

УДК 615.1:674.031.33:616-092.4
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-3-60-68>

Антиоксидантная, гепатопротекторная и противовоспалительная активность комплекса фенолгликозидов коры осины *in vitro*

Перина Е.А.¹, Буйко Е.Е.¹, Диксас Е.Б.¹, Кайдаш О.А.¹, Кривошеков С.В.¹, Сергун В.П.^{2,3},
Буркова В.Н.², Иванов В.В.¹, Удут Е.В.¹

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

² Общество с ограниченной ответственностью «Биолит» (ООО «Биолит»)
Россия, 634055, г. Томск, пр. Академический, 4/3

³ Кемеровский государственный университет (КемГУ)
Россия, 650000, г. Кемерово, ул. Красная, 6

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучение антиоксидантных, гепатопротекторных и противовоспалительных свойств комплекса фенолгликозидов коры осины (англ. aspen bark phenol glycoside complex, ABPG) в моделях *in vitro*.

Материалы и методы. Комплекс ABPG выделяли экстракционным методом, компонентный состав определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Антирадикальную активность оценивали в тесте с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ), железосвязывающую способность – колориметрическим методом с феррозином. Клеточные эффекты изучали на культуре клеток линии HepG2 в моделях липотоксичности (олеиновая и пальмитиновая кислоты), парацетамол-индуцированного повреждения и воспалительной стимуляции липополисахаридом (LPS) и (или) интерфероном (IFN) γ . Конечными точками служили уровень внутриклеточных активных форм кислорода (АФК), содержание восстановленного глутатиона (GSH) и нейтральных липидов или жизнеспособность клеток.

Результаты. ABPG содержит более 70 индивидуальных соединений; доминирующими компонентами (по доле площади пиков) являются дигидроксibenзойная кислота (11,5%), метоксibenзойная кислота (8,5%), лютеолин (7,7%), салицин (5,4%) и гидроксibenзойная кислота (1,88%). Комплекс проявлял выраженную антирадикальную активность ($IC_{50} = 87,6$ мкг/мл в тесте с ДФПГ) и связывал ионы Fe^{2+} в количестве, эквивалентном 14,07 мг этилендиаминтетрауксусной кислоты на 1 г образца. В клетках HepG2 ABPG снижал уровень АФК в условиях липотоксичности на 47,6% и препятствовал накоплению внутриклеточных липидов на 40,4%; при парацетамол-индуцированном повреждении повышал жизнеспособность клеток до 77,9%; в условиях стимуляции LPS/IFN- γ снижал продукцию АФК на 19,2%, одновременно повышая уровень GSH на 42,9%.

Заключение. Комплекс фенолгликозидов коры осины модулирует редокс-состояние и стресс-ответы гепатоцитов, обеспечивая цитопротекцию через редокс-зависимые механизмы. Эти эффекты лежат в основе его антиоксидантного, гепатопротекторного и противовоспалительного действия *in vitro*.

Ключевые слова: экстракт коры осины, гепатопротекторная активность, противовоспалительная активность, фенолгликозиды, антиоксиданты

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках выполнения государственного задания на проведение научного исследования «Разработка нового лекарственного средства на основе природного комплекса фенолгликозидов и арабиногалактанов для терапии трематодозов» (соглашение о предоставлении субсидии от 23.01.2026 № 056-03-2026-098).

Для цитирования: Пери́на Е.А., Буйко Е.Е., Диксас Е.Б., Кайдаш О.А., Кривоше́ков С.В., Сергу́н В.П., Буркова В.Н., Иванов В.В., Удут Е.В. Антиоксидантная, гепатопротекторная и противовоспалительная активность комплекса фенолгликозидов коры осины *in vitro*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2026;25(3):60–68. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-3-60-68>.

