



УДК: 577.352.45

**Малика ДЖУМАЕВА,**

Магистрантка Национальный университет Узбекистана

E-mail: [djumaevamalika1@gmail.com](mailto:djumaevamalika1@gmail.com)

**Иродахон МУХАМЕДИЕВА,**

Базовый докторант Ферганский Государственный университет

**Зулайхо МАМАТОВА,**

Доцент Национальный университет Узбекистана

**Шерзод ЖУРАКУЛОВ,**

старший научный сотрудник Академия наук Республики Узбекистан, Институт химии растительных веществ

**Маъмуржон ПОЗИЛОВ,**

Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека

Доцент кафедры биофизики

### CHARACTERISTICS OF THE INFLUENCE OF SOME ISOQUINOLINE ALKALOIDS ON THE DYSFUNCTION OF RAT LIVER MITOCHONDRIA UNDER OXIDATIVE STRESS

Annotation

This article examined the effects of 1-(4-dimethylaminophenyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (F-24) and 1-(4-methoxyphenyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (F-4) isoquinoline alkaloids on the swelling of rat liver mitochondria under oxidative stress (OS) conditions and on lipid peroxidation (LPO) induced by Fe<sup>2+</sup>/citrate OS model in rats was induced by a single oral administration of salt PbCl<sub>2</sub> at a dose of 10 mg/kg per day. The inhibitory effect was demonstrated by isoquinoline alkaloids F-24 and F-4 on the swelling of rat liver mitochondria during OS induced-PbCl<sub>2</sub> and Fe<sup>2+</sup>/citrate-dependent LPO.

**Key words:** oxidative stress, liver, mitochondria, isoquinoline alkaloid.

### OKSIDATIV STRESSDA KALAMUSH JIGARI MITOXONDRIYASI DISFUNKSIYASIGA AYRIM IZOXINOLIN ALKALOIDLARINING TA'SIRINI TAVSIFLASH

Аннотация

Ushbu maqolada oksidativ stress (OS) sharoitida kalamush jigari mitoxondriyasining bo'kishiga va Fe<sup>2+</sup>/sitrat bilan indutsirlangan lipidlarning perekisli oksidlanishiga (LPO) 1-(4-dimetilaminofenil)-6,7-dimetoksi-1,2,3,4-tetrahidroizoxinolin (F-24) va 1-(4-metoksilfenil)-6,7-dimetoksi-1,2,3,4-tetrahidroizoxinolin (F-4) izoxinolin alkaloidlarining ta'siri o'rganilgan. Kalamushlarda OS modeli PbCl<sub>2</sub> tuzining sutkada bir marta 10 mg/kg miqdorda peroral yo'l orqali yuborish bilan chaqirilgan. PbCl<sub>2</sub> bilan chaqirilgan OSda kalamush jigari mitoxondriyasining bo'kishiga va Fe<sup>2+</sup>/sitratga bog'liq LPOga F-24 va F-4 izoxinolin alkaloidlari ingibirolovchi ta'sir etdi.

**Kalit so'zlar:** oksidativ stress, jigari, mitoxondriya, izoxinolin alkaloid.

### ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛИЯНИЯ НЕКОТОРЫХ ИЗОХИНОЛИНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ НА ДИСФУНКЦИЮ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОКСИДАТИВНОМ СТРЕССЕ

Аннотация

В данной статье были изучены влияния 1-(4-диметиламинофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин (F-24) и 1-(4-метоксифенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин (F-4) изохинолиновых алкалоидов на набухание митохондрий печени крыс при условиях оксидативного стресса (ОС) и на перекисное окисление липидов (ПОЛ), индуцированного Fe<sup>2+</sup>/цитратом. Моделирование ОС у крыс было создано путем однократного перорального введения PbCl<sub>2</sub> в дозе 10 мг/кг за сутки. Изохинолиновые алкалоиды F-24 и F-4 проявляли ингибирующий эффект на набухание митохондрий печени крыс при ОС, индуцированного PbCl<sub>2</sub>, и Fe<sup>2+</sup>/цитрат-индуцированный ПОЛ.

**Ключевые слова:** оксидативный стресс, печень, митохондрия, изохинолиновый алкалоид.

**Введение.** Энергетический статус клетки определяется синтезом в ней АТФ. Синтез АТФ осуществляется путем транспорта электронов в дыхательной цепи внутренней мембраны митохондрий. Для этого митохондриальная мембрана должна быть структурно неповрежденной. Только тогда обеспечивается электрохимический градиент мембраны митохондрий, которое имеет особое значение в ее функции [1]. В результате дисфункции митохондриальной мембраны происходит снижение мембранного потенциала и синтеза АТФ, и увеличение проницаемости. Митохондриальные нарушения можно корректировать с помощью биоактивных веществ. В настоящее время для коррекции дисфункций в клетках и органеллах на молекулярном уровне при различных патологических процессах широко используются полифенольные соединения, флавоноиды, терпеноиды и изохинолиновые алкалоиды [2; 3].

