

Copyright © 2018 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
European Journal of Medicine. Series B
Has been issued since 2014.
E-ISSN: 2413-7464
2018, 5(1): 3-15

DOI: 10.13187/ejm.s.b.2018.1.3
www.ejournal27.com



Articles and Statements

Antioxidant and Membrane-Active Properties of 1,4,6 tri-o-galloyl-2,3-valoneyl-β-d-glucose

Ulugbek G. Gaiibov ^{a,*}, Esokhon Dzh. Komilov ^a, Nurali A. Ergashev ^a, Rakhmatilla N. Rakhimov ^a, Nodira G. Abdullazhanova ^a, Muzaffar I. Asrarov ^a, Takhir F. Aripov ^a

^a Institute of Bioorganic Chemistry named after acad. A.S. Sadykov, Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

Abstract

Functional parameters of mitochondria, such as cyclosporine sensitive megapore (mPTP), ATP-dependent K⁺ channel (mitoKATP), as well as inhibition of free-radical membrane oxidation under the conditions of normoxia play an important role in the functioning of mitochondria, and the cell as a whole. Disruption of the normal functioning of these parameters occurs in various pathological conditions. Thus, to study the effect of a new polyphenol compound 1,4,6 tri-O-galloyl-2,3-valoneyl-β-D-glucose, as an object of adjusting the functions of mitochondria in pathological conditions, in this paper we investigated the effect of this compound on ATP - dependent K⁺ channel and on cyclosporin sensitive time (mitochondrial permeability transition pore) in mitochondria from rat liver. Also, the study of the antioxidant activity of 1,4,6 tri-O-galloyl-2,3-valoneyl-β-D-glucose showed that this compound has a high antioxidant activity in Fe²⁺ ascorbate-induced mitochondrial swelling.

Keywords: mPTP, mitoATP, antioxidant activity, anti-radical activity, polyphenolic compounds, hypoxia.

1. Введение

В исследованиях последних лет установлено, что митохондрии играют огромную роль в регуляции процессов апоптоза и некроза клетки (Владимиров, 2002; Dave et al., 2008; Tsujimoto, Shimizu, 2007). Основным функциональным параметром митохондрий в участии данных процессов является циклоспорин А-чувствительная митохондриальная пора (mitochondrial permeability transition pore, mPTP), через которую могут проникать молекулы размером до 1,5 kDa при ее открытом состоянии (Vianello et al., 2012). mPTP, также называемая митохондриальная Ca²⁺-зависимая мегапора, образована комплексом белков и представляет собой канал, проходящий через наружную и внутреннюю мембраны митохондрий (Пожилова, Левченкова и др., 2014). Открытое состояние mPTP приводит к массивному набуханию митохондрий, разрыву наружной мембраны и выпуску межмембранных компонентов в цитозоль, которые приводят к процессу апоптоза клеток. Накопление ионов Ca²⁺ в митохондриальном матриксе также является непосредственным

* Corresponding author

E-mail addresses: gayibov.ulugbek@gmail.com (U.G. Gayibov)

регуляторным механизмом открывания митохондриальной поры – ключевого звена в запуске программы клеточного апоптоза (Dave et al., 2008; Tsujimoto, Shimizu, 2007). Образование и открытие mPTP не является единственным механизмом выхода межмембранных компонентов митохондрий в цитоплазму. Однако перспективным направлением в коррекции гипоксии может стать изыскание лекарственных веществ, мишенью которых станет митохондриальная мегапора (Новиков, Левченкова, 2013).

Кроме того, в последнее время интерес к исследованию митохондриального АТФ-чувствительного калиевого канала (митоK_{АТФ}-канал) также возрос, поскольку была установлена, что именно его активация, играет ключевую роль в защите органов и тканей от последствий ишемии/реперфузии (Akao et al., 2001) и помимо его важной роли, митоK_{АТФ}-канал играет огромную роль в адаптации организма к различным стресс фактором (Даниленко и др., 2010; Hund, Mohler, 2011). Известно, что открытие митоK_{АТФ}-канала приводит к деполяризации мембранного потенциала митохондрий и вызывает обратимое окисление флавопротеинов дыхательной цепи, тем самым увеличивая производство активных форм кислорода (АФК) в митохондриях (Samavati et al., 2002). Но в обзоре Пожилова и соавторы показывают, что природные метаболические активаторы митоKATФ-канала – уридин и его нуклеотиды в микромолярных концентрациях значительно снижают зону инфаркта миокарда, нормализуют уровень АТФ, креатинфосфата и систем антиокислительной защиты, уменьшая образование АФК, а также нормализуют ритм сердечных сокращений на модели инфаркта миокарда крыс (Пожилова и др., 2014). Также упоминается, что открытие митоKATФ-канала приводит к уменьшению АФК в клетках тканей, тем самым регулирует ее (Facundo et al., 2007; Ferranti et al., 2003; Fornazari et al., 2008). Таким образом, активация калиевого цикла при адаптации к стресс фактором и, следующее за этим снижение образования АФК, может объяснить известную защитную роль митоKATP-канала при ишемии/реперфузии (Garlid, Halestrap, 2012; Meng et al., 2016).

Активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) зачастую является одним из пусковых механизмов ряда заболеваний, а также является усугубляющим фактором многих патологических состояний (Чеснокова и др., 2009; Lobo et al., 2010; Mylonas, Kouretas, 1999). При этом применение антиоксидантов в терапии различных патологических состояний организма замедляют протекание патологических состояний, обусловленные избытком свободных радикалов, поскольку антиоксиданты могут предупреждать активацию индуцированных свободнорадикальных реакций (Brewer, 2011). Таким образом, из приведенного выше материала можно заключить, что соединения, обладающие антиоксидантной активностью могут рассматриваться как перспективные универсальные средства в лечении и профилактике большого числа заболеваний.

Учитывая вышесказанное, в настоящее время актуальным считают исследования, посвященные механизмам действия растительных соединений на организм на молекулярном, мембранном и клеточном уровнях с целью обнаружения потенциальных фармакологических средств. Полифенольные соединения обладают очень широким спектром действия на биологические объекты, проявляя антиоксидантные, гепатозащитные, антигипоксические, мембранотропные и многие другие эффекты (Асраров и др., 2015; Рустамова и др., 2005; Цыбульский и др., 2011). В проявлении физиологических эффектов полифенолов на клетку могут сыграть их способность изменения проницаемости мембран митохондрий для различных ионов.

Таким образом, в настоящей работе изучено действие нового полифенольного соединения *1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкоза*, выделенного из растения *E.Canescens L.* (Рисунок 1), на некоторые функциональные параметры митохондрий, таких как mPTP, митоKATP-канал и ПОЛ митохондрий печени крыс.

