

УДК 547.814.5:582.71:651.224(470.638)



ВЗАИМОСВЯЗЬ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ПОЛИФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ ЛИСТЬЕВ ГЕМИПАРАЗИТА *VISCUM ALBUM L.*

С.Л. Аджихметова, Д.И. Поздняков, Н.М. Червонная, Е.О. Куличенко, Э.Т. Оганесян

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 357532, Россия, г. Пятигорск, пр-т Калинина, д. 11

E-mail: similla503@mail.ru

Получена 20.12.2021

После рецензирования 12.06.2022

Принята к печати 01.07.2022

Антиоксидантные средства находят широкое применение в практической медицине. Актуальным является не только поиск новых растительных антиоксидантов, но и изучение факторов, влияющих на их накопление в растениях.

Цель. Изучение взаимосвязи активности митохондриальных ферментов и антиоксидантной активности вторичных метаболитов полифенольной природы листьев гемипаразита *Viscum album L.*

Материалы и методы. В качестве исследуемого материала выступали листья омелы белой, собранные зимой с дерева-носителя – яблони обыкновенной. Экстракцию биологически активных веществ проводили спиртом этиловым различной концентрации (90%, 70% и 50%) или водой очищенной. Количество суммы антиоксидантов оценивали амперометрическим методом. Количество суммы фенолов оценивали в реакции с реактивом Фолина-Чокальтеу. Концентрацию суммы флавоноидов оценивали по изменению оптической плотности комплекса рутина с алюминия (III) хлоридом. Антиоксидантные свойства анализируемых извлечений определяли *in vitro* в тесте индуцированного перекисного окисления липидов. Активность аконитазы оценивали путем сопряженной аконитазы – изоцитратдегидрогеназной реакции; цитратсинтазы – по изменению интенсивности окраски раствора реактива Элмана; сукцинатдегидрогеназы определяли в реакции сукцинат-зависимого окисления 2,6-дихлорфенолиндофенола.

Результаты. Проведенное исследование показало, что максимальное количество суммы фенолов ($2,39 \pm 0,05\%$), наблюдается в 50% этанольном извлечении из листьев омелы белой, при содержании суммы флавоноидов $1,83 \pm 0,04\%$ и антиоксидантов $0,503 \pm 0,007$ мг/г (эквивалент кверцетина) и $0,322 \pm 0,006$ мг/г (эквивалент галловой кислоты). 50% этанольное извлечение подавляло перекисное окисление липидов в модельной смеси с $IC_{50} = 106,3 \pm 1,09$ мкг/мл. В листьях омелы белой отмечена высокая активность аконитазы, сильно коррелировавшая ($r = 0,88416$) с изменением концентрации флавоноидов.

Заключение. Оптимальным экстрагентом для получения извлечений с высокой антиоксидантной активностью является спирт этиловый 50%. Анализ активности митохондриальных ферментов показал, что в листьях омелы белой, собранных зимой, отмечена высокая активность аконитазы, сильно коррелировавшая с изменением концентрации флавоноидов ($r = 0,88416$).

Ключевые слова: антиоксиданты; флавоноиды; аконитаза; сукцинатдегидрогеназа; цитратсинтаза; *Viscum album L.*; корреляционный анализ; растения гемипаразиты; митохондриальные ферменты

Список сокращений: ПОЛ – перекисное окисление липидов; ДМСО – диметилсульфоксид; ТБК – тиобарбитуровая кислота; ЭДТА – этилендиаминтетраацетат натрия; НАДФН – никотинамидадениндинуклеотид фосфат восстановленный; НАДФ – никотинамидадениндинуклеотид фосфат; ФАЛ – фенилаланин-аммиак лиаза; ЕД – единицы действия; АФК – активные формы кислорода.

Для цитирования: С.Л. Аджихметова, Д.И. Поздняков, Н.М. Червонная, Е.О. Куличенко, Э.Т. Оганесян. Взаимосвязь активности митохондриальных ферментов и антиоксидантной активности вторичных метаболитов полифенольной природы листьев гемипаразита *Viscum album L.* Фармация и фармакология. 2022;10(4):343-353. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-4-343-353

© С.Л. Аджихметова, Д.И. Поздняков, Н.М. Червонная, Е.О. Куличенко, Э.Т. Оганесян, 2022

For citation: S.L. Adjikhmetova, D.I. Pozdnyakov, N.M. Chervonnaya, E.O. Kulichenko, E.T. Oganesyanyan. Interrelation between mitochondrial enzyme activity and antioxidant activity of secondary polyphenol nature metabolites in hemiparasite *Viscum album L.* leaves. *Pharmacy & Pharmacology*. 2022;10(4):343-353. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-4-343-353

INTERRELATION BETWEEN MITOCHONDRIAL ENZYME ACTIVITY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SECONDARY POLYPHENOL NATURE METABOLITES IN HEMIPARASITE *VISCUM ALBUM* L. LEAVES

S.L. Adjiakhmetova, D.I. Pozdnyakov, N.M. Chervonnaya, E.O. Kulichenko, E.T. Oganessian

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University,
11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

E-mail: similla503@mail.ru

Received 20 Dec 2021

After peer review 12 June 2022

Accepted 01 July 2022

Antioxidants are widely used in practical medicine. Not only the search for new plant antioxidants, but also the study of the factors affecting their accumulation in plants, are relevant.

The aim is to study the interrelation between the activity of mitochondrial enzymes and the antioxidant activity of the secondary polyphenolic nature metabolites in hemiparasite *Viscum Album* L. leaves.

Materials and methods. The sampling material was *Viscum album* L. leaves, collected in winter from a host tree, *Malus domestica* Borkh. The extraction of biologically active substances was carried out with ethyl alcohol of various concentrations (90%, 70% and 50%), or purified water. The amount of total antioxidants was estimated by the amperometric method. The amount of total phenols was evaluated in the reaction with the Folin-Ciocalteu reagent. The concentration of total flavonoids was estimated by the change in the optical density of the rutin with aluminum (III) chloride complex. The antioxidant properties of the analyzed extracts were determined *in vitro* in the induced lipid peroxidation test. The activity of aconitase was assessed by a conjugated aconitase-isocitrate dehydrogenase reaction, citrate synthase – by changing the color intensity of the Ellman reagent solution, succinate dehydrogenase were determined in the reaction of succinate-dependent oxidation of 2,6-dichlorophenolindophenol.

Results. The carried out study showed that the maximum amount of total phenols (2.39±0.05%) is observed in a 50% ethanol extract from *Viscum album* L. leaves, with the content of total flavonoids equal to 1.83±0.04%, and the antioxidants equal to 0.503±0.007 mg/g (a quercetin equivalent) and 0.322±0.006 mg/g (a gallic acid equivalent). A 50% ethanol extract suppressed lipid peroxidation in the model mixture with $IC_{50}=106.3\pm 1.09 \mu\text{g/ml}$. In *Viscum album* L. leaves, a high activity of aconitase which strongly correlated ($r=0.88416$) with changes in the concentration of flavonoids, has been notified.