В настоящее время более 40% лекарственных препаратов получены из природных источников и успешно применяются в медицине. Среди них особое место занимают алкалоиды. Изохинолиновые алкалоиды обладают выраженными фармакологическими эффектами, резко отличающимися от других групп алкалоидов. Многие изохинолиновые алкалоиды присутствуют во многих лекарственных препаратах. К изохинолиновым алкалоидам относятся кодеин, папаверин, глауцин (алкалоид апорфин - антитуссив), бензофенантридиновые алкалоиды - сангивинарин, челиритрин (противомикробное), фталидные изохинолиновые алкалоиды - α, β-биккулин, α, β-

гидрастин (обладают наркотическим действием и считаются аналептиками центральной нервной системы). Простые изохинолины корипалины широко используются в медицине как гемостатическое средство [4].

В настоящее время биологическая активность изохинолиновых алкалоидов изучаются и учеными нашей страны. В проведенных научных исследованиях установлено, что алкалоиды зонгорин, напеллин, 1-О-бензоилнапеллин, талатизамин и 14-О-бензоилталатизамин активируют  $\text{mitoK}^+_{\text{ATP}}$ -канал печени и сердца в разной степени; было обнаружено, что алкалоиды зонгорин, напеллин, 1-О-бензоилнапеллин, талатизамин и 14-О-бензоилталатизамин ингибируют открытие митохондриальной  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой поры в печени и сердце крыс [5].

Было обнаружено, что изохинолиновые алкалоиды обладают отрицательной инотропной активностью в отношении папиллярных мышц сердца крыс. Установлено, что отрицательный инотропный эффект изохинолиновых алкалоидов F-14, N-14 и F-24 связан с уменьшением концентрации внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  в кардиомиоцитах [6]. Выявлено, что алкалоиды F-24, N-14 и F-14 обладают антиаритмическим действием, и это обеспечивается за счет блокады ими  $\text{Na}^+$ -каналов, высокий отрицательный инотропный эффект алкалоида F-24 заключается в наличии в его структуре дополнительной диметиламино группы, вследствие чего он является липофильным и, следовательно, определено соответствующее увеличение мембранной активности [7]. Однако, влияние изохинолиновых алкалоидов F-24 и F-4 на митохондриальную дисфункцию, связанную с окислительным стрессом, не исследовалось.

Целью работы является изучение влияния изохинолиновых алкалоидов F-24 и F-4 на набухание митохондрий печени крыс в условиях ОС, и на ПОЛ, индуцированного  $\text{Fe}^{2+}$ /цитратом. Отобранные для исследования изохинолиновые алкалоиды F-24 и F-4 были предоставлены доктором химических наук Ш.Н.Журакуловым, ученым Института химии растительных веществ АН РУз,

**Методы и материалы исследования.** Эксперименты были проведены на беспородных белых крыс-самцах массой 180-200 г. Кормление лабораторных животных проводилось в стандартных рациональных условиях вивария. Исследования на экспериментальных животных проводились на основе международной Хельсинкской декларации, разработанной Советом международных организаций медицинских наук (CIOMS; *the council for international organizations of medical sciences*) (1985 г.) и «Положения о порядке использования лабораторных животных в научно-исследовательских работах», проводимых в Институте биофизики и биохимии. Исследования проводились в условиях *in vivo*. Для создания модели окислительного стресса у крыс использовалась соль  $\text{PbCl}_2$ .

Крысы, выделенные для эксперимента, были разделены на следующие группы: I группа - контрольная (n=5), II группа - опытная ( $\text{PbCl}_2$ -индуцированный ОС, n=5), III группа - опытная ( $\text{PbCl}_2$ -индуцированный ОС+F-24, n=5) и IV группа ( $\text{PbCl}_2$ -индуцированный ОС+F-4, n=5). Группам II, III и IV вводили  $\text{PbCl}_2$  в дозе 10 мг/кг перорально один раз в день в течение 7 дней. После индуцирования ОС, крысам III и IV групп вводили изохинолиновые алкалоиды F-24 и F-4, с добавлением их в корм животных, в дозе 30 мг/кг один раз в сутки в течение 7 дней, соответственно. В модельных группах ОС погибло лишь небольшое количество крыс (10%).