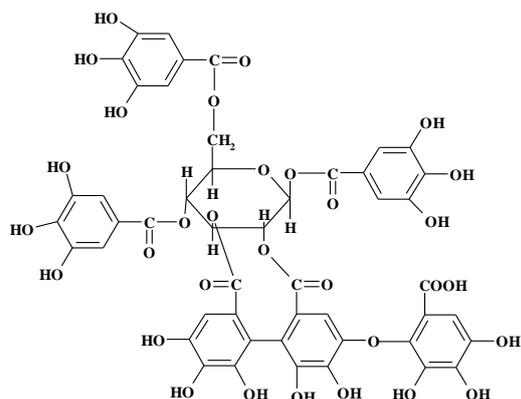


Рис. 1. Структурная формула 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкозы

2. Материалы и методы

Эксперименты проводились в лаборатории молекулярной биофизики при Институте биоорганической химии им. акад. А.С.Садыкова АН РУз. Эксперименты выполнялись в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с использованием животных», принятыми Международным советом медицинских научных обществ в 2012 г. ([Council for International Organizations...](#)).

В опытах использовали белых беспородных крыс с массой тела 200-220 г. Митохондрии выделяли из печени крыс методом дифференциального центрифугирования ([Schneider et al., 1948](#)). Печень промывали охлажденным раствором, после чего измельчали и гомогенизировали в 6-кратном объеме среды выделение в составе (в мМ): 250 сахарозы, 20 трис-НСl-буфера и 1 ЭДТА (рН 7,4). Для выделения митохондрий гомогенат центрифугировали 7 мин при 1500 об/мин ($\pm 2^\circ\text{C}$), затем супернатант центрифугировали 15 мин при 6 000 об/мин ($\pm 2^\circ\text{C}$). Осадок суспендировали в небольшом объеме среды, не содержащей ЭДТА, и хранили на льду при 4°C .

Состояние митохондриальной мегапоры, т.е. Ca^{2+} -зависимое набухание митохондрий регистрировали по изменению оптической плотности суспензии митохондрий (0,3-0,4 мг белка/мл) при 540 нм ([He, Lemasters, 2003](#)). Среда инкубации (СИ): сахароза – 200 мМ, KH_2PO_4 – 1 мМ, сукцинат – 5 мМ, Ca^{2+} -ЭГТА-буфер 20 – мкМ, Нерес – 20 мМ, трис-НСl – 20 мМ, ротенон – 2 мкМ, олигомицин – 1 мкг/мл, рН 7,2.

АТФ зависимого калиевого канала митохондрий (митокАТР-канала) регистрировали по падению оптической плотности при длине волны 540 нм и митохондрии вносили в среду инкубации следующего состава (в мМ): KCl-125, Нерес-10, сукцинат-5, MgCl_2 -1, K_2HPO_4 -2,5, KH_2PO_4 -2,5, ротенон-0,005 и олигомицин-0,001 ([Вадзюк, Костерин, 2008](#)).

Переокисление липидов (ПОЛ) регистрировали по ингибированию Fe^{2+} /аскорбат-зависимого набухания митохондрий печени крыс фотометрическим методом в среде инкубации KCl - 125 мМ, трис-НСl – 10 мМ, рН 7,4, концентрации: FeSO_4 – 10 мкМ, аскорбат – 600 мкМ, при этом количестве белка в среде инкубации составляла 0,5 мг/мл ([Schneider et al., 1948](#)). Все эксперименты проводились при $24\text{-}26^\circ\text{C}$, чтобы целостность митохондрий сохранялась в течение инкубации. Содержание белка митохондрий определяли по методу Лоури в модификации Петерсона ([Peterson, 1977](#)).

Для оценки АРА была использована методика, основанная на способности антиоксидантов восстанавливать молекулы стабильного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ) в ходе измерения кинетики рекомбинации препаратов с ним ([Мельничук, 1985](#)). При добавлении исследуемых полифенолов в спиртовой раствор ДФПГ происходит изменение его окраски, что соответствует переходу ДФПГ в нерадикальную форму ([Гайибов и др., 2012](#)).

При обработке полученных данных использованы компьютерные программы Origin 6.1 (OriginLab Corporation, США). Величину $P < 0,05$ рассматривали как показатель достоверных различий.

3. Результаты и их обсуждение

Так как в обеспечении проницаемости мембран митохондрий ключевую роль играет Ca^{2+} -зависимая мРТР (Акопова и др., 2013), в следующих экспериментах изучали влияние 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы на активность мРТР (Рисунок 2). Внесение в инкубационную среду индуктора мРТР - ионов Ca^{2+} в концентрации 10 мкМ вызывает набухание митохондрий (Рисунок 2, конт.), что указывает на то, что мРТР находится в открытом состоянии. Циклоспорин А (ЦсА), специфический ингибитор мРТР, препятствует набуханию митохондрий в вышеуказанных условиях (Рисунок 2, ЦсА), т.е. мРТР остается в закрытом состоянии даже в присутствии ионов Ca^{2+} . По экспериментальным данным видно, что 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза в концентрации 50 мкМ, в присутствии ионов Ca^{2+} , ингибирует открытие мРТР на 18,6%, а в концентрациях 200 мкМ подавляет ее открывание на 89,7% по сравнению с контролем. Полученные результаты показывают, что 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза в зависимости от концентрации ингибирует открывание мРТР печени крыс. Ранее (Гайбов и др., 2017) было изучено влияние данного соединения на пассивную проницаемость различных одно- и двухвалентных катионов. Было показано, что 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза увеличивает пассивную проницаемость для одновалентных катионов. Можно было бы предположить, что индукция пассивной проницаемости мембран под действием 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы, вызывает набухание органелл, падение мембранного потенциала ψ и открытие мРТР. Однако полученные нами результаты не соответствуют этому предположению. По нашим результатам, 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза одновременно увеличивая пассивную проницаемость (Гайбов и др. 2017), оказывает ингибирующее влияние на мРТР. Это, возможно, связано с антиоксидантными свойствами 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы (Гайбов и др., 2017), оказывающий стабилизирующий эффект на мембраны.