Conclusion. The optimal extractant for obtaining extracts with a high antioxidant activity is 50% ethyl alcohol. The analysis of the mitochondrial enzymes activity showed that in *Viscum album* L. leaves collected in winter, a high activity of aconitase strongly correlated with changes in the concentration of flavonoids ($r=0.88416$).

Keywords: antioxidants; flavonoids; aconitase; succinate dehydrogenase; citrate synthase; *Viscum album* L.; correlation analysis; plants-hemiparasites; mitochondrial enzymes

Abbreviations: LPO – lipid peroxidation; DMSO – dimethyl sulfoxide; TBA – thiobarbituric acid; EDTA – ethylene diamine tetraacetic acid; NADH – nicotinamide adenine dinucleotide, reduced form; NADP – nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate; PAL – phenylalanine ammonia lyase; AU(s) – unit(s) of activity; ROS – reactive oxygen species.

ВВЕДЕНИЕ

К роду Омела принадлежат около 100 видов вечнозеленых полупаразитных растений, из которых в России распространены только омела белая (*Viscum album* L.) и омела окрашенная (*Viscum coloratum* (Kom.) Nasci). Омела белая представляет собой вечнозеленый кустарник полушаровидной формы с вильчатым ветвлением, который произрастает на стволах и ветвях многих лиственных деревьев как паразитическая форма. Корни омелы белой образуют разветвления, проникающие под кору и в древесину дерева-хозяина, образуя в ней многочисленные специальные органы прикрепления – гаустории^{1,2}.

¹ Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование: Семейства Rutaceae – Elaeagnaceae / АН СССР, Ботан. ин-т им. В. Л. Комарова; [Составители И. Б. Сандина и др.]; Отв. ред. П. Д. Соколов. – Л.: Наука: Ленингр. отд-ние, 1988. – 356 с.

² Лях Ю.Г., Юрель В.А. Омела белая (*Viscum album*) и ее экологическое значение в Республике Беларусь // Сахаровские чтения 2018 года: экологические проблемы XXI века: материалы 18-й междунар. науч. конф. – Минск, 2018. – Т. 2. – С. 152–154.

По таксономическому положению омела белая по классификации, предложенной Тахтаджяном А.Е и Гиляровой М.С. отнесена к семейству омеловые (*Viscaceae* Miers.) порядок санталовые (*Santalales*). По классификации Еленевской А.Г. и др. – к семейству лорантовые (*Loranthaceae* Juss.); согласно Цицину Н.В. – к семейству ремнецветные (*Loranthaceae* Juss.)^{3,4}.

Одним из отличий омелы от других растений паразитов является то, что для получения питательных веществ омела не разрушает клетки хозяина, а связывается с сосудистой системой дерева-хозяина. Для своей вегетации омела использует значительную часть питательных веществ дерева-носителя, что приводит к потере ресурсов, повышая тем самым его восприимчивость к различным заболеваниям.

³ Там же.

⁴ Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Rutaceae – Elaeagnaceae, 1988.

Возникающие морфологические нарушения уменьшают защитные функции дерева-хозяина, что приводит к гипертрофическим процессам, в результате чего часть дерева отмирает⁵.

В омеле белой содержатся разнообразные по структуре биологически активные соединения – лектины, вискотоксины, висцерин, флавоноиды, азотсодержащие вещества, олеаноловая и урсоловая кислоты, спирты, амины и другие действующие соединения, которые определяют её уникальные терапевтические свойства [1, 2].

Исследованы три лектина из омелы белой, из которых наиболее изученным является белок-иммуномодулятор лектин ML-1, который повышает активность иммунной системы, при чем терапевтические эффекты проявляются в крайне малых дозах [3]. Избирательно взаимодействуя с иммунным клеткам (моноциты, лимфоциты), лектин стимулирует выделение клетками белков интерферона, интерлейкинов и фактора некроза опухоли. [4–6]. Кроме лектинов из экстрактов омелы белой выделены вискотоксины, их действие в больших дозах цитотоксично, что является предпосылкой к противораковой активности [1, 5].

Обнаруженные в омеле белой флавоноиды и фенолкарбоновые кислоты характеризуются антиоксидантной активностью, которым присуще структурное многообразие, высокая биологическая активность и низкая токсичность [6].

Одними из самых эффективных антиоксидантов являются: жирорастворимые полифенолы (токоферол и его производные, убихиноны, некоторые стероидные гормоны), фенольные соединения (флавоноиды, фенолокислоты). Данные вещества по своему химическому строению и механизму действия близки к наиболее активным антиокислителям синтетического происхождения: гидрохинон, агидол, нафтолы [6–9].

Особую роль в инициации перекисных процессов играют ионы металлов, при этом в ряду металлов с переменной валентностью, железо и медь чаще всего принимают участие в реакциях окисления-восстановления. Ионизированное железо является компонентом активных центров многих ферментативных систем, например, аконитазы, пролин-гидроксилазы или энзима антиоксидантной защиты – каталазы. Биологическая роль железа связана с его способностью акцептировать и отдавать электроны с высокой скоростью реакции, превращаясь, соответственно, в двухвалентную (Fe^{2+}) или трехвалентную (Fe^{3+}) формы [6, 11].

Флавоноиды, являясь вторичными метаболитами растений, выполняют многие жизненно важные биологические функции, предлагая ценную метаболическую и генетическую модель для

изучения транскрипционного контроля экспрессии генов. Биосинтез флавоноидов включает множество хорошо охарактеризованных ферментативных и регуляторных белков, которые контролируют биосинтез флавоноидов путем активации ранних стадий биосинтеза [12, 13].

ЦЕЛЬ. Изучение взаимосвязи активности митохондриальных ферментов и антиоксидантной активности вторичных метаболитов полифенольной природы листьев гемипаразита *Viscum album L.* (омела белая).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализируемые объекты

Объектом исследования явились листья омелы белой (*Viscum album L.*), произрастающей на яблоне домашней (*Malus domestica Borkh.*), собранные в окрестностях г. Ставрополя, Россия. Сырье собрано в зимний период (21.01.2022 г.). Выбор времени заготовки сырья основан на результатах предварительных исследований сравнительного анализа накопления активных компонентов в листьях омелы белой в зависимости от сезона заготовки сырья, в которых показано, что зимой отмечается максимальное содержание биологически активных соединений.

Определение суммарного содержания антиоксидантов

Суммарное содержание антиоксидантов определяли амперометрическим методом на жидкостном хроматографе Цвет Яуза 01-АА (НПО «Химавтоматика», Россия), используя градуировочный график зависимости выходного сигнала от концентрации кверцетина и галловой кислоты [14, 15].