Митохондрии печени крысы выделяли методом дифференциального центрифугирования [8].

Кинетику  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимого набухания митохондрий регистрировали с помощью спектрофотометра (spectrophotometer V-5000) при 540 нм в открытой ячейке объемом 3 мл при постоянном перемешивании суспензии митохондрий при 26°C [9]. Для изучения процесса ПОЛ в мембране митохондрий использована система  $\text{Fe}^{2+}$ /цитрат. Данная система основана на набухание и изменение объема митохондрий в результате ПОЛ в мембране. Изменение объема было определено фотометрическим методом [10].

Статистическую обработку полученных результатов и рисование изображений проводили с помощью компьютерной программы Origin 8.6 (США). В экспериментах кинетику набухания митохондрий рассчитывали в процентах от максимума, также было рассчитано среднее арифметическое значение 5 разных экспериментов.

**Полученные результаты и их обсуждение.** Ионы  $\text{Ca}^{2+}$  имеют особое значение в митохондриальных процессах и клеточной сигнализации. При различных патологических состояниях повышенное содержание ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях приводит к увеличению проницаемости мембраны для воды и растворенных в ней молекул. При этом наблюдается процесс набухания митохондрий, что вызывает резкое увеличение проницаемости мегаканала (*mitochondrial permeability transition pore-mPTP*). При ОС также происходит набухание митохондрий, что подтвердилось и в ходе проведения экспериментов. Набухание митохондрий, связанное с ОС, можно ингибировать различными биологически активными веществами. Встречаются данные о растительных веществах, ингибирующих набухание митохондрий при различных патологических состояниях. В связи с отсутствием данных о влиянии изохинолиновых алкалоидов на набухание митохондрий печени были проведены следующие эксперименты.

В экспериментах в качестве индуктора, индуцирующего набухание митохондрий в условиях ОС, был использован  $\text{CaCl}_2$  в концентрации 10 мкМ. У крыс контрольной группы, при отсутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в инкубационной среде (на рисунке выделяется в качестве интактной группы), процесса набухания митохондрий печени не наблюдалось (рис. 1). Однако, в присутствии  $\text{CaCl}_2$  в концентрации 10 мкМ в инкубационной среде у крыс I группы (здоровых) набухание митохондрий печени составляет  $0,45 \Delta A_{540} \times 10$  мин. Набухание митохондрий печени при помощи ионов  $\text{Ca}^{2+}$  у крыс II группы при состоянии ОС, индуцированного  $\text{PbCl}_2$  составлял  $0,83 \Delta A_{540} \times 10$  мин. Это свидетельствует об увеличении показателей на 84,4% по отношению к I группе.

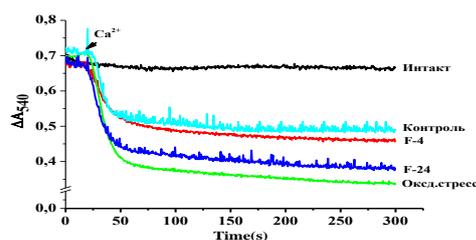
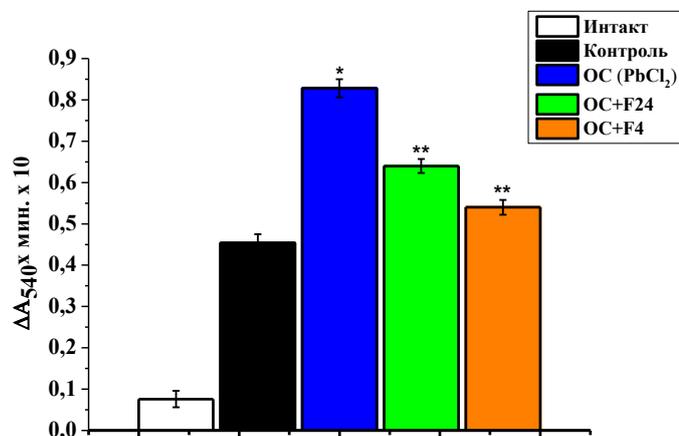


Рисунок 1. Влияние изохинолиновых алкалоидов F-24 и F-4 на набухание митохондрий печени крыс в условиях ОС, индуцированного  $\text{PbCl}_2$  (оригинальная запись).