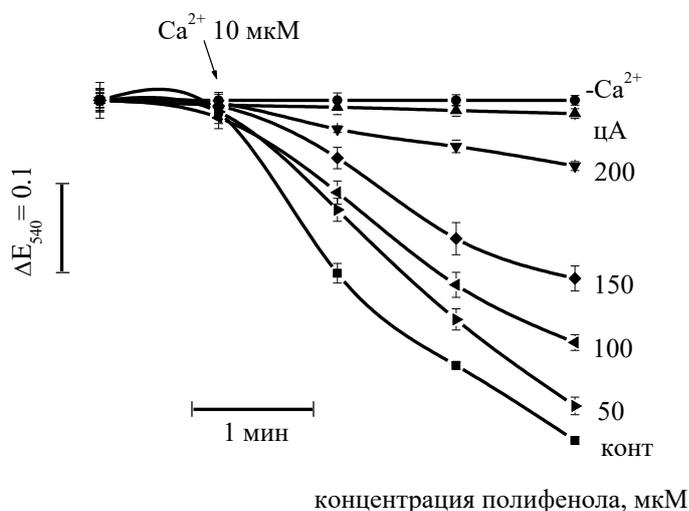


Рис. 2. Действие различных концентраций 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза на набухание митохондрий печени

СИ (мМ): сахараза - 200, KH_2PO_4 - 1, сукцинат - 5, Ca^{2+} -ЭГТА-буфер 0,02, Hepes - 20, трис- HCl - 20, ротенон - 0,002, pH 7,2; белок митохондрий 0,3- 0,4 мг/мл; (**- $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$; n=3-5).

Ионы калия являются главным ионным компонентом не только цитоплазмы, но и митохондриального матрикса. Направление электрического поля на внутренней мембране митохондрий, благоприятствует транспорту ионов калия из цитоплазмы в матрикс. Таким образом, наличие любых K^+ -селективных каналов, включая митоКАТР-канала, во внутренней мембране митохондрий, будет сопровождаться изменениями

митохондриального объема и регуляцией состояния Ca^{2+} -зависимой mPTP. Модуляция проводимости митоКАТР-канала лежит в основе изменения митохондриальных функций при разных гипоксических состояниях, однако физиологическая роль этого феномена не вполне ясна (Акопова et al., 2011). На Рисунке 3 приведены данные экспериментов с использованием 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы как активатора митоКАТР-канала.

Полученные результаты показывают, что 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза начиная с концентрации 10 и 20 мкМ активирует митоКАТР-канал (Рисунок 3). А при концентрациях 80 мкМ и выше наблюдается выход на плато. Учитывая, что действие 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза на активность митоКАТР-канала происходит дозозависимо, следует особо отметить, что данное действие 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза на митоКАТР-канал имеет вид графика насыщения.

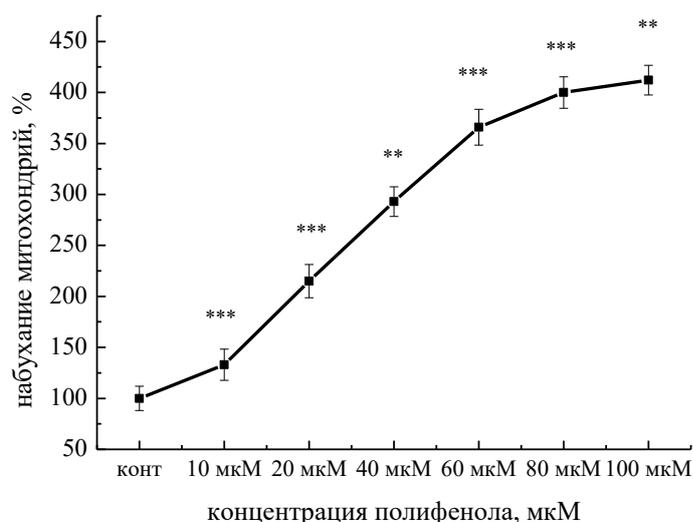


Рис. 3. Влияние 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы на активность АТФ-зависимого K^+ -канала митохондрий

СИ при содержании АТФ: 125 мМ КСl, 1 мМ MgSO_4 , 2,5 мМ K_2HPO_4 , 2,5 мМ KH_2PO_4 , 10 мМ Nepes , 5 мМ сукцинат, ротенон 5 мкг/мл, 1 мкг/мл олигомицин, pH 7,4. (** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$; $n=4$)

Согласно работе (Акопова и др., 2011) mPTP переходит в открытое состояние в результате индукции ПОЛ и образования АФК, и закрывается в присутствии антиоксидантов (Асраров и др., 2015). В связи с этим изучено действие различных концентраций 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы на процесс ПОЛ митохондриальных мембран, индуцированный системой Fe^{2+} /аскорбат в опытах *in vitro*. Внесение в инкубационную среду систему Fe^{2+} /аскорбат индуцирует ПОЛ, в результате чего нарушается барьерная функция митохондриальных мембран, и органеллы резко набухают по сравнению с контролем (Рисунок 4). В условиях индукции ПОЛ, внесение в инкубационную среду 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы, начиная с концентрации 2 мкМ, наблюдается ингибирование набухания митохондрий, что свидетельствует об его антиоксидантных свойствах. Эффект 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы на ПОЛ в мембранах митохондрий зависел от его концентрации, т.е. с её увеличением в инкубационной среде процент ингибирования становился более выраженным. Полное ингибирование набухания митохондрий печени, т.е. процесса ПОЛ, отмечалось при концентрации равной 10 мкМ изучаемого соединения. При этом значение концентрации, вызывающей полумаксимальное ингибирование процесса ПОЛ (IC_{50}), для данного полифенольного соединения составило $6,08 \pm 0,06$ мкМ. Таким образом, в опытах показано, что 1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза обладает высокой АОА.

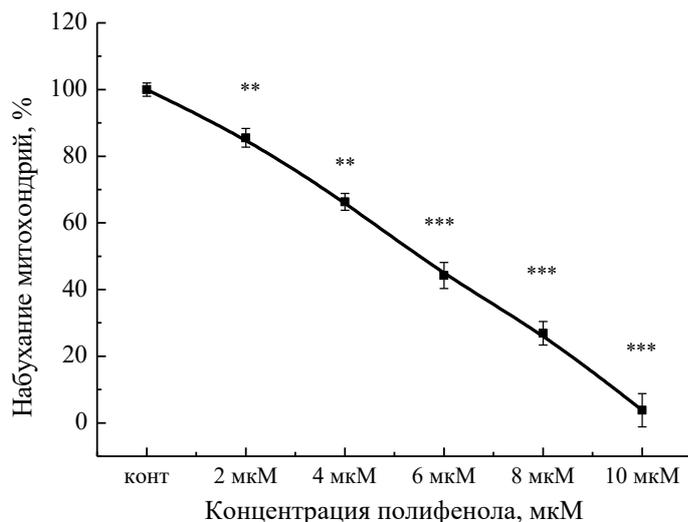


Рис. 4. Действие 1,4,6 три-*O*-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкоза на Fe^{2+} +аскорбат-индуцированное набухание митохондрий печени крыс KCl – 125, трис-HCl – 10, pH 7,4; FeSO_4 – 0,01, аскорбата – 0,6; белок митохондрий 0,3-0,4 мг/мл; (** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$; $n=4$).