Получение анализируемых извлечений: точную навеску высушенного воздушно-теневым методом и измельченного канцелярскими ножницами сырья (1 г) помещали в колбу вместимостью 100 мл, добавляли 30 мл спирта этилового соответствующей концентрации (50%, 70% и 90%) или воды очищенной, кипятили на водяной бане в течение 60 минут. Содержимое колбы фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Экстракцию указанным выше способом повторяли еще 2 раза, фильтр промывали соответствующим экстрагентом и доводили объем фильтрата до метки. В случае необходимости пробу разбавляли [14–17].

Суммарное содержание антиоксидантов (мг/г) определяли по формуле 1:

$$X = \frac{X_r \cdot V_n \cdot N}{m_n \cdot 1000}, \quad (1)$$

где: X_r – массовая концентрация антиоксидантов, найденная по градуировочному графику, мг/л; V_n – объем извлечения, мл; m_n – навеска сырья, г; N – кратность разбавления.

⁵ Турова А.Д. Лекарственные растения и их применение. – М.: Медицина, 2013. – 203 с.

Оценка антиоксидантной активности анализируемых извлечений на модели железо (II) – индуцированного перекисного окисления липидов

Антиокислительное действие изучаемых извлечений было изучено *in vitro* на модели Fe²⁺-индуцированного перекисного окисления липидов (ПОЛ). В качестве модельной среды ПОЛ выступали лецитиновые липосомы. Об интенсивности ПОЛ липосом свидетельствует изменение концентрации продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активных продуктов). Содержание липидных липосом в анализируемой среде составляло 40 мг/мл [18–20].

Антиоксидантную активность оценивали после предварительного упаривания извлечения на водяной бане и высушивания в сушильном шкафу при температуре не выше 60°C [18–22].

Реакцию Fe²⁺-индуцированного ПОЛ проводили на водяной бане при 37°C с непрерывным барботированием. Исследуемые высушенные извлечения предварительно растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) и добавляли к суспензии липосом и раствору двухвалентного железа. Инкубировали 15 мин. После добавляли 0,5 мл 20% раствора трихлоруксусной кислоты и центрифугировали при 3 тыс об/мин в течение 15 минут. Далее к надосадочной жидкости добавляли 1 мл 0,5% раствора тиобарбитуровой кислоты и нагревали на водяной бане 15 минут при 100°C. Содержание ТБК-активных продуктов измеряли на спектрофотометре СФ-102 («Аквилон», Россия) при 532 нм [23]. Процент торможения ПОЛ рассчитывали по отношению к контрольной пробе (растворитель) по формуле 2 [24]:

$$AOA = \frac{\Delta A_k - \Delta A_{оп}}{\Delta A_k} \cdot 100\%, \quad (2)$$

$$\Delta A_k = A_{к15} - A_k; \Delta A_{оп} = A_{оп15} - A_{оп}$$

где: AOA – антиоксидантная активность, %; A_к и A_{оп} – оптическая плотность до инкубации; A_{к15} и A_{оп15} – оптическая плотность после 15 мин инкубации.

Критериальным показателем, позволяющим судить об уровне антиоксидантной активности исследуемых извлечений, в данной работе выступал коэффициент полуингибиции (IC₅₀) ПОЛ, который рассчитывали методом регрессионного анализа [18–20].

Определение суммарного содержания фенольных соединений методом Фолина-Чокальтеу

В анализируемых растворах концентрацию фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту определяли по градуировочному графику, а

содержание в процентах (X) в пересчете на абсолютно сухое сырье рассчитывали по формуле 3:

$$X = \frac{C \cdot W_1 \cdot W_2 \cdot 100}{a \cdot V_a \cdot (100 - W)}, \quad (3)$$

где: C – концентрация фенольных соединений в исследуемом извлечении, найденная по градуировочному графику, г/100 мл; a – навеска сырья, г; V_a – объем аликвоты, мл; W₁, W₂ – объемы мерных колб, мл; W – потеря в массе при высушивании сырья, % [25–27].

Количественное определение флавоноидов проводили спектрофотометрическим методом на спектрофотометре СФ-102. При расчете содержания суммы флавоноидов использовали величину удельного показателя поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом, потому что извлечения из листьев *Viscum album* L. в присутствии 2% спиртового раствора алюминия (III) хлорида, имеют максимальное поглощение при длине волны 415±2 нм⁶.

Содержание суммы флавоноидов в процентах (X) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле 4:

$$X = \frac{A \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_{1см}^{1\%} \cdot a \cdot 2 \cdot (100 - W)}, \quad (4)$$

где: A – оптическая плотность исследуемого раствора; A_{1см}^{1%} – удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом при длине волны 415±2 нм, равный 248; a – навеска сырья, г; W – влажность сырья, % [35].

Подготовка растительного материала для определения активности митохондриальных ферментов

Активность митохондриальных ферментов оценивали в обогащённой митохондриями цитозольной фракции, для получения которой 1,0 г измельченного сырья (точная навеска) помещали в коническую колбу 50 мл и заливали 10 мл буферной системы (состав: 50 мМ/л HEPES + 2 мМ/л магния (II) хлорида + 40 мМ/л калия хлорида + 1 мМ/л ЭДТА + 0,1% бычий сывороточный альбумин + 1% поливинилпирролидона 40000 + 10% глицерина + 50 мкг/мл трипсина и гидроксид калия до pH 7,8). Полученную смесь выдерживали при температуре 37°C в течении 30 минут. Затем фильтровали через стеклянный фильтр и фильтрат центрифугировали при 1800 г 10 минут. Полученный супернатант отбирали в стерильные пробирки «Эппендорф» и наслаивали 10% раствор перколла и повторно центрифугировали при 18 000 г 10 минут. Вторичный супернатант удаляли для проведения анализа [28].

⁶ Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания. М.: МЗ РФ, 2018. – Т. 2, 4. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>

Оценка активности аконитазы

Активность аконитазы оценивали спектрофотометрическим методом с помощью спектрофотометра ПРОМЭКОЛАБ ПЭ-5300В (Shanghai Mapada Instruments Co., Ltd., Китай) в ходе сопряженной аконитазы – изоцитратдегидрогеназной реакции, путем детекции НАДФН при 340 нм. Ход анализа: к среде, содержащей изоцитратдегидрогеназу 0,03 Ед/л, НАДФ 0,32 мг/мл, 55 μ л фосфатно-солевого буфера и 50 μ л исследуемого биоматериала добавляли раствор цитрата натрия 0,1 мг/мл (10 μ л). Изменение оптической плотности полученных растворов регистрировали против смеси реагентов без исследуемого биоматериала в течении 2-х минут. Активность аконитазы рассчитывали по изменению оптической плотности, используя коэффициент экстинкции $0,0313\mu\text{M}^{-1}$. Активность фермента была выражена в ЕД/мг белка. Содержание белка в анализируемых пробах определяли по методу Бредфорда [29].