Antioxidant, Hepatoprotective, and Anti-inflammatory Activity of an Aspen Bark Phenol Glycoside Complex *in vitro*

Perina E.A.¹, Buyko E.E.¹, Diksas E.B.¹, Kaidash O.A.¹, Krivoshchekov S.V.¹, Sergun V.P.^{2,3}, Burkova V.N.², Ivanov V.V.¹, Udut E.V.¹

¹ Siberian State Medical University

2 Moskovsky trakt, 634050 Tomsk, Russian Federation

² Biolit LLC

4/3 Akademicheskoy Ave., 634055 Tomsk, Russian Federation

³ Kemerovo State University (KemSU)

6 Krasnaya St., 650000 Kemerovo, Russian Federation

ABSTRACT

The aim. To study the antioxidant, hepatoprotective, and anti-inflammatory properties of an aspen bark (*Populus tremula* L.) phenol glycoside complex (ABPG) *in vitro*.

Materials and methods. ABPG was obtained by solvent extraction and characterized by high-performance liquid chromatography (HPLC). Radical scavenging activity was assessed by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay, and iron chelating capacity was evaluated by the colorimetric ferrozine-based assay. Cellular effects were studied in HepG2 cells in models of lipotoxicity (oleic and palmitic acids), paracetamol-induced injury, and inflammatory stimulation with lipopolysaccharide (LPS) and interferon γ (IFN γ). Intracellular reactive oxygen species (ROS), reduced glutathione (GSH), neutral lipid content, or cell viability served as endpoints.

Results. ABPG comprised more than 70 individual constituents; its dominant components (as a share of the total HPLC peak area) were dihydroxybenzoic acid (11.5%), methoxybenzoic acid (8.5%), luteolin (7.7%), salicin (5.4%), and hydroxybenzoic acid (1.88%). The complex showed pronounced radical scavenging activity ($IC_{50} = 87.6 \mu\text{g/ml}$ in the DPPH assay) and chelated Fe^{2+} ions in the amount equivalent to 14.07 mg ethylenediaminetetraacetic acid per gram of the sample. In HepG2 cells, ABPG lowered ROS levels under lipotoxic conditions by 47.6% and prevented intracellular lipid accumulation by 40.4%. In paracetamol-induced injury, it restored cell viability to 77.9%; and under LPS/IFN γ stimulation, it decreased ROS production by 19.2% while raising GSH levels by 42.9%.

Conclusion. The aspen bark phenol glycoside complex modulates the redox state and stress responses of hepatocytes, conferring cytoprotection through redox-dependent mechanisms. These effects underlie its antioxidant, hepatoprotective, and anti-inflammatory effects *in vitro*.

Keywords: aspen bark extract, hepatoprotective activity, anti-inflammatory activity, phenol glycosides, antioxidants

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. This study was conducted within the state-commissioned research project “Development of a novel drug based on a natural complex of phenol glycosides and arabinogalactans for the treatment of trematode infections” (subsidy agreement No. 056-03-2026-098 dated January 23, 2026).

For citation: Perina E.A., Buyko E.E., Diksas E.B., Kaidash O.A., Krivoshchekov S.V., Sergun V.P., Burkova V.N., Ivanov V.V., Udut E.V. Antioxidant, Hepatoprotective, and Anti-inflammatory Activity of an Aspen Bark Phenol Glycoside Complex *in vitro*. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2026;25(3):60–68. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-3-60-68>.

ВВЕДЕНИЕ

Хронические заболевания печени остаются одной из ведущих причин смертности, причем ключевую роль в их патогенезе независимо от этиологии играют два взаимосвязанных процесса: воспаление и окислительный стресс [1, 2]. Наиболее детально эта связь изучена при метаболически ассоциированной неалкогольной жировой болезни печени, которой страдает около 25–30% взрослого населения [1]. Накопление свободных жирных кислот (СЖК) в гепатоцитах является триггером митохондриальной дисфункции, гиперпродукции активных форм кислорода (АФК) и эндоплазматического стресса. Дисбаланс между образованием АФК и снижением уровня эндогенных антиоксидантов, в частности глутатиона, ведет к развитию липотоксичности, активации ядерного фактора κB (NF- κB) и гиперпродукции провоспалительных цитокинов, что обуславливает переход заболевания в неалкогольный стеатогепатит, фиброз и цирроз [3]. Также окислительный стресс выступает драйвером гепатоцеллюлярного повреждения при вирусных гепатитах, что делает модуляцию редокс-баланса перспективной стратегией фармакологической коррекции [4].