Определение конечных продуктов перекисного окисления липидов является классическим методом изучения антиоксидантных свойств биологически активных соединений.

В литературе АОА полифенолов связывают как с их способностью хелатировать различные ионы металлов (Tripathi, Rastogi, 1981), так и непосредственно взаимодействовать с активными формами кислорода: O_2^\bullet (Takahama, 1985), OH-радикалами (Takahama, 1984) и синглетным кислородом (Takahama et al., 1984). Кроме того, полифенолы могут взаимодействовать и/или связывать компоненты реакционной среды (Riedl et al., 2002), что может приводить к искажению результатов. Применение Fe^{2+} +аскорбат-индуцированного метода не позволяет непосредственно оценить вклад каждого из этих эффектов в общую антиоксидантную активность препаратов.

Кроме этого, в обзоре Надеевой и Гончаровой представлены данные о токсических свойствах АФК в клетках. В норме высокие концентрации АФК характерны только для фагоцитов, а других клетках является признаком оксидативного стресса. Оксидативный стресс повышает проницаемость гематотканевых барьеров; так как, АФК вносят решающий вклад в развитие патологии (Надеев, Гончаров, 2014). По результатам квантовохимического моделирования определена, что взаимодействия сульфгидрильных групп с радикалами АФК происходит по кислотно-основному механизму, причем гидроокси-радикалы ($\bullet\text{OH}$) выступает как основание, а супероксид-анион-радикалы ($\bullet\text{OO}^-$) как кислота (Solovyova, Kuznetsova, 2015). В этом отношении полезно использовать соединения, несущие свободную валентность, каковым является стабильные органические радикалы (Гайилов и др., 2017), которые взаимодействует с радикалами АФК (Jiménez et al., 2004). К примеру, орто-замещенные дифенолы имеют четыре электрона, которые могут восстанавливать различные радикалы (Починок и др., 1985). В связи с этим антирадикальная активность полифенолов может быть связана непосредственно с их АОА.

В связи с этим исследовали антирадикальную активность полифенола 1,4,6 три-*O*-галлоил-2,3-валонеил- β -D-глюкозы. Для этого нами была использована методика, основанная на способности антиоксидантов восстанавливать молекулы 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида (ДФПГ) (Гайилов и др., 2012). Мы изучали кинетику рекомбинации препарата со стабильным радикалом ДФПГ. При добавлении исследуемого вещества в спиртовой раствор ДФПГ происходит изменение окраски раствора, что соответствует переходу ДФПГ в нерадикальную форму. На Рисунке 5 (экспериментальными точками)

представлена кинетика изменения оптической плотности раствора ДФПГ при добавлении исследуемого препарата.

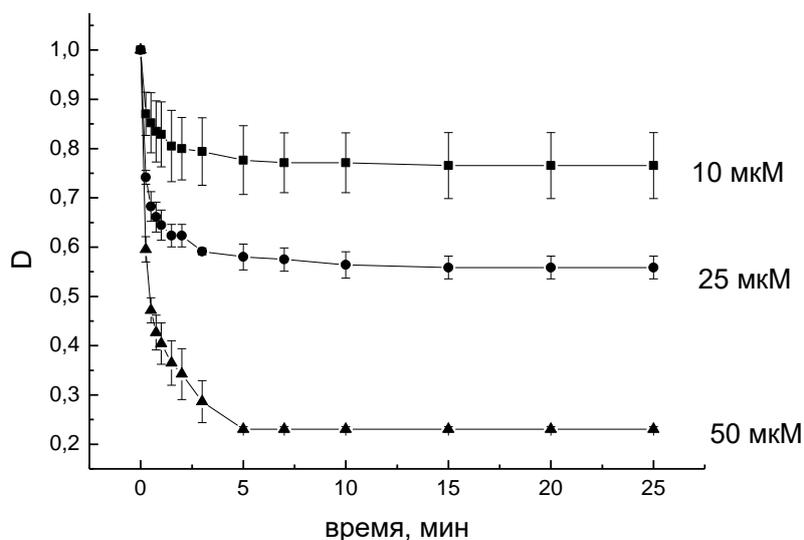


Рис. 5. Кинетические изменения относительной оптической плотности спиртового раствора ДФПГ при изучении антирадикальной активности 1,4,6 три-O-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкозы. Концентрация ДФПГ 0,1 мМ

По полученным результатам видно, что исследуемое соединение обладает высокой антирадикальной активностью, восстанавливая свободный радикал ДФПГ в течении первых 1,5-2 мин, и имеет высокий коэффициент корреляции с его АОА ($r = 0.94$).

4. Заключение

Известно, что полифенольные соединения проявляют антиоксидантное, противовоспалительное, иммуномодулирующее и многие другие действия, что создает предпосылки для создания на их основе лекарственных препаратов. При этом предпочтение отдается выше изученному полифенольному соединению, в связи с его меньшей токсичностью и способностью хорошо растворяться в воде.

Антигипоксанта́ная активность соединений в определенной степени определяется их влиянием на структуру мембран митохондрий, процессы свободнорадикального окисления и на процесс окислительного фосфорилирования.

Обнаруженная ранее М.И. Асраровым и др. (Асраров и др., 2015) тенденция к улучшению влияния полифенольных соединений на некоторые функциональные характеристики митохондрий, послужила основанием для предположения о возможном антигипоксанта́ном действии 1,4,6 три-O-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкозы.

5. Благодарности

Авторы выражают искреннюю благодарность руководителю экспериментально-технологической лаборатории Института биоорганической химии им. акад. А.С.Садыкова АН РУз – д.х.н., проф. С.М. Мавлянову за любезное предоставление 1,4,6 три-O-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкозы.

Литературы

Акопова и др., 2011 – Акопова О.В., Колчинская Л.И., Носарь В.И., Смирнов А.Н., Мальшева М.К., Маньковская И.Н., Сагач В.Ф. (2011). Влияние открытия митохондриальной поры на продукцию активных форм кислорода в митохондриях мозга крыс. Укр. биохим. журнал, 83(6): 46-55.

Акопова и др., 2013 – Акопова О.И., Носарь В.И., Маньковская И.Н., Сагач В.Ф. (2013). Влияние Ca²⁺-индуцированного открывания циклоспорин чувствительной поры на

потребление кислорода и функциональное состояние митохондрий печени крыс. *Укр. биохим. журнал*, 85(5): 37-49.