Оценка активности цитратсинтазы

Активность цитратсинтазы оценивали в среде, состоящей из раствора 5,5'-ди-тиобис-2-нитробензойной кислоты (реактив Элмана) 100 мм Трис-НСI буфер с рН от 7,8; ацетил-СоА 100 мм; 0,1% Тритон-х 100 μ л и 4 μ л исследуемого биоматериала. Реакцию начинали добавлением 100 μ л оксалоацетата. Через 3 минут оценивали изменение оптической плотности среды при 412 нм. Активность цитратсинтазы выражали также в ЕД/мг белка. Содержание белка в анализируемых пробах определяли по методу Бредфорда [30].

Оценка активности сукцинатдегидрогеназы

Активность сукцинатдегидрогеназы оценивали спектрофотометрически (спектрофотометр ПРОМЭКОЛАБ ПЭ-5300В) в реакции сукцинатзависимого окисления 2,6-дихлорфенолиндофенола при 600 нм. Во время анализа использовались стандартные наборы от Abscam.

Статистический анализ

Статистический анализ выполнен с применением программного пакета STATISTICA 6.0. Результаты выражались в виде $M \pm SEM$ (среднее значение \pm стандартная ошибка среднего значения). Дальнейший анализ выполнен методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с пост-процессингом Ньюмена-Кейлса в случае наличия распределения Гаусса и тестом Краскелла-Уоллиса при отсутствии распределения Гаусса. Нормальность распределения проверялась с помощью теста Шапиро-Уилка. Различия между исследуемыми группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Корреляционный анализ выполнен с использованием критерия Спирмена в интерпретации по шкале Чеддока.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценка суммарного количества антиоксидантов в анализируемых объектах

Суммарное содержание антиоксидантов в водно-спиртовых и водных извлечениях из листьев омелы белой выражали в эквиваленте кверцетина и галловой кислоты. Результаты представлены в таблице 1.

Применяя амперометрический метод установлено, что максимальное количество антиоксидантов в извлечениях из листьев омелы белой отмечено при использовании 50% этанола в качестве экстрагента, которое составило $0,503 \pm 0,007$ мг/г в пересчете на кверцетин и $0,322 \pm 0,006$ мг/г в пересчете на галловую кислоту.

Определение антиоксидантного действия на модели Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ

В анализируемую среду добавляли исследуемые извлечения из листьев омелы белой в виде водно-спиртовых и водных растворов в конечных концентрациях двукратных разведений: 200 мкг/мл – 12,5 мкг/мл.

Наибольшую антиоксидантную активность проявляет извлечение из листьев омелы белой, полученное экстракцией 50% этанолом.

Максимальное снижение ПОЛ наблюдается в извлечениях из листьев омелы белой (экстрагент – спирт этиловый 50%), собранных зимой при концентрации 200 мкг/мл и составляет $73,64 \pm 1,43\%$. Более близкий результат у кверцетина наблюдался при концентрации 25 мкг/мл.

Рассчитанные показатели IC_{50} , численно равные концентрации веществ в анализируемой среде, вызывающей 50% снижение интенсивности ПОЛ, составили: для кверцетина $19,27 \pm 0,97$ мкг/мл и $106,3 \pm 1,09$ мкг/мл для исследуемого 50% спиртового извлечения из листьев омелы белой.

Полученные данные при определении суммарного содержания антиоксидантов на жидкостном хроматографе Цвет Яуза 01-АА амперометрическим методом согласуются с данными, полученными при определении антиоксидантного действия извлечений из листьев омелы белой на Fe^{2+} -индуцированном ПОЛ в липосомальной системе.

Определение суммы фенольных соединений с использованием реактива Фолина-Чокальтеу

Для количественного определения фенольных соединений использовали уравнение градуировочного графика: $y = 1746x + 0,002$. Результаты определения общего содержания фенольных соединений представлены на рисунке 1 и в таблице 3.

Таблица 1 – Суммарное количество антиоксидантов в извлечениях из листьев *Viscum album L.*

Используемое сырье	Экстрагенты	Кратность разбавления	Содержание антиоксидантов, мг/г в пересчете на:	
			Кверцетин (n=6)	Галловую кислоту (n=6)
Листья омелы белой (<i>Viscum album L.</i>), собранные зимой	этанол 90%	–	0,127±0,002	0,078±0,001
	этанол 70%	–	0,374±0,003	0,244±0,003
	этанол 50%	2	0,503±0,007	0,322±0,006
	вода очищенная	–	0,261±0,003	0,167±0,002

Таблица 2 – Влияние извлечений из листьев *Viscum album L.* на Fe²⁺-индуцированного ПОЛ в системе липосом

Конечная концентрация, мкг/мл	% снижения ПОЛ, n=3			
	Экстрагенты			
	Этанол 90%	Этанол 70%	Этанол 50%	Вода очищенная
12,5	8,22±1,28	9,05±1,05	12,08±1,36	11,28±1,27
25	10,16±1,89	17,45±1,24	22,48±1,23	22,17±2,89
50	29,75±1,76	39,53±1,49	41,77±2,19	37,04±1,54
100	41,17±2,35	51,61±2,32	55,71±2,04	44,71±2,77
200	56,01±1,63	68,71±1,77	73,64±1,43	62,26±2,69
IC ₅₀	160,52±2,26	120,07±1,94	106,30±1,09	137,02±2,16

Примечание: в качестве референта использовали 95% спиртовой раствор кверцетина, который добавляли в конечных концентрациях двукратных разведений: 3,125 мкг/мл, 6,25 мкг/мл, 12,5 мкг/мл, 25 мкг/мл, 50 мкг/мл. Снижение накопления продуктов ПОЛ составило 13,89±1,56%, 31,04±2,41%, 47,04±2,21%, 69,91±2,07%, 88,97±1,37%.

Таблица 3 – Сумма фенольных соединений из листьев *Viscum album L.*

Используемые экстрагенты	Листья омелы белой (<i>Viscum album L.</i>)	
	Соотношение пробы извлечения и реактива Фолина-Чокальтеу	Содержание фенольных соединений, % (n=6)
Этанол 90%	1:1	1,74±0,03
Этанол 70%	1:2	2,02±0,05
Этанол 50%	1:1	2,39±0,05
Вода очищенная	1:1	1,75±0,04

Примечание: при определении общего содержания фенольных соединений использовали V_а=0,5 мл для извлечений из омелы белой.

Таблица 4 – Стабильность комплексов 50% этанольного извлечения с реактивом Фолина-Чокальтеу в динамике

Сырье	Время экспозиции, мин											
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Оптическая плотность	0,613	0,664	0,686	0,704	0,710	0,713	0,716	0,720	0,733	0,762	0,767	0,770
Содержание фенолов	1,902	2,061	2,129	2,185	2,204	2,219	2,223	2,235	2,275	2,366	2,381	2,391

Таблица 5 – Суммарное содержание фенольных соединений из листьев омелы белой

Экстрагенты	Листья омелы белой (<i>Viscum album L.</i>)	
	Время (мин) стабилизации оптической плотности,	Содержание флавоноидов, % (n=6)
Этанол 90%	30	0,327±0,004
Этанол 70%	35	1,46±0,03
Этанол 50%	30	1,83±0,05
Вода очищенная	35	0,282±0,003

Примечание: при определении общего содержания фенольных соединений использовали V_а=5,0 мл для извлечений из омелы белой, произрастающей на яблоне домашней.

