T.I. Fundamental'nyye issledovaniya, 2009, no. 5, pp. 122–130. (in Russ.).
3. García-Sánchez A., Miranda-Díaz A.G., Cardona-Muñoz E.G. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2020, vol. 2020, 2082145. <https://doi.org/10.1155/2020/2082145>.
4. Delgado-Roche L., Mesta F. *Arch. Med. Res.*, 2020, vol. 51, pp. 384–387. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.04.019>.
5. Khomich O.A., Kochetkov S.N., Bartosch B., Ivanov A.V. *Viruses*, 2018, vol. 10, 392. <https://doi.org/10.3390/v10080392>.
6. Checconi P., De Angelis M., Marcocci M.E., Fraternale A., Magnani Palamara A.T., Nencioni L. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, vol. 21, 4084. <https://doi.org/10.3390/ijms21114084>.
7. Vladimirov Yu.A. *Vestnik Rossiyskoy Akademii meditsinskikh nauk*, 1998, no. 7, pp. 43–50. (in Russ.).
8. Rice-Evans C., Miller N., Paganga G. *Trends Plant Sci.*, 1997, vol. 2(4), pp. 152–159.

\* Corresponding author.

9. Pourcel L., Routaboul J.M., Cheynier V., Lepiniec L., Debeaujon I. *Trends Plant Sci.*, 2007, vol. 12(1), pp. 29–36.
10. Winkel-Shirley B. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2002, vol. 5(3), pp. 218–223.
11. Suzuki N., Koussevitzky S., Mittler R.O.N., Miller G.A.D. *Plant Cell & Environ.*, 2012, vol. 35(2), pp. 259–270.
12. Tang J., Diao P., Shu X., Li L., Xiong L. *Biomed. Res. Int.*, 2019, vol. 2019, article 7039802. <https://doi.org/10.1155/2019/7039802>.
13. Basu P., Maier C. *Pharmacognosy Res.*, 2016, vol. 8(4), p. 258. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.188875>.
14. BourBour F., Mirzaei Dahka S., Gholamalizadeh M., Akbari M.E., Shadnoush M., Haghghi M., Taghvaye-Masoumi H., Ashoori N., Doaei S. Nutrients in prevention, treatment, and management of viral infections; special focus on Coronavirus // *Arch Physiol. Biochem.*, 2020, vol. 1, p. 10. <https://doi.org/10.1080/13813455.2020.1791188>.
15. Ziyaviddinov Zh.F., Oshchepkova Yu.I., Abdulladzhanova N.G., Salikhov Sh.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2020, no. 1, pp. 133–140. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2020016316>. (in Russ.).
16. Patent IAP 06574 (UZ). 21.09.2021. (in Russ.).
17. Salikhov S.I., Abdurakhmonov I.Y., Oshchepkova Y.I. et al. *Front. Med.*, 2023, vol. 10, 1310129. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1310129>.
18. Ibadova G.A., Musabayev E.I., Razhabov I.B., Baynazarov M.M. *Biologija va tibbijot muammolari*, 2022, no. 4.1 (138), pp. 39–45. (in Russ.).
19. Ibadova G.A., Musabayev E.I., Razhabov I.B., Kadyrova N.E., Karimov D.A., Baynazarov M.M., Mardonova Kh.A. *Zhurnal teoreticheskoy i klinicheskoy meditsiny*, 2022, no. 4, pp. 102–104. (in Russ.).
20. Samatova I.R., Bayzhanov A.K., Khikmatullayeva A.S. *Infektsiya. Immunitet i farmakologiya*, 2021, no. 4, pp. 90–94. (in Russ.).
21. Schneider W.C., Hageboom G.H., Pallade G.E. *J. Biol. Chem.*, 1948, vol. 172 (2), pp. 619–635.
22. Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes. September 22, 2010. Official Journal of the European Union, L 276/33- L276/79.
23. Skulachev V.P. *Biokhimiya*, 1994, vol. 59, pp. 1910–1912. (in Russ.).
24. Mathieu M. et. al. *Ann. Biol. Clin.*, 1982, vol. 40, p. 87.
25. Tirzitis G., Bartosz G. *Acta Biochim. Pol.*, 2010, vol. 57(2), pp. 139–142. [https://doi.org/10.18388/abp.2010\\_2386](https://doi.org/10.18388/abp.2010_2386).
26. Bartosz G. *Adv. Clin. Chem.*, 2003, vol. 37, pp. 219–292. [https://doi.org/10.1016/s0065-2423\(03\)37010-6](https://doi.org/10.1016/s0065-2423(03)37010-6).
27. Lemasters J.J., Nieminen A.L., Qian T., Trost L.C., Herman B. *Mol. Cell. Biochem.*, 1997, vol. 174(1-2), pp. 159–165.
28. Crompton M. *Biochem. J.*, 1999, vol. 341, pp. 233–249.
29. Vladimirov Yu.A., Azizova O.A., Deyev A.I., Kozlov A.V. i dr. *Itogi nauki i tekhniki. Seriya Biofizika*. [Results of science and technology. Series Biophysics]. Moscow, 1991, vol. 29. (in Russ.).
30. Akopova O.I., Nosar' V.I., Man'kovskaya I.N., Sagach V.F. *Ukrainskiy biokhimicheskiy zhurnal*, 2013, vol. 85(5), pp. 37–49. (in Russ.).
31. Rohilla A., Manav A., Rohilla S., Kushnoor A. *International Journal of Drug Development & Research*, 2012, vol. 4(2), pp. 92–98.
32. Belova Ye.A., Kavushevskaya N.S., Krivykh Ye.A., Kovalenko L.V. *Vestnik NovGU. Ser.: Meditsinskiye nauki*, 2022, no. 1(126), pp. 47–51. (in Russ.).