Таким образом, введение крысам  $PbCl_2$  в дозе 10 мг/кг в течение 7 дней приводило к набуханию митохондрий печени. Повышение интенсивности процесса набухания митохондрий под воздействием ОС при помощи ионов  $Ca^{2+}$  обусловило высокое значение проницаемости mPTP. Продолжая эксперимент было выявлено, что у III группы крыс с ОС после введения изохинолинового алкалоида F-24 по 30 мг/кг в течении 7 дней, набухание митохондрий их печени составлял  $0,64 \Delta A_{540} \times 10$  мин., что привело к ингибированию на 22,9% по сравнению с патологией (рис. 2). После фармакотерапии крыс IV группы с ОС при помощи изохинолинового алкалоида F-4, набухание митохондрий их печени составил  $0,017 \Delta A_{540} \times 10$  мин. Это, в свою очередь привело к ингибированию на 97,9% по отношению к показателям II группы (рис. 2).

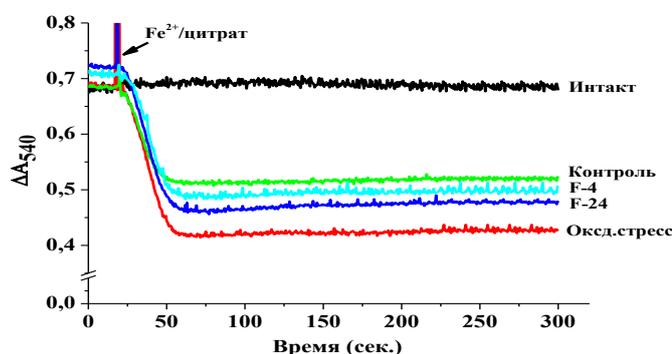


**Рисунок 2. Влияние изохинолиновых алкалоидов F-24 и F-4 на набухание митохондрий печени крыс в условиях ОС, индуцированного  $PbCl_2$  (\* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ;  $n = 5$ ).**

Следовательно, изохинолиновые алкалоиды F-24 и F-4 воздействовали ингибирующим эффектом на набухание митохондрий печени при  $PbCl_2$ -индуцированный ОС. При этом установлено, что ингибирующее действие изохинолинового алкалоида F-4 на набухание митохондрий печени в условиях ОС более активно, чем изохинолинового алкалоида F-24.

В условиях ОС набухание митохондрий печени может, в свою очередь, гидролизовать липиды, находящиеся во внутренней и внешней мембране. Усиление процесса ПОЛ митохондриальной мембраны также влияет на ее проницаемость. С целью изучения влияния ПОЛ на набухание митохондрий в условиях оксидативного стресса и ингибирующего действия изохинолиновых алкалоидов на них были проведены дальнейшие эксперименты.

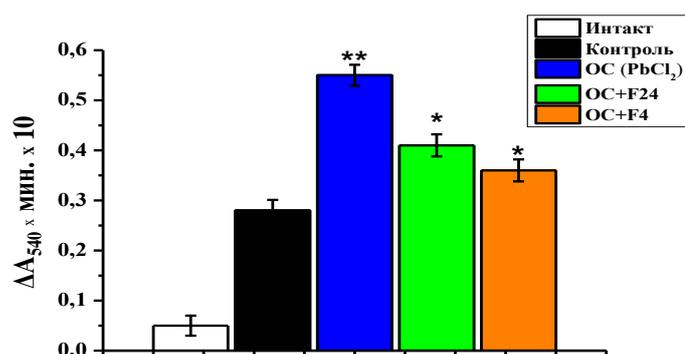
В наших экспериментах было изучено набухание митохондрий печени крыс, индуцированное  $Fe^{2+}$ /цитратом (рис. 3). При этом  $Fe^{2+}$ /цитрат, являющийся индуктором ПОЛ, ускоряя перекисное окисление в мембране митохондрий нарушает ее барьерную функцию, в результате чего объем органеллы увеличивается и происходит набухание митохондрий. Прямой линией отмечены интактные митохондрии, выделенные из печени здоровых контрольных крыс без какого-либо индуктора. Показатель оптической плотности митохондрий печени крыс I группы с ПОЛ, индуцированный  $Fe^{2+}$ /цитратом, составил  $0,28 \Delta A_{540} \times 10$  мин. Показатель оптической плотности митохондрий печени крыс II группы с ОС индуцированной  $PbCl_2$ , при наличии  $Fe^{2+}$ /цитрата составил  $0,55 \Delta A_{540} \times 10$  мин., что оказалось на 96,4% выше контроля (рис. 3).



**Рисунок 3. Влияние изохинолиновых алкалоидов F-24 и F-4 на процесс ПОЛ, индуцированного  $Fe^{2+}$ /цитратом, митохондрий печени крыс в условиях ОС (оригинальная запись).**

Усиление процесса ПОЛ в мембране митохондрий печени крыс в условиях ОС, может быть связано с нарушением систем ионного транспорта [11].