[Асраров и др., 2015](#) – Асраров М.И., Комилов Э.Дж., Эргашев Н.А., Позилов М.К., Эшбакова К.А., Тошматов З.А., Ташбекова М.Х. (2015). К механизму действия флавонола лютеолина на функции митохондрий печени крыс. *Вопр. биол. мед. и фарм. химии*, 12: 38-43.

[Вадзюк, Костерин, 2008](#) – Вадзюк О.Б., Костерин С.А. (2008). Индуцированное диазоксидом набухание митохондрий миокарда крыс как свидетельство активации АТФ-чувствительного K⁺-канала. *Укр. биохим. журнал*, 80(5): 45-51.

[Владимиров, 2002](#) – Владимиров Ю.А. (2002). Нарушение барьерных свойств внутренней и наружной мембран митохондрий, некроз и апоптоз. *Биологические мембраны*, 19(5): 356-377.

[Гайибов и др., 2012](#) – Гайибов У.Г., Камаев Ф.Г., Арипов Т.Ф. (2012). Исследование взаимодействия госсипола с ДФПГ в различных растворителях методом ЯМР. *Доклады Академии Наук РУз*, 3: 49-53.

[Гайибов и др., 2017](#) – Гайибов У.Г., Комилов Э.Дж., Эргашев Н.А., Рахимов Р.Н., Абдуллажанова Н.Г., Асраров М.И., Арипов Т.Ф. (2017). Влияние полифенольного соединения ПС-1 на проницаемость мембран митохондрий печени крыс. *Доклады Академии Наук РУз*, №2.

[Гайибов и др., 2017](#) – Гайибов У.Г., Комилов Э.Дж., Эргашев Н.А., Рахимов Р.Н., Абдуллажанова Н.Г., Асраров М.И., Арипов Т.Ф. (2017). Антиоксидантные и мембраноактивные свойства ПС-1. *Узбекский биологический журнал*, 2: 19-23.

[Даниленко и др., 2010](#) – Даниленко Л.М., Локровский М.В., Королев А.Е., Кочкаров В.И., Романова Т.А., Татаринова И.А. (2010). Митохондриальные атф-зависимые калиевые каналы как точка приложения действия при дистантном прекондиционировании. *Научные ведомости. Серия Медицина, Фармация*. 22(93): 12/2: 15-18.

[Надеев, Гончаров, 2014](#) – Надеев А.Д., Гончаров Н.В. (2014). Активные формы кислорода в клетках сердечно-сосудистой системы. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*, 4: 80-94. DOI: 10.17802/2306-1278-2014-4-80-94

[Новиков, Левченкова, 2013](#) – Новиков В.Е., Левченкова О.С. (2013). Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия. *Экспериментальная и клиническая фармакология*, 76(5): 37-47.

[Пожилова, Левченкова и др., 2014](#) – Пожилова Е.В., Левченкова О.С., Новиков В.Е. (2012). Регуляторная роль митохондриальной поры и возможности её фармакологической модуляции. *Обзоры по клин. фарм. и лекар. терапии*, 12: 13-19.

[Починок и др., 1985](#) – Починков Т.В., Тараховский М.Л., Портнягина В.А., Денисова М.Ф., Вонсяцкий В.А., Александров А.Н., Мельничук В.А. (1985). Экспресс-метод определения антирадикальной активности лекарственных веществ. *Хим. Фарм. журн.*, 5: 565-567.

[Рустамова и др., 2005](#) – Рустамова Р.П., Иргашева Г.М., Хушбактова З.А., Клемешева Л.С., Ширинова И.А., Алматов К.Т. (2005). Влияние некоторых флавоноидов на энергетический метаболизм митохондрий. *Сообщение 1. Вопр. биол., мед. и фарм. хим.* 4: 39-45.

[Цыбульский и др., 2011](#) – Цыбульский А.В., Попов А.М., Артюков А.А., Костецкий Э.Я., Кривошапка О.Н., Мазейка А.Н., Козловская Э.П. (2011). Сравнительное изучение лечебного действия лютеолина, розмариновой кислоты и эхинохрома А при экспериментальной кардиопатологии, индуцированной стрессом. *Биомед. химия*. 57(3): 314-325.

[Чеснокова и др., 2009](#) – Чеснокова Н.П., Моррисон В.В., Понукалина Е.В., Афанасьева Г.А., Бизенкова М.Н., Барсуков В.Ю., Морозова О.Л., ПолUTOва Н.В., Жевак Т.Н. (2009). О роли активации свободнорадикального окисления в структурной и функциональной дезорганизации биосистем в условиях патологии. *Фундаментальные исследования*, 5: 122-130.

[Akao et al., 2001](#) – Akao M., Ohler A., O'Rourke B., Marban E. Mitochondrial ATF-sensitive potassium channels inhibit apoptosis induced by oxidative stress in cardiac cells. *Circ. research.*, 2001, 88: 1267.

Akopova et al., 2011 – Akopova O.V., Kolchinskaya L.I., Nosar V.I., Smirnov A.N., Malysheva M.K., Mankovska I.N., Sagach V.F. (2011). The effect of permeability transition pore opening on reactive oxygen species production in rat brain mitochondria. *Український біохімічний журнал*, 2011, 83(6).

Brewer, 2011 – Brewer M.S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comp. rev. food science & food safety.*, 2011, 10(4): 221-247. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x

Council for International Organizations... – (Internet) 2012. International guiding principles for biomedical research involving animals. (Cited 5 August 2014). Available at: <http://www.cioms.ch/images/stories/CIOMS/IGP2012.pdf>

Dave et al., 2008 – Dave Z., Byfield M., Bossy-Wetzel E. Assessing mitochondrial outer membrane permeabilization during apoptosis. *Methods*, 2008, 46(4): 319-23. DOI: 10.1016/j.ymeth.2008.10.019

Facundo et al., 2007 – Facundo H.T., de Paula J.G., Kowaltowski A.J. Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels are redox-sensitive pathways that control reactive oxygen species production. *Free Radic Biol Med.*, 2007, 42(7): 1039-48. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.01.001

Ferranti et al., 2003 – Ferranti R., da Silva M.M., Kowaltowski A.J. Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel opening decreases reactive oxygen species generation. *FEBS Lett.*, 2003, 536(1-3): 51-5. DOI: 10.1016/S0014-5793(03)00007-3

Fornazari et al., 2008 – Fornazari M., de Paula J.G., Castilho R.F., Kowaltowski A.J. Redox properties of the adenosine triphosphate-sensitive K⁺ channel in brain mitochondria. *J. Neurosci. Res.*, 2008, 86(7): 1548-56. DOI: 10.1002/jnr.21614