В комплексной терапии заболеваний печени широко применяют гепатопротекторные соединения растительного происхождения и их комбинации. Большинство таких фармакологически активных веществ относятся к классу фенольных соединений [5]. Они эффективно ингибируют свободнорадикальное окисление и подавляют синтез ключевых воспалительных медиаторов, что позволяет рассматривать их как относительно безопасную альтернативу классическим противовоспалительным препаратам [6]. Кора осины обыкновенной (*Populus tremula* L.) характеризуется высоким содержанием фенолгликозидов, основным представителем которых является салицин, обладающий выраженной антиоксидантной и противовоспалительной активностью [7].

В обществе с ограниченной ответственностью «Биолит» и Сибирском государственном медицинском университете из экстракта коры осины получен богатый фенолгликозидами комплекс (англ. aspen bark phenol glycoside complex, ABPG), представляющий интерес как потенциальный гепатопротекторный и противовоспалительный агент.

Целью исследования явилось изучение антиоксидантных, гепатопротекторных и противовоспалительных свойств ABPG в моделях *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Кору *P. tremula*, заготовленную в осенне-зимний период и высушенную в естественных условиях до остаточной влажности 8–10%, перерабатывали ме-

тодом реперколяции водой на промышленном экстракторе 2000 L (Hubei Weihua Machinery Co. Ltd., Китай). Полученный жидкий экстракт (соотношение сырья и продукта 1 : 1) сгущали в вакуумной системе SX-250 (Hubei Weihua Machinery Co., Ltd., Китай) до остаточной влажности 25–40%. Для получения фракции ABPG навеску сгущенного экстракта трижды обрабатывали 70%-м этанолом (1 : 12, мас/об) при воздействии ультразвуком (25 кГц, 20 мин), и центрифугировали (4000 об/мин, 10 мин) с последующим упариванием и конвекционным высушиванием супернатанта.

Сумму флавоноидов фракции ABPG определяли спектрофотометрически (400 нм) по реакции комплексообразования с 3%-м AlCl_3 в 40%-м этаноле после солюбилизации в диметилсульфоксиде и выражали в пересчете на лютеолин (удельный показатель поглощения 549,4) [8]. Общее содержание танинов оценивалось титриметрически по методу Левенталья [9]. Стандартизацию фракции по салицину и определение компонентного состава проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе Ultimate 3000 с диодно-матричным детектором DAD3000 (колонка Eclipse Plus C18, $3,0 \times 150$ мм, 3,5 мкм; градиентное элюирование ацетонитрилом от 10 до 75% за 35 мин, детектирование 190–400 нм; Thermo Fisher Scientific, Германия) при длинах волн 220 и 260 нм; фенольные кислоты дополнительно разделяли в градиенте до 25% ацетонитрила.

Антирадикальную активность ABPG оценивали по способности восстанавливать стабильный радикал 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ) (MP Biomedicals, США) [10, 11]. В опытные пробы (100 мкМ ДФПГ) вносили ABPG в конечных концентрациях 25, 50, 100, 150 и 200 мкг/мл. После 30 мин инкубации при комнатной температуре измеряли оптическую плотность при 517 нм на планшетном ридере Tecan Infinite 200 PRO M Plex (Tecan Austria GmbH, Австрия). Рассчитывали долю (%) ингибирования радикала ДФПГ и определяли величину, отражающую концентрацию вещества, при которой связывается 50% радикалов ДФПГ (IC_{50}).