При фармакотерапии изохинолиновым алкалоидом F-24 животных III группы с ОС, индуцированным  $PbCl_2$ , было выявлено, что набухание митохондрий  $Fe^{2+}$ /цитратом ингибировался на 25,4% по сравнению с группой II. Установлено, что у крыс IV группы, получавших изохинолиновый алкалоид F-4, наблюдалось ингибирование набухания митохондрий печени на 34,5% по сравнению со II группой (рис. 4).



**Рисунок 4. Влияние изохинолиновых алкалоидов F-24 и F-4 на ПОЛ митохондрий печени крыс, индуцированного Fe<sup>2+</sup>/цитратом, в условиях ОС (\*P<0,05; \*\*P<0,01; n=5).**

Следовательно, в условиях ОС изохинолиновые алкалоиды F-24 и F-4 оказали тормозящее действие на Fe<sup>2+</sup>/цитрат-индуцированный ПОЛ мембран митохондрий печени крыс. Основными причинами открытия мПТР в условиях ОС являются развитие стресса, прооксиданты, индукция ПОЛ, окисление тиоловых групп в комплексе мПТР.

Приводя к торможению процессы ПОЛ, изохинолиновые алкалоиды могут снижать количество свободных радикалов в митохондриях и связываясь с матричным доменом СуР-D, контролировать ингибирующие свойства ЦсА.

В заключение можно сказать, что изохинолиновые алкалоиды F-24 и F-4 восстанавливают повреждения митохондрий печени в условиях оксидативного стресса. При ОС эти вещества ингибируя открытие мПТР действовали как блокатор, также было обнаружено, что они оказали тормозящее действие на процесс ПОЛ, вызванное Fe<sup>2+</sup>/цитратом.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Kohler A., Barrientos A., Fontanesi F., Ott M. The functional significance of mitochondrial respiratory chain supercomplexes // *EMBO reports* – 2023. – V.24: - P. 1-14.
- Tungmunnithum D., Thongboonyou A., Pholboon A., Yangsabai A. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: an overview // *Medicines (Basel)*. – 2018. – V.5(3): – P. 1-16.
- Huang W., Wang Y., Tian W., Cui X., Tu P., Li J., Shi S., Liu X. Biosynthesis investigations of terpenoid, alkaloid, and flavonoid antimicrobial agents derived from medicinal plants // *Antibiotics (Basel)*. – 2022. – V.11(10): – P. 1-32.
- Юсупов А., Алимова М. Биологическая активность изохинолиновых алкалоидов // *Евразийский Союз Ученых*. – 2016. – Т.6 (27). – С.127-129.
- Муратова Д.Х., Эргашев Н.А., Шкинев А.В., Асраров М.И., Курбанов У.Х. Влияние зонгорина на активность АТФ-зависимого К<sup>+</sup>-канала и состояние мегапоры митохондрий печени крыс. // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2021. – Т. 84. – №4. – С. 12-15.
- Жумаев И.З., Усманов П.Б., Жўракулов Ш.Н., Виноградова В.И. F-24 ва N-14 алкалоидларининг кардиомиоцит Са<sup>2+</sup> -транспорти тизимларига таъсир механизми тавсифлаш// *Инфекция, иммунитет и фармакология*. –2019. – №3. – С.21-27.
- Жумаев И.З., Журакулов Ш.Н., Усманов П.Б., Хушматов Ш.С., Рустамов Ш.Ю., Виноградова В.И. Инотропное воздействие алкалоида 1-(4-диметиламинофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин (F-24) // *Фармацевтика журналы*. – 2018. – №4. – С. 93-97.
- Schneider W.C., Hogeboom G.H. Cytochemical studies of mammalian tissues: the isolation of cell components by differential centrifugation // *Cancer. Res.* – 1951. – 11. – P. 1-22.
- He L., Lemasters J.J. Heat shock suppresses the permeability transition in rat liver mitochondria // *J. Biol. Chem.* – 2003. – V. 278(19). – P. 16755-16760.
- Almeida A.M., Bertocini C.R., Borecky J., Souza-Pinto N.C., Vercesi A.E. Mitochondrial DNA damage associated with lipid peroxidation of the mitochondrial membrane induced by Fe<sup>2+</sup>-citrat // *An. Acad. Bras. Cienc.* – 2006. – V. 78(3). – P. 505-514.
- Halestrap A.P., Richardson A.P. The mitochondrial permeability transition: a current perspective on its identity and role in ischaemia/reperfusion injury // *J Mol Cell Cardiol* – 2015 – V.78: - P. 129-141.