Garlid, Halestrap, 2012 – Garlid K.D., Halestrap A.P. The mitochondrial K(ATP) channel--fact or fiction? *J Mol Cell Cardiol.*, 2012, 52(3): 578-83. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2011.12.011

Hund, Mohler, 2011 – Hund T.J., Mohler P.J. Differential roles for SUR subunits in KATP channel membrane targeting and regulation. *Am. J Physiol Heart Circ Physiol.*, 2011, 300(1): 33-5. DOI: 10.1152/ajpheart.01088.2010

Jiménez et al., 2004 – Jiménez A., Selga A., Torres J.L., Julià L. Reducing activity of polyphenols with stable radicals of the TTM series. Electron transfer versus H-abstraction reactions in flavan-3-ols. *Org Lett.*, 2004, 6(24): 4583-6. DOI: 10.1021/ol048015f

Lobo et al., 2010 – Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.*, 2010, 4(8): 118-26. DOI: 10.4103/0973-7847.70902

Meng et al., 2016 – Meng L.M., Ma H.J., Guo H., Kong Q.Q., Zhang Y. The cardioprotective effect of naringenin against ischemia-reperfusion injury through activation of ATP-sensitive potassium channel in rat. *Can J Physiol Pharmacol.*, 2016, 94(9): 973-8. DOI: 10.1139/cjpp-2016-0008

Mylonas, Kouretas, 1999 – Mylonas C., Kouretas D. Lipid peroxidation and tissue damage. *In Vivo*, 1999, 13(3): 295-309.

Peterson, 1977 – Peterson G.L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. Which is more generally applicable. *Analytical biochemistry*, 1977, 83(2): 346-56. DOI: 10.1016/0003-2697(77)90043-4

Riedl et al., 2002 – Riedl K.M., Carando S., Alessio H.M., Carthy M.Mc. (2002). Antioxidant Activity of Tannins and Tannin-Protein Complexes: Assessment In Vitro and In Vivo. *Free radicals in Food.*, 2002, 807: 188-200.

Samavati et al., 2002 – Samavati L., Monick M.M., Sanlioglu S., Buettner G.R., Oberley L.W., Hunninghake G.W. Mitochondrial K(ATP) channel openers activate the ERK kinase by an oxidant-dependent mechanism. *Am J Physiol.*, 2002, 283(1): 273-81. DOI: 10.1152/ajpcell.00514.2001

Schneider et al., 1948 – 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, 172(2): 619-35.

Solovyova, Kuznetsova, 2015 – Solovyova N.V., Kuznetsova T.Y. Quantum chemical modeling of antioxidant activity of glutathione interacting with hydroxyl- and superoxide anion radicals. *Ukr.biochem. j.*, 2015, 87(2): 156-162. DOI: 10.15407/ubj87.02.156

Takahama, 1984 – Takahama U. Hydrogen peroxide-dependent oxidation of flavonols by intact spinach chloroplasts. *Plant Physiol.*, 1984, 74: 852-855.

Takahama, 1985 – Takahama U. O₂-dependant and –independent photooxidation of quercetin in the presence and absence of riboflavin and effects of ascorbate on the fotooxidation. *Photochemistry and Photobiology*, 1985, 42: 89-91.

Takahama, Youngman et.al, 1984 – Takahama U., Youngman R.J., Elstner E.F. Transformation of quercetin by singlet oxygen generated by a photosensitized reaction, 1984, 7: 175-181.

Takei et al., 1994 – Takei M., Hiramatsu M., Mori A. Inhibitory effects of calcium antagonists on mitochondrial swelling induced by lipid peroxidation or amchidonic acid in the rat brain in vitro. *Neurochemical research*, 1994, 19(9): 1199-1206.

Tripathi, Rastogi, 1981 – Tripathi V.D., Rastogi R.P. Flavonoids in biology and medicine. *J Sci Ind Res.*, 1981, 40: 116-24

Tsujimoto, Shimizu, 2007 – Tsujimoto Y., Shimizu S. Role of the mitochondrial membrane permeability transition in cell death. *Apoptosis*, 2007, 12(5): 835-40. DOI: 10.1007/s10495-006-0525-7

Vianello et al., 2012 – Vianello A., Casolo V., Petrussa E., Peresson C., Patui S., Bertolini A., Passamonti S., Braidot E., Zancani M. The mitochondrial permeability transition pore (PTP) – an example of multiple molecular exaptation? *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1817(11): 2072-86. DOI: 10.1016/j.bbabi.2012.06.620

References

Akao et al., 2001 – Akao M., Ohler A., O'Rourke B., Marban E. (2001). Mitochondrial ATF-sensitive potassium channels inhibit apoptosis induced by oxidative stress in cardiac cells. *Circ. research.*, 88: 1267.

Akopova et al., 2011 – Akopova O.V., Kolchinskaya L.I., Nosar V.I., Smirnov A.N., Malysheva M.K., Mankovska I.N., Sagach V.F. (2011). The effect of permeability transition pore opening on reactive oxygen species production in rat brain mitochondria. *Український біохімічний журнал*, 83(6).

Akopova i dr., 2011 – Akopova, O.V., Kolchinskaya, L.I., Nosar', V.I., Smirnov, A.N., Malysheva, M.K., Man'kovskaya, I.N., Sagach, V.F. (2011). Vliyanie otkrytiya mitokhondrial'noi pory na produktsiyu aktivnykh form kisloroda v mitokhondriyakh mozga kryss. *Ukr. biokhim. zhurnal*, 83(6): 46-55. [in Russian]

Akopova i dr., 2013 – Akopova, O.I., Nosar', V.I., Man'kovskaya, I.N., Sagach, V.F. (2013). Vliyanie Ca²⁺-indutsirovannogo otkryvaniya tsiklosporin chuvstvitel'noi pory na potreblenie kisloroda i funktsional'noe sostoyanie mitokhondrii pecheni kryss. *Ukr. biokhim. zhurnal*, 85(5): 37-49. [in Russian]

Asrarov i dr., 2015 – Asrarov, M.I., Komilov, E.Dzh., Ergashev, N.A., Pozilov, M.K., Eshbakova, K.A., Toshmatov, Z.A., Tashbekova, M.Kh. (2015). K mekhanizmu deistviya flavona lyuteolina na funktsii mitokhondrii pecheni kryss. *Vopr. biol. med. i farm. khimii*, 12: 38-43. [in Russian]

Brewer, 2011 – Brewer M.S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comp. rev. food science & food safety*. 10(4): 221-247. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x