Способность ABPG связывать ионы Fe^{2+} оценивали колориметрически по снижению оптической плотности комплекса FeSO_4 (Sigma-Aldrich, США) с феррозином (Sigma-Aldrich, США) как описано в [12]. В качестве стандарта использовали этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА) (Amresco, США). Оптическую плотность регистрировали при 562 нм (планшетный ридер INNO, LITEK Co., Ltd., Республика Корея). Хелатирующую способность выражали в процентах хелатирования и в мг эквивалента ЭДТА на грамм ABPG.

Во всех клеточных экспериментах ABPG растворяли в фосфатно-солевом буфере ($1 \times \text{PBS}$, Gibco, США); в лунки к контрольным клеткам вносили эквивалентный объем растворителя. Клетки HepG2 культивировали в среде DMEM/F12 (BioinnLabs, Россия) с 10% эмбриональной бычьей сыворотки (Global Kang, Китай), 292 мг/л L-аланил-L-глутамин (GlutaMAX, Gibco, США), 40 мкг/мл гентамицина и 0,25 мкг/мл амфотерицина В (AAS Solution, Sigma-Aldrich, США) при 37 °C в атмосфере 5%-го CO_2 (инкубатор Sanyo, Япония).

Цитотоксичность ABPG определяли в диапазоне концентраций 3,9–1000 мкг/мл с использованием теста с нейтральным красным (Sigma-Aldrich, США) как описано в [13]. Гепатопротекторную активность оценивали в модели липотоксичности, индуцированной смесью олеата и пальмитата натрия, по уровню внутриклеточных липидов [14] и АФК [15]. Клетки высаживали в 96-луночные планшеты (2×10^4 /лунку); через 24 ч вносили ABPG (62,5 или 125 мкг/мл) либо референсное гипополипидемическое соединение гемфиброзил (100 мкМ, Sigma-Aldrich, США). Через 2 ч среду заменяли на свежую, содержащую 1 мМ олеата и 0,5 мМ пальмитата натрия (Sigma-Aldrich, США; из 30 мМ стоковых растворов в 0,9%-ю NaCl), 2%-й бычий сывороточный альбумин без жирных кислот (Sigma-Aldrich, США) и 2%-й HEPES (1 M, Gibco, США), повторно внося исследуемые соединения в тех же концентрациях на 24 ч. Накопление липидов оценивали флуориметрически с липофильным красителем Нильским красным (Sigma-Aldrich, США) [14], уровень АФК – с помощью зонда 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина диацетата (ДХФДА) (Sigma-Aldrich, США) [15]. Флуоресценцию измеряли на планшетном ридере Tecan Infinite 200 PRO M Plex (Tecan Austria GmbH, Австрия) и визуализировали на микроскопе Leica DMi8 (Leica Microsystems, Германия).

В модели парацетамол-индуцированного повреждения (Пар) клетки высаживали в 96-луночные планшеты (2×10^4 /лунку); через 24 ч вносили ABPG (62,5 или 125 мкг/мл) либо препарат сравнения «Силимар» (экстракт плодов расторопши пятнистой, АО «Фармцентр ВИЛАР», Россия) в концентрации 10 мкг/мл (Сил), через 4 ч добавляли 20 мМ парацетамола (АО «Органика», Россия) и инкубировали 24 ч. Жизнеспособность оценивали с использованием 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2Н-тетразолия (MTS-тест) (CellTiter 96 AQueous One Solution Cell Proliferation Assay, Promega, США) по протоколу производителя. Результат выражали как процент жизнеспособных клеток по отношению к интактному контролю.

Противовоспалительную активность изучали при стимуляции клеток комбинацией липополисахарида

(LPS) (10 мкг/мл; Sigma-Aldrich, США) и интерферона (IFN) γ (50 нг/мл; Sigma-Aldrich, США) в течение 48 ч [16, 17]. ABPG (62,5 или 125 мкг/мл) вносили за 2 ч до добавления провоспалительных агентов и на весь период культивирования. Уровень АФК определяли с помощью ДХФДА, как описано выше [15]. Содержание восстановленного глутатиона (GSH) оценивали с использованием тиол-реактивного зонда дибромобимана (Sigma-Aldrich, США) [18]. Сигналы ДХФДА и дибромобимана визуализировали методом флуоресцентной микроскопии (Leica DMi8, Leica Microsystems, Германия; $\times 40$).