Таблица 6 – Изучение стабильности окраски комплексов 50% этанольного извлечения с 2% спиртовым раствором алюминия (III) хлорида в динамике

Сырье	Время экспозиции, мин								
	5	10	15	20	25	30	35	40	45
Оптическая плотность	0,796	0,811	0,820	0,823	0,832	0,833	0,832	0,818	0,816
Содержание фенолов	1,744	1,777	1,80	1,804	1,823	1,825	1,823	1,793	1,788

Таблица 7 – Изменение активности митохондриальных ферментов в листьях *Viscum album* L.

Показатель	Листья омелы белой, собранные зимой
Аконитаза, ЕД/г белка	3,36±0,14
Цитратсинтаза, ЕД/г белка	0,54±0,07*
Сукцинатдегидрогеназа, ЕД/г белка	1,12±0,06*

Примечание: * – статистически достоверно относительно активности аконитазы (тест Краскелла-Уоллиса, $p < 0,05$).

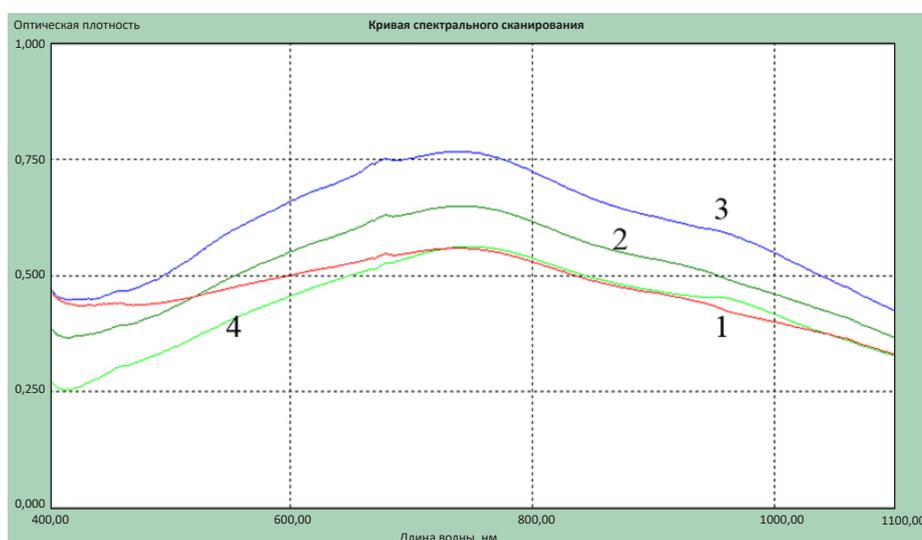


Рисунок 1 – УФ-спектры поглощения комплексов извлечений из листьев *Viscum album* L. с реактивом Фолина-Чокальтеу

Примечание: 1 – извлечение, полученное экстракцией 90% этанолом; 2 – извлечение, полученное экстракцией 70% этанолом; 3 – извлечение, полученное экстракцией 50% этанолом; 4 – извлечение, полученное экстракцией водой очищенной.

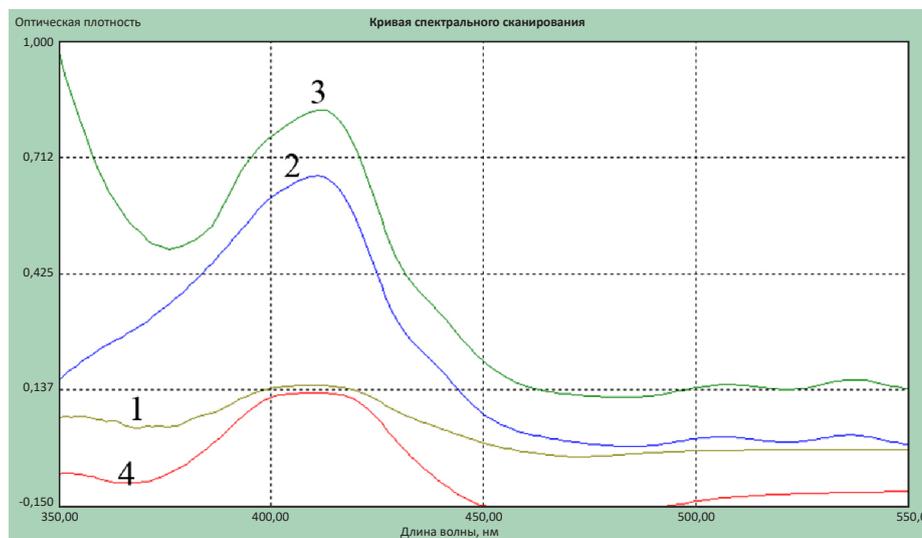


Рисунок 2 – УФ-спектры поглощения комплексов извлечений из листьев *Viscum album* L. с 2% спиртовым раствором алюминия (III) хлорида

Примечание: 1 – извлечение, полученное экстракцией 90% этанолом; 2 – извлечение, полученное экстракцией 70% этанолом; 3 – извлечение, полученное экстракцией 50% этанолом; 4 – извлечение, полученное экстракцией водой очищенной.

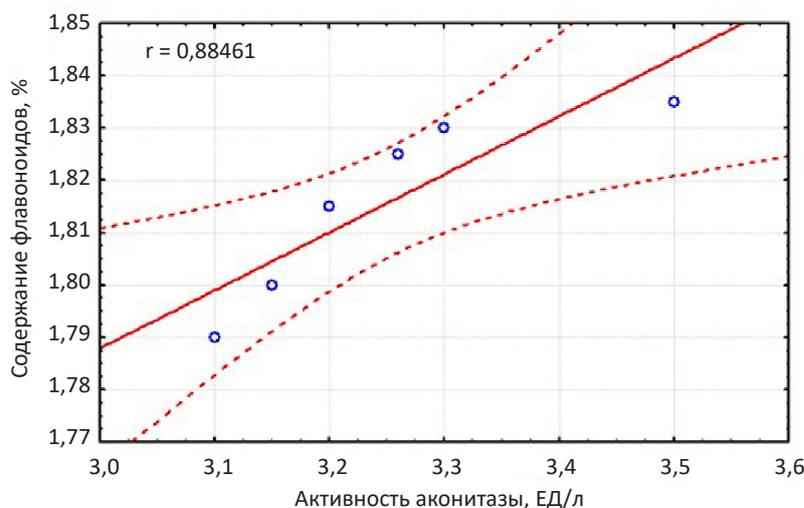


Рисунок 3 – Зависимость изменения концентрации флавоноидов от активности аконитазы в листьях *Viscum album L.*

Примечание: на рисунке показаны определяемые показатели (выделены синим); линия тренда корреляционной зависимости (сплошная линия); границы разброса данных (пунктирная линия).