Chesnokova i dr., 2009 – Chesnokova, N.P., Morrison, V.V., Ponukalina, E.V., Afanas'eva, G.A., Bizenkova, M.N., Barsukov, V.Yu., Morozova, O.L., Polutova, N.V., Zhevak, T.N. (2009). O roli aktivatsii svobodnoradikal'nogo okisleniya v strukturnoi i funktsional'noi dezorganizatsii biosistem v usloviyakh patologii. *Fundamental'nye issledovaniya*, 5: 122-130. [in Russian]

Council for International Organizations... – (Internet) 2012. International guiding principles for biomedical research involving animals. (Cited 5 August 2014). Available at: <http://www.cioms.ch/images/stories/CIOMS/IGP2012.pdf>

Danilenko i dr., 2010 – Danilenko, L.M., Lokrovskii, M.V., Korolev, A.E., Kochkarov, V.I., Romanova, T.A., Tatarenkova, I.A. (2010). Mitokhondrial'nye atf-zavisimye kalievye kanaly kak tochka prilozheniya deistviya pri distantnom preconditsionirovanii. *Nauchnye vedomosti. Seriya Meditsina, Farmatsiya*. 22(93): 12/2: 15-18. [in Russian]

[Dave et al., 2008](#) – Dave Z., Byfield M., Bossy-Wetzel E. (2008). Assessing mitochondrial outer membrane permeabilization during apoptosis. *Methods*, 46(4): 319-23. DOI: 10.1016/j.ymeth.2008.10.019

[Facundo et al., 2007](#) – Facundo H.T., de Paula J.G., Kowaltowski A.J. (2007). Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels are redox-sensitive pathways that control reactive oxygen species production. *Free Radic Biol Med.* 42(7): 1039-48. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.01.001

[Ferranti et al., 2003](#) – Ferranti R., da Silva M.M., Kowaltowski A.J. (2003). Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel opening decreases reactive oxygen species generation. *FEBS Lett.*, 536(1-3): 51-5. DOI: 10.1016/S0014-5793(03)00007-3

[Fornazari et al., 2008](#) – Fornazari M., de Paula J.G., Castilho R.F., Kowaltowski A.J. (2008). Redox properties of the adenosine triphosphate-sensitive K⁺ channel in brain mitochondria. *J. Neurosci. Res.* 86(7): 1548-56. DOI: 10.1002/jnr.21614

[Gaiibov i dr., 2012](#) – Gaiibov, U.G., Kamaev, F.G., Aripov, T.F. (2012). Issledovanie vzaimodeistviya gossipola s DFPG v razlichnykh rastvoritelyakh metodom YaMR. *Doklady Akademii Nauk RUz*, 3: 49-53. [in Russian]

[Gaiibov i dr., 2017](#) – Gaiibov, U.G., Komilov, E.Dzh., Ergashev, N.A., Rakhimov, R.N., Abdullazhanova, N.G., Asrarov, M.I., Aripov, T.F. (2017). Vliyanie polifenol'nogo soedineniya PS-1 na pronitsaemost' membran mitokhondrii pecheni krys. *Doklady Akademii Nauk RUz*, №2. [in Russian]

[Gaiibov i dr., 2017](#) – Gaiibov, U.G., Komilov, E.Dzh., Ergashev, N.A., Rakhimov, R.N., Abdullazhanova, N.G., Asrarov, M.I., Aripov, T.F. (2017). Antioksidantnye i membranoaktivnye svoystva PS-1. *Uzbekskii biologicheskii zhurnal*, 2: 19-23. [in Russian]

[Garlid, Halestrap, 2012](#) – Garlid K.D., Halestrap A.P. (2012). The mitochondrial K(ATP) channel--fact or fiction? *J Mol Cell Cardiol.*, 52(3): 578-83. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2011.12.011

[Hund, Mohler, 2011](#) – Hund T.J., Mohler P.J. (2011). Differential roles for SUR subunits in KATP channel membrane targeting and regulation. *Am. J Physiol Heart Circ Physiol.* 300(1): 33-5. DOI: 10.1152/ajpheart.01088.2010

[Jiménez et al., 2004](#) – Jiménez A., Selga A., Torres J.L., Julià L. (2004). Reducing activity of polyphenols with stable radicals of the TTM series. Electron transfer versus H-abstraction reactions in flavan-3-ols. *Org Lett.*, 6(24): 4583-6. DOI: 10.1021/ol048015f

[Lobo et al., 2010](#) – Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.*, 4(8): 118-26. DOI: 10.4103/0973-7847.70902

[Meng et al., 2016](#) – Meng L.M., Ma H.J., Guo H., Kong Q.Q., Zhang Y. (2016). The cardioprotective effect of naringenin against ischemia-reperfusion injury through activation of ATP-sensitive potassium channel in rat. *Can J Physiol Pharmacol.*, 94(9): 973-8. DOI: 10.1139/cjpp-2016-0008

[Mylonas, Kouretas, 1999](#) – Mylonas C., Kouretas D. (1999). Lipid peroxidation and tissue damage. *In Vivo*, 13(3): 295-309.

[Nadeev, Goncharov, 2014](#) – Nadeev, A.D., Goncharov, N.V. (2014). Aktivnye formy kisloroda v kletkakh serdechno-sosudistoi sistemy. *Kompleksnye problemy serdechno-sosudistyykh zabolevaniy*, 4: 80-94. DOI: 10.17802/2306-1278-2014-4-80-94 [in Russian]

[Novikov, Levchenkova, 2013](#) – Novikov, V.E., Levchenkova, O.S. (2013). Novye napravleniya poiska lekarstvennykh sredstv s antigipoksicheskoi aktivnost'yu i misheni dlya ikh deistviya. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*, 76(5): 37-47. [in Russian]

[Peterson, 1977](#) – Peterson G.L. (1977). A simplification of the protein assay method of Lowry et al. Which is more generally applicable. *Analytical biochemistry*, 83(2): 346-56. DOI: 10.1016/0003-2697(77)90043-4

[Pochinok i dr., 1985](#) – Pochinok, T.V., Tarakhovskii, M.L., Portnyagina, V.A., Denisova, M.F., Vonsyatskii, V.A., Aleksandrov, A.N., Mel'nichuk, V.A. (1985). Ekspres-metod opredeleniya antiradikal'noi aktivnosti lekarstvennykh veshchestv. *Khim. Farm. zhurn.*, 5: 565-567. [in Russian]

[Pozhilova, Levchenkova idr., 2014](#) – Pozhilova, E.V., Levchenkova, O.S., Novikov, V.E. (2012). Regulyatornaya rol' mitokhondrial'noi pory i vozmozhnosti ee farmakologicheskoi modulyatsii. *Obzory po klin. farm. i lekar. terapii*, 12: 13-19. [in Russian]

[Riedl et al., 2002](#) – Riedl K.M., Carando S., Alessio H.M., Carthy M.Mc. (2002). Antioxidant Activity of Tannins and Tannin-Protein Complexes: Assessment In Vitro and In Vivo. *Free radicals*

in *Food.*, 807: 188-200.