Данные обрабатывали в программе GraphPad Prism (версия 8.0.1, GraphPad Software, Inc., США). Нормальность распределения проверяли критерием Шапиро – Уилка, сравнение групп проводили методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с пост-хок тестом Даннета. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены как среднее и стандартное отклонение ($M \pm SD$); во всех экспериментах $n = 6$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выход полифенольной фракции ABPG составил 54,8–66,4%. Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин составила $0,0120 \pm 0,0015\%$, содержание салицина – $5,9 \pm 0,2\%$, танинов – $8,4 \pm 0,5\%$ (по данным ВЭЖХ). ВЭЖХ-профилирование выявило более 70 компонентов, из которых 49 обладают поглощением при 260 нм (рис. 1).

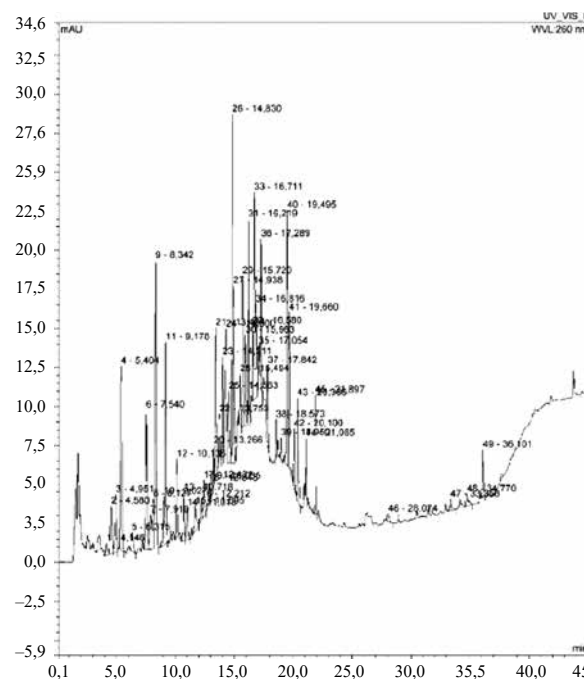


Рис. 1. Высокоэффективная жидкостная хроматограмма комплекса ABPG, зарегистрированная при длине волны 260 нм

Семь мажорных соединений суммарно составляют 54,9% площади всех пиков; среди них идентифицированы дигидроксibenзойная кислота (11,5%), салицин (5,4%) и лютеолин (7,7%). При хроматографировании в условиях низкого содержания органического модификатора установлено присутствие

гидроксibenзойной (1,88%) и метоксibenзойной (8,5%) кислот.

В диапазоне концентраций 25–200 мкг/мл АВРГ вызывал последовательное снижение оптической плотности раствора ДФПГ (рис. 2, а), IC_{50} составила $87,6 \pm 4,6$ мкг/мл (рис. 2, б).