Максимальное количество суммы фенолов отмечено в извлечении из листьев омелы белой, полученном экстракцией 50% спиртом этиловым и составляет $2,39 \pm 0,05\%$. Время стабилизации оптической плотности 60 мин.

В связи с тем, что реакция развивается в динамике, нами установлено, что величина оптической плотности стабилизируется в течение 60 мин, что является оптимальной для проведения анализа.

Качественный и количественный анализ флавоноидов

Количественное определение флавоноидов проводили в пересчете на рутин в 6 повторностях. Результаты определения общего содержания флавоноидов приведены на рисунке 2 и в таблице 5.

Из данных таблицы 5 следует, что максимальное содержание суммы флавоноидов в извлечениях из листьев омелы белой, наблюдается при экстракции сырья 50% спиртом этиловым и составляет $1,83 \pm 0,04\%$. Время стабилизации оптической плотности анализируемых растворов от 30 до 35 мин.

В связи с тем, что реакция развивается во времени, то нами установлено, что величина оптической плотности стабилизируется в течение 30 мин, что является оптимальной для проведения анализа [26].

Оценка изменения активности митохондриальных ферментов в листьях омелы белой

Изучение изменения активности ферментов митохондриального происхождения в листьях омелы белой показала, что активность аконитазы

была выше, чем активность цитратсинтазы и сукцинатдегидрогеназы в 6,2 раза ($p < 0,05$) и 3,0 раза ($p < 0,05$) соответственно.

В результате корреляционного анализа было установлено, что содержание флавоноидов, как основных полифенольных антиоксидантов, в листьях омелы белой сильно коррелирует с изменением активности аконитазы с коэффициентом корреляции $r = 0,88416$ (рис. 2). В случае оценки зависимости изменения концентрации флавоноидов от активности цитратсинтазы и сукцинатдегидрогеназы отмечена слабая корреляционная зависимость ($r = 0,23681$ и $r = 0,33984$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Флавоноиды представляют собой класс структурно разнообразных вторичных метаболитов, которые выполняют в растениях множество функций. Например, установлена ведущая роль флавоноидов в регуляции роста, биосинтезе пигментов, передаче внутриклеточных сигналов, защите растения от ультрафиолетового излучения и действия активных форм кислорода. На сегодняшний день флавоноиды являются одной из самых изучаемых групп соединений природного происхождения, при этом большинство проводимых исследований направлены на оценку их фармакологической активности. В тоже время особенности биосинтеза и накопления флавоноидов также представляют определенный научный интерес [31].

Биосинтез всех вторичных метаболитов в растениях представляет собой контролируемый и детерминированный процесс, основу которого составляет строго определенная последовательность ферментативных реакций. В то время, как пути

синтеза углеводов, жиров, белков и нуклеиновых кислот или просто первичных метаболитов, по существу, одинаковы, во всех живых организмах для вторичных метаболитов существует большое разнообразие механизмов синтеза. Понимание этих метаболических процессов имеет решающее значение для регулирования биосинтеза искомым фитохимических соединений и их потенциального использования в пищевой или медицинской промышленности. Ферментативный контроль реакций биосинтеза флавоноидов подразумевает интенсификацию синтеза в определенных условиях, которые применительно к растению зависят от условий произрастания и времени года [32].

Поскольку большинство вторичных метаболитов, включая флавоноиды, прежде всего, выполняют в растениях защитную функцию и их синтез активируется при действии неблагоприятных внешних факторов в связи с этим в данном исследовании было оценено содержание вторичных метаболитов полифенольной структуры в листьях омелы белой, собранных зимой, т.е. в условиях максимально предрасполагающих к их синтезу в больших количествах. В итоге было показано, что максимальная экстракция флавоноидов отмечена при использовании спирта этилового 50%, при этом содержание искомым веществ составило $1,83 \pm 0,05\%$. Высокое содержание данных веществ в листьях омелы белой, собранных зимой, может объясняться тем фактом, что низкие температуры стимулируют экспрессию генов ферментов, ответственных за синтез флавоноидов: FAL (ФАЛ, фенилаланин-аммиак лиазы), халконсинтазы, флаванон-3-гидроксилазы, дигидрофлавонол-4-редуктазы, антоцианидинсинтазы, флавоноид-3-О-глюкозилтрансферазы, лейкоантоцианидинредуктазы [12, 13], что приводит к повышению синтеза и накопления флавоноидов и других полифенолов. Также отмечена сильная корреляция между изменением содержания флавоноидов и активностью аконитазы ($r=0,88416$) в листьях омелы белой, тогда как зависимость по отношению к цитратсинтазе ($r=0,23681$) и сукцинатдегидрогеназе ($r=0,33984$) носила слабый характер.

Аконитаза, также известная как аконитатгидратаза представляет собой фермент, железосерный кластерный белок, который катализирует обратимую изомеризацию цитрата в изоцитрат через цис-аконитат в цикле трикарбоновых кислот. У млекопитающих фермент находится в двухклеточных компартментах – митохондри и цитоплазма. В цикле Кребса непосредственно участвует митохондриальная изоформа, тогда как роль цитоплазматического изофермента сводится к регуляции стабильности определенных транскриптов при отщеплении железосерного кластера (в данном случае аконитаза выступает в роли РНК-связывающего белка) [33].

У растений цитоплазматический и митохондриальный фермент имеют сходные характеристики и не могут быть дифференцированы с высокой степенью селективности. Аконитаза растений участвует в реакциях глиоксилатного цикла и метаболизма сахарозы, а также в нескольких важных физиологических процессах, включая инактивацию пероксидов и нитроксилов. Недавние исследования показали важную роль аконитазы в биосинтезе вторичных метаболитов, в том числе флавоноидов. Так некоторые гибриды, демонстрирующие пониженную концентрацию флавоноидов по сравнению с материнской линией, имеют дефицитный фенотип аконитазы [34].

Цитратсинтаза также играет значимую роль в синтезе вторичных метаболитов растений. Zhao H. и соавт., в своем исследовании показали, что митохондриальная цитратсинтаза является ключевым регулятором синтеза антоцианов *Petunia hybrida hort. ex E. Vilm* [35]. В свою очередь сукцинатдегидрогеназа отвечает за синтез органических кислот в клетках растений [36]. По всей видимости различная роль митохондриальных ферментов в биосинтезе вторичных метаболитов растений может объяснить установленные в данном исследовании корреляционные взаимосвязи.