Received August 16, 2023

Revised March 29, 2024

Accepted September 18, 2024

**Сведения об авторах**

*Арипов Тахир Фатихович* – доктор биологических наук, профессор, академик, заведующий лабораторией растительных цитопротекторов, aripov\_takhir@mail.ru  
*Гайибов Улугбек Гаппаржанович* – PhD, старший научный сотрудник, gayibov.ulugbek@gmail.com  
*Гайибова Сабина Наримоновна* – PhD, старший научный сотрудник, gayibova.sabina@gmail.com  
*Абдуллаев Азизбек Акбар угли* – младший научный сотрудник, dr.abdullaev.scientist@gmail.com  
*Абдуазимова Дилдора Шарифжон кизи* – младший научный сотрудник, abduazimovadildora12@gmail.com  
*Ошчепкова Юлия Игоревна* – доктор химических наук, профессор, заместитель директора по науке, joshepkova05@rambler.ru  
*Салихов Шавкат Исмаилович* – доктор биологических наук, академик, заведующий лаборатории химии белков и пептидов, joshepkova05@rambler.ru

**Information about authors**

*Aripov Tahir Fatikhovich* – Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician, Head of the Laboratory of Plant Cytoprotectors, aripov\_takhir@mail.ru  
*Gayibov Ulugbek Gapparzhanovich* – PhD, Senior Researcher, gayibov.ulugbek@gmail.com  
*Gayibova Sabina Narimonovna* – PhD, Senior Researcher, gayibova.sabina@gmail.com  
*Abdullaev Azizbek Akbar ugli* – Junior Researcher, dr.abdullaev.scientist@gmail.com  
*Abduazimova Dildora Sharifzhon kizi* – Junior Researcher, abduazimovadildora12@gmail.com  
*Oshchepkova Yulia Igorevna* – Doctor of Chemical Sciences, Professor, Deputy Director for Science, joshepkova05@rambler.ru  
*Salikhov Shavkat Ismailovich* – Doctor of Biological Sciences, Academician, Head of the Laboratory of Chemistry of Proteins and Peptides, joshepkova05@rambler.ru