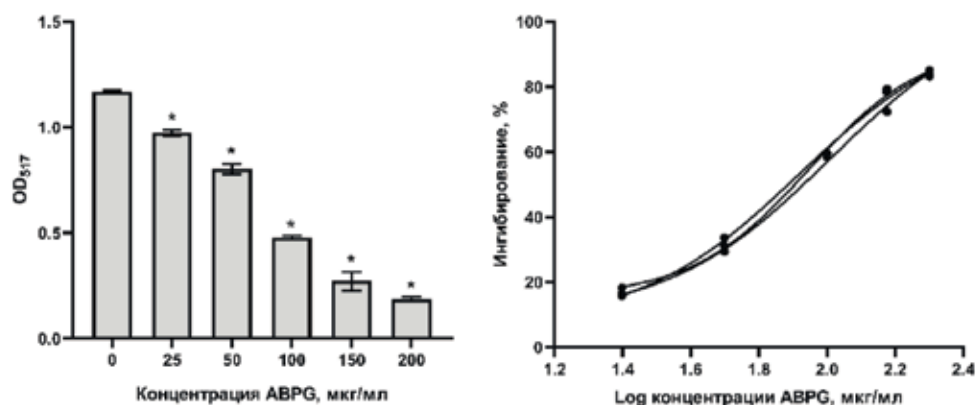


Рис. 2. Влияние комплекса фенолгликозидов коры осины на оптическую плотность 100 мкМ раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (а) и полулогарифмическая зависимость эффективности связывания радикалов ДФПГ от концентрации АВРГ (б); $M \pm SD$, * $p < 0,05$ по сравнению со значением оптической плотности при 0 мкг/мл АВРГ (контроль)

Хелатирующая активность комплекса АВРГ, выраженная в эквиваленте ЭДТА, составила 14,07 мг/г образца, что соответствует связыванию 38,9% ионов Fe^{2+} в исследуемой системе.

При определении цитотоксичности АВРГ в отношении клеток линии НерG2 показано, что в концентрациях от 3,9 до 125 мкг/мл включительно жизнеспособность клеток не опускалась ниже 95% относительно контроля. При 500 мкг/мл она снижалась на 21,2% ($p < 0,001$), при 1000 мкг/мл – на 33,2% ($p < 0,001$). Поэтому для последующих экспериментов были выбраны концентрации 62,5 и 125 мкг/мл, которые находятся в ее токсичном диапазоне.

В модели липотоксичности уровень внутриклеточных АФК возрастал на 77,3% относительно контроля ($528,8 \pm 45,4$ и $937,7 \pm 81,4$ отн. ед., соответственно, $p < 0,05$) (рис. 3, а). В концентрациях 62,5 и 125 мкг/мл АВРГ снижал уровень АФК в клетках на 30,2% до $654,8 \pm 121,1$ отн. ед. ($p < 0,001$) и 47,6% ($491,3 \pm 57,5$ отн. ед., $p < 0,001$) соответственно. При этом интенсивность флуоресценции ДХФДА в клетках на фоне внесения 125 мкг/мл АВРГ не превышала значений в контрольных лунках ($p > 0,05$).

Также развитие СЖК-индуцированной липотоксичности приводило к увеличению уровня внутриклеточных липидов на 58,6% ($826,2 \pm 54,0$ против $521,0 \pm 41,1$ отн. ед. в контроле, $p < 0,001$) (рис. 3, б). При внесении в культуральную среду клеток АВРГ (62,5 и 125 мкг/мл) показано снижение содержания липидов на 24,9% (до $620,7 \pm 89,1$ отн. ед.,

$p < 0,001$) и 40,4% (до $492,5 \pm 67,5$ отн. ед., $p < 0,001$) соответственно. В концентрации 125 мкг/мл гепатопротекторная активность комплекса была сравнима с действием гемфиброзила, который снижал показатель флуоресценции нильского красного на 31,8% до $564,5 \pm 42,5$ отн. ед. (рис. 3, б).

Инкубация клеток с парацетамолом (20 мМ) в течение 24 ч приводила к снижению их жизнеспособности на 46,4% по сравнению с контролем ($p < 0,001$, рис. 4).

Инкубация клеток с АВРГ во всех исследуемых дозах предотвращала гибель гепатоцитов. В концентрациях 62,5 и 125 мкг/мл АВРГ жизнеспособность клеточной культуры составляла $71,3 \pm 9,1\%$ ($p < 0,001$ по сравнению с парацетамолом) и $77,9 \pm 5,5\%$ ($p < 0,001$ по сравнению с парацетамолом), однако не достигала значений контрольной группы. Препарат сравнения «Силимар», основным компонентом которого является экстракт плодов расторопши пятнистой, в концентрации 10 мкг/мл также оказывал гепатопротекторное действие, поддерживая жизнеспособность клеток на уровне $84,9 \pm 7,9\%$ (см. рис. 4).