Таким образом, можно предположить, что в условиях температурного стресса в листьях омелы белой происходит активация защитных ферментативных и неферментативных механизмов (аконитаза и повышенный синтез флавоноидов соответственно), действие которых направлено на поддержание жизнеспособности клетки. Установлено, что воздействие низких температур, как сильного стрессора, на растительную клетку приводит к накоплению активных формы кислорода (АФК): гидроксильные радикалы, супероксид-анион, синглетный кислород и перекись водорода. Высокие уровни АФК оказывают пагубное влияние на структуры клетки, приводя к повреждению ДНК, перекисному окислению липидов, денатурации белков, снижению фотосинтеза, нарушению активности ферментов и гибели клеток. Следовательно, поддержание умеренного уровня АФК необходимо для защиты от разнообразных абиотических и биотических стрессов, и именно с активацией окислительного стресса может быть связана повышенная экспрессия аконитазы листьев омелы белой и интенсификация синтеза вторичных метаболитов [37].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено содержание антиоксидантов, фенолов, флавоноидов в листьях омелы белой (*Viscum album L.*), произрастающей на яблоне домашней (*Malus domestica Borkh.*). Оптимальным экстрагентом является спирт этиловый 50%. Анализ активности митохондриальных ферментов показал, что в листьях омелы, собранных зимой,

отмечена высокая активность аконитазы, сильно коррелировавшая с изменением концентрации флавоноидов ($r=0,88416$), тогда как зависимостей

между активностью сукцинатдегидрогеназы, цитратсинтазы и содержанием флавоноидов в листьях омелы белой не установлено.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

С.Л. Аджиахметова – разработка концепции исследования, получение анализируемых извлечений, проведение *in vitro* исследования, подготовка окончательного варианта рукописи; Д.И. Поздняков – разработка концепции исследования, оценка активности митохондриальных ферментов, статистическая обработка результатов исследования, подготовка окончательного варианта рукописи; Н.М. Червонная – разработка концепции исследования, получение анализируемых извлечений, проведение *in vitro* исследования, подготовка окончательного варианта рукописи; Е.О. Куличенко – определение антиоксидантного действия, анализ литературы; Э.Т. Оганесян – разработка концепции исследования, анализ литературы, подготовка окончательного варианта рукописи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Корман Д.Б. Противоопухолевые свойства лектинов омелы белой // Вопросы онкологии. – 2011. – Т. 57, № 6. – С. 689–698.
2. Саякова Г.М., Хамитова А.Е., Олатаева З.Н. Создание новых лекарственных форм из отечественного растительного сырья софоры толстоплодной (*Sophora pachycarpa*) и омелы белой (*Viscum album*), как перспективных источников БАВ // Вестник Казахского национального медицинского университета. – 2018. – № 4. – С. 217–220.
3. Franz H. Mistletoe lectins and their A and B chains // Oncology. – 1986. – Vol. 43 (Suppl 1). – P. 23–34. DOI: 10.1159/000226417
4. Stener-Vogt M.K., Bonkowsky V., Ambrosch P., Scholz M., Neiss A., Strutz J., Hennig M., Lenarz T., Arnold W. The effect of an adjuvant mistletoe treatment programme in resected head and neck cancer patients: a randomized controlled clinical trial // Eur. J. Cancer. – 2001. – Vol. 37, No. 1. – P. 23–31. DOI: 10.1016/s0959-8049(00)00360-9
5. Hajtő T., Fodor K., Perjési P., Németh P. Difficulties and perspectives of immunomodulatory therapy with mistletoe lectins and standardized mistletoe extracts in evidence-based medicine // Evid. Based Complement Alternat. Med. – 2011. – Vol. 2011. – Art. ID: 298972. DOI: 10.1093/ecam/nep191
6. Jäger S., Beffert M., Hoppe K., Nadberezný D., Frank B., Scheffler A. Preparation of herbal tea as infusion or by maceration at room temperature using mistletoe tea as an example // Sci. Pharm. – 2011. – Vol. 79, No. 1. – P. 145–155. DOI: 10.3797/scipharm.1006-06
7. Узбеков М.Г. Перекисное окисление липидов и антиоксидантные системы при психических заболеваниях. Сообщение I // Социальная и клиническая психиатрия. – 2014. – Т. 24, № 4. – С. 97–103.
8. Узбеков М.Г. Перекисное окисление липидов и антиоксидантные системы при психических заболеваниях. Сообщение II // Социальная и клиническая психиатрия. – 2015. – Т. 25, № 4. – С. 92–101.
9. Jomova K., Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human diseases // Toxicology. – 2011. – Vol. 283, No. 2–3. – P. 65–87. DOI: 10.1016/j.tox.2011.03.001
10. Minotti G., Aust S.D. The requirement for iron (III) in the initiation of lipid peroxidation by iron (II) and hydrogen peroxide // J. Biol. Chem. – 1987. – Vol. 262, No. 3. – P. 1098–1104.
11. Vashchenko G., MacGillivray T.A. Multi-copper oxidases and human iron metabolism // Nutrients. – 2013. – Vol. 5, No. 7. – P. 2289–2313. DOI: 10.3390/nu5072289
12. Li S. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis: fine-tuning of the MYB-bHLH-WD40 (MBW) complex // Plant Signal Behav. – 2014. – Vol. 9, No. 1. – Art ID: e27522. DOI: 10.4161/psb.27522
13. Catala R., Ouyang J., Abreu I.A., Hu Y., Seo H., Zhang X., Chua N.H. The Arabidopsis E3 SUMO ligase SIZ1 regulates plant growth and drought responses // Plant Cell. – 2007. – Vol. 19, No. 9. – P. 2952–2966. DOI: 10.1105/tpc.106.049981
14. Пат. 2238554 Российская Федерация, МКИ G01 N33/15 N27/26. Способ определения суммарной антиоксидантной активности биологически активных веществ / В.П. Пахомов [и др.] (РФ). – № 2003123072/15; заявл. 25.07.03; опубл. 20.10.04, Бюл. – № 15. – 3 с.
15. Яшин А.Я., Яшин Я.И. Прибор для определения антиоксидантной активности растительных лекарственных экстрактов и напитков // Журн. междунар. информационная система по резонансным технологиям. – 2004. – № 34. – С.10–14.
16. Яшин А.Я. Инжекционно-проточная система с амперометрическим детектором для селективного определения антиоксидантов в пищевых продуктах и напитках // Рос. хим. журн. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева. – 2008. – № 2. – С.130–135.
17. Аджиахметова С.Л. Антиоксидантная активность экстрактов из листьев, плодов и стеблей крыжовника отклоненного (*Grossularia reclinata* (L.) Mill.) // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10(6). – С. 1297–1301. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.rae.ru/fs/pdf/2013/10-6/32535>.
18. Мельянцова Л.П., Крейнес В.М., Мельникова В.М., Гладштейн А.И. Влияние фосфатидилхолин холестериновых липосом на рост некоторых бактериальных культур // Журн. микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии. – 1994. – № 2. – С. 14–17.
19. Куличенко Е.О., Андреева О.А., Сергеева Е.О., Сигарева С.С., Терехов А.Ю., Оганесян Э.Т., Сидорская С.Ю. Фармакологическая активность извлечений растений вида *Cosmos bipinnatus* Cav. // Фармация