Rustamova i dr., 2005 – Rustamova, R.P., Irgasheva, G.M., Khushbaktova, Z.A., Klemesheva, L.S., Shirinova, I.A., Almatov, K.T. (2005). Vliyanie nekotorykh flavonov na energeticheskii metabolizm mitokhondrii. *Soobshchenie 1. Vopr. biol., med. i farm. khim.* 4: 39-45. [in Russian]

Samavati et al., 2002 – Samavati L., Monick M.M., Sanlioglu S., Buettner G.R., Oberley L.W., Hunninghake G.W. (2002). Mitochondrial K(ATP) channel openers activate the ERK kinase by an oxidant-dependent mechanism. *Am J Physiol.*, 283(1): 273-81. DOI: 10.1152/ajpcell.00514.2001

Schneider et al., 1948 – Schneider W.C., Hageboom G.H., Pallade G.E. (1948). Cytochemical studies of mammalian tissues; isolation of intact mitochondria from rat liver; some biochemical properties of mitochondria and submicroscopic particulate material. *J. Biol. Chem.*, 172(2): 619-35.

Solovyova, Kuznetsova, 2015 – Solovyova N.V., Kuznetsova T.Y. (2015). Quantum chemical modeling of antioxidant activity of glutathione interacting with hydroxyl- and superoxide anion radicals. *Ukr.biochem. j.*, 87(2): 156-162. DOI: 10.15407/ubj87.02.156

Takahama, 1984 – Takahama U. (1984). Hydrogen peroxide-dependent oxidation of flavonols by intact spinach chloroplasts. *Plant Physiol.*, 74: 852-855.

Takahama, 1985 – Takahama U. (1985). O₂-dependant and –independent photooxidation of quercitine in the presence and absence of riboflavin and effects of ascorbate on the fotooxidation. *Photochemistry and Photobiology*, 42: 89-91.

Takahama, Youngman et.al, 1984 – Takahama U., Youngman R.J., Elstner E.F. (1984). Transformation of quercetin by singlet oxygen generated by a photosensitized reaction, 7: 175-181.

Takei et al., 1994 – Takei M., Hiramatsu M., Mori A. (1994). Inhibitory effects of calcium antagonists on mitochondrial swelling induced by lipid peroxidation or amchidonic acid in the rat brain in vitro. *Neurochemical research*, 19(9): 1199-1206.

Tripathi, Rastogi, 1981 – Tripathi V.D., Rastogi R.P. (1981). Flavonoids in biology and medicine. *J Sci Ind Res.*, 40: 116-24

Tsujimoto, Shimizu, 2007 – Tsujimoto Y., Shimizu S. (2007). Role of the mitochondrial membrane permeability transition in cell death. *Apoptosis*, 12(5): 835-40. DOI: 10.1007/s10495-006-0525-7

Tsybul'skii i dr., 2011 – Tsybul'skii, A.V., Popov, A.M., Artyukov, A.A., Kostetskii, E.Ya., Krivoschapko, O.N., Mazeika, A.N., Kozlovskaya, E.P. (2011). Sravnitel'noe izuchenie lechebnogo deistviya lyuteolina, rozmarinovo kisloty i ekhinokhroma A pri eksperimental'noi kardiopatologii, indutsirovannoi stressom. *Biomed. khimiya.*, 57(3): 314-325. [in Russian]

Vadzyuk, Kosterin, 2008 – Vadzyuk, O.B., Kosterin, S.A. (2008). Indutsirovannoe diazoksidom nabukhanie mitokhondrii miometriya krys kak svidetel'stvo aktivatsii ATF-chuvstvitel'nogo K⁺-kanala. *Ukr. biokhim. zhurn*, 80(5): 45-51. [in Russian]

Vianello et al., 2012 – Vianello A., Casolo V., Petrusa E., Peresson C., Patui S., Bertolini A., Passamonti S., Braidot E., Zancani M. (2012). The mitochondrial permeability transition pore (PTP) – an example of multiple molecular exaptation? *Biochim Biophys Acta*, 1817(11): 2072-86. DOI: 10.1016/j.bbabi.2012.06.620

Vladimirov, 2002 – Vladimirov, Yu.A. (2002). Narushenie bar'ernykh svoistv vnutrennei i naruzhnoi membran mitokhondrii, nekroz i apoptoz. *Biologicheskie membrany*, 19(5): 356-377. [in Russian]

Антиоксидантные и мембраноактивные свойства 1,4,6 три-о-галлоил-2,3-валонеил-β-d-глюкозы

Улугбек Г. Гайибов ^{a,*}, Эсохон Дж. Комилов ^a, Нурали А. Эргашев ^a, Рахматилла Н. Рахимов ^a, Нодира Г. Абдуллажанова ^a, Музаффар И. Асраров ^a, Тахир Ф. Арипов ^a

^a Институт Биоорганической химии АН РУз имени акад. А.С. Садыкова, Ташкент, Узбекистан

* Корреспондирующий автор

Адреса электронной почты: gayibov.ulugbek@gmail.com (У.Г. Гайибов)

Аннотация. Функциональные параметры митохондрий, такие как циклопоринчувствительная мегапора (mPTP), АТФ-зависимый K⁺-канал (mitoKATP), а также ингибирование свободно-радикального окисления мембран в условиях нормоксии играют важную роль при функционировании митохондрий, и клетки в целом. Нарушение нормального функционирования данных параметров возникает при различных патологических состояниях. Таким образом, для изучения действия нового полифенольного соединения *1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкозы*, как объекта корректировки функций митохондрий в патологических состояниях, в данной работе исследовано влияние данного соединения на АТФ-зависимый K⁺-канал и на циклопоринчувствительную пору (mitochondrial permeability transition pore) в митохондриях из печени крыс. Также изучение антиоксидантной активности *1,4,6 три-О-галлоил-2,3-валонеил-β-D-глюкозы* показало, что данное соединение обладает высокой антиоксидантной активностью при Fe²⁺+аскорбат-индуцированном набухании митохондрий.

Ключевые слова: mPTP, mitoATP, антиоксидантная активность, антирадикальная активность, полифенольные соединения, гипоксия.