Стимуляция LPS/IFN γ вызывала значительное увеличение уровня АФК в клетках (рис. 5, а). Интенсивность флуоресценции ДХФДА возрастала на 50% по сравнению с контролем (с $720,0 \pm 45,1$ до $1080,0 \pm 82,4$ отн. ед., $p < 0,001$). Одновременно наблюдалось истощение пула GSH на 35,5% (с $3148 \pm 245,1$ до $2031,0 \pm 312,0$ отн. ед. флуоресценции дибромобимана, $p < 0,001$) (рис. 5, б).

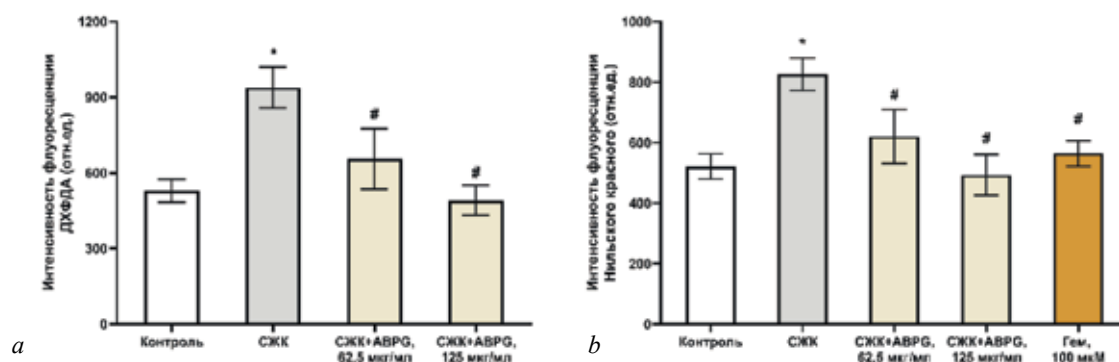


Рис. 3. Влияние комплекса фенолгликозидов коры осины на уровень активных форм кислорода и содержание внутриклеточных липидов в клетках HepG2 после инкубации в среде, содержащей свободные жирные кислоты: *a* – интенсивность флуоресценции зонда на внутриклеточные АФК 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина диацетата, *b* – интенсивность флуоресценции нильского красного (внутриклеточные липиды) в сравнении с референсным соединением гемфибрилом (Гем) (100 мкМ); $M \pm SD$; * $p < 0,05$ по сравнению с контролем, # $p < 0,05$ по сравнению с СЖК

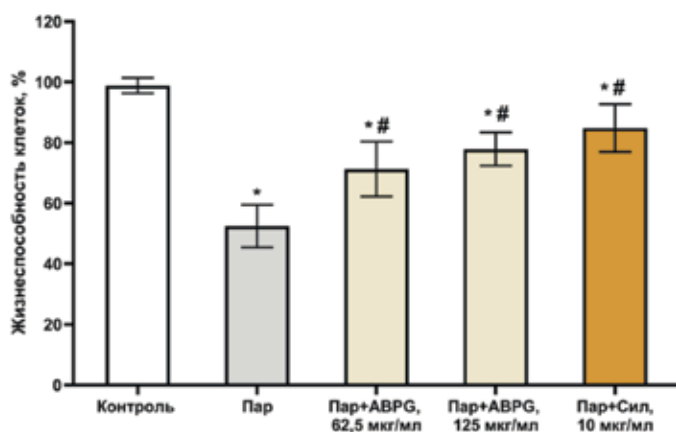


Рис. 4. Влияние ABPG и препарата сравнения «Силимар» (Сил) (10 мкг/мл) на жизнеспособность клеток HepG2 в модели парацетамол-индуцированной гепатотоксичности (Пар) (20 мМ); $M \pm SD$; * $p < 0,05$ по сравнению с контролем; # $p < 0,05$ по сравнению с группой «Пар»