- и фармакология. – 2022. – Т. 10, № 1. – С. 82–92. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-1-82-92
20. Бжихатлова М.А., Андреева О.А., Оганесян Э.Т., Воронков А.В., Герашенко А.Д. Фенольные соединения листьев кампсиса укореняющегося // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – 2 (Часть 2). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22562>
 21. Кодониди И.П., Сочнев В.С., Терехов А.Ю., Сергеева Е.О., Рябухин И.Ю. Синтези и изучение противовоспалительной активности 2-винилпропановых 4-(2,6-диметил-4-оксо-5-фенил-4Н-пиримидин-1-ил)-бензсульфамида // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – № 4. – С. 101. DOI: 10.17513/spno.31053. 21
 22. Кобин А.А., Доркина Е.Г. Определение антиоксидантной активности сухого экстракта форзиции поникшей на модели Fe²⁺ аскорбатиндуцированного перекисного окисления липидов // Современная наука и инновации. – 2015. – Вып. 1. – С. 124–126.
 23. Aguilar Diaz De Leon J., Borges C.R. Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay // J. Vis. Exp. – 2020. – No. 159. DOI: 10.3791/61122
 24. Потапова А.А., Доркина Е.Г., Сергеева Е.О., Кобин А.А., Саджая Л.А. Изучение мембраностабилизирующего и антиоксидантного действия байкалина // Современная наука и инновации. 2016. – Вып. 1. – С. 148–152.
 25. Денисенко Т.А., Вишник А.Б., Цыганок Л.П. Спектрофотометрическое определение суммы фенольных соединений в растительных объектах с использованием хлорида алюминия, 18-молибдодифосфата и реактива Фолина-Чокальтеу // Аналитика и контроль. – 2015. – Т. 19, № 4. – С. 373–380. DOI: 10.15826/analitika.2015.19.4.012
 26. Аджиахметова С.Л., Червонная Н.М., Поздняков Д.И., Оганесян Э.Т. Содержание фенолов (в том числе флавоноидов) и антиоксидантов в листьях *Viscum album* L. и *Pyrus communis* L. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т. 24, № 2. – С. 15–22. DOI: 10.29296/25877313-2021-02-03
 27. Макарова Н.В., Валиулина Д.Ф., Азаров О.И., Кузнецов А.А. Сравнительное исследование содержания фенольных соединений, флавоноидов и антиоксидантной активности яблок разных сортов Химия растительного сырья. – 2018. – № 2. – С. 115–122. DOI: 10.14258/jcprm.2018022205
 28. Pascual J., Rahikainen M., Angeleri M., Alegre S., Gossens R., Shapiguzov A., Heinonen A., Trotta A., Durian G., Winter Z., Sinkkonen J., Kangasjärvi J., Whelan J., Kangasjärvi S. ACONITASE 3 is part of the ANAC017 transcription factor-dependent mitochondrial dysfunction response // Plant Physiol. – 2021. – Vol. 186, No. 4. – P. 1859–1877. DOI: 10.1093/plphys/kiab225
 29. Ternette N., Yang M., Laroyia M., Kitagawa M., O'Flaherty L., Wolhuter K., Igarashi K., Saito K., Kato K., Fischer R., Berquand A., Kessler B.M., Lappin T., Frizzell N., Soga T., Adam J., Pollard P.J. Inhibition of mitochondrial aconitase by succination in fumarate hydratase deficiency // Cell Rep. – 2013. – Vol. 3, No. 3. – P. 689–700. DOI: 10.1016/j.celrep.
 30. Shepherd D., Garland P.B. The kinetic properties of citrate synthase from rat liver mitochondria // Biochem J. – 1969. – Vol. 114, No. 3. – P. 597–610. DOI: 10.1042/bj1140597
 31. Agati G., Brunetti C., Fini A., Gori A., Guidi L., Landi M., Sebastiani F., Tattini M. Are Flavonoids Effective Antioxidants in Plants? Twenty Years of Our Investigation // Antioxidants. – 2020. – Vol. 9, No. 11. – Art. ID: 1098. DOI: 10.3390/antiox9111098
 32. Nabavi S.M., Šamec D., Tomczyk M., Milella L., Russo D., Habtemariam S., Sutar I., Rastrelli L., Daglia M., Xiao J., Giampieri F., Battino M., Sobarzo-Sanchez E., Nabavi S.F., Yousefi B., Jeandet P., Xu S., Shirooie S. Flavonoid biosynthetic pathways in plants: Versatile targets for metabolic engineering // Biotechnol Adv. – 2020. – Vol. 38. – Art. ID: 107316. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2018.11.005
 33. De Bellis L., Luvisi A., Alpi A. Aconitase: To Be or not to Be Inside Plant Glyoxysomes, That Is the Question // Biology (Basel). – 2020. – Vol. 9, No. 7. – Art. ID: 162. DOI: 10.3390/biology9070162.
 34. Kumari A., Pathak P.K., Bulle M., Igamberdiev A.U., Gupta K.J. Alternative oxidase is an important player in the regulation of nitric oxide levels under normoxic and hypoxic conditions in plants // J. Exp. Bot. – 2019. – Vol. 70, No. 17. – P. 4345–4354. DOI: 10.1093/jxb/erz160
 35. Zhao H., Chen G., Sang L., Deng Y., Gao L., Yu Y., Liu J. Mitochondrial citrate synthase plays important roles in anthocyanin synthesis in petunia // Plant Sci. – 2021. – Vol. 305. – Art. ID: 110835. DOI: 10.1016/j.plantsci.2021.110835
 36. Jardim-Messeder D., Caverzan A., Rauber R., de Souza Ferreira E., Margis-Pinheiro M., Galina A. Succinate dehydrogenase (mitochondrial complex II) is a source of reactive oxygen species in plants and regulates development and stress responses // New Phytol. – 2015. – Vol. 208, No. 3. – P. 776–789. DOI: 10.1111/nph.13515
 37. Liu T., Hu X., Zhang J., Zhang J., Du Q., Li J. H₂O₂ mediates ALA-induced glutathione and ascorbate accumulation in the perception and resistance to oxidative stress in *Solanum lycopersicum* at low temperatures // BMC Plant Biol. – 2018. – Vol. 18, No. 1. – Art. ID: 34. DOI: 10.1186/s12870-018-1254-0

АВТОРЫ

Аджиахметова Симилла Леонтьевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры органической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-6924-8563. E-mail: similla503@mail.ru

Поздняков Дмитрий Игоревич – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5595-8182. E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Червонная Надежда Михайловна – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры органической химии ПМФИ – филиала

ВолГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-6924-8563. E-mail: nadezhda.chervonnaya@yandex.ru

Куличенко Евгения Олеговна – аспирант кафедры органической химии, старший преподаватель кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-0727-6689. E-mail: evgenia.kuli4encko@yandex.ru

Оганесян Эдуард Тоникович – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой органической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-2756-9382. E-mail: edwardov@mail.ru