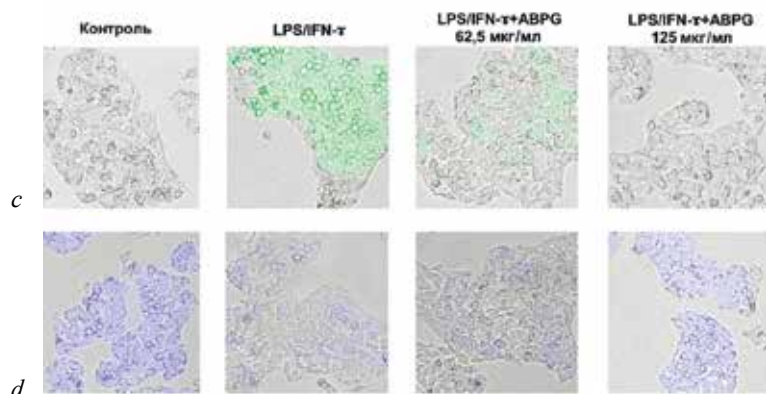
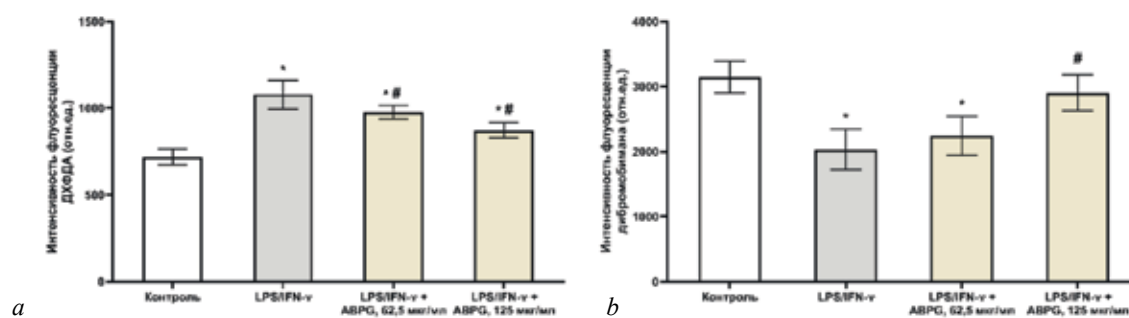


Рис. 5. Влияние ABPG на уровень АФК и содержание GSH в клетках HepG2 после 48-часовой инкубации с LPS (10 мкг/мл) и IFN γ (50 нг/мл): *a* – интенсивность флуоресценции зонда на внутриклеточные АФК 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина диацетата (ДФХДА), *b* – интенсивность флуоресценции дибромобимана, *c*, *d* – репрезентативные флуоресцентные микрофотографии, иллюстрирующие сигналы АФК (*c*) и GSH (*d*) в соответствующих группах, $\times 40$; $M \pm SD$, * $p < 0,05$ по сравнению с контролем; # $p < 0,05$ по сравнению с группой LPS и IFN γ

Добавление к клеткам, стимулированным LPS и IFN γ , ABPG в концентрации 125 мкг/мл приводило к увеличению содержания GSH на 42,9% (до $2903,0 \pm \pm 276,8$ отн. ед., $p < 0,001$ по сравнению с группой LPS и IFN γ) (см. рис. 5, b). В меньшей концентрации объекта исследования (62,5 мкг/мл) существенного изменения уровня GSH не наблюдалось ($p > 0,05$). Интенсивность флуоресценции ДХФДА при концентрации ABPG 62,5 мкг/мл снижалась на 9,5% (до $977,0 \pm 39,3$ отн. ед., $p < 0,05$). Увеличение концентрации комплекса до 125 мкг/мл снижало уровень АФК на 19,2% (до $872,2 \pm 43,8$ отн. ед., $p < 0,001$) (см. рис. 5, a).

Результаты флуоресцентной микроскопии согласуются с полученными данными количественного анализа (рис. 5, c, d).

В лунках с клетками, обработанными LPS и IFN- γ , наблюдалась интенсивная флуоресценция ДХФДА, соответствующая повышенному уровню АФК, и ослабление сигнала дибромобимана (истощение пула GSH). При инкубации клеток в присутствии ABPG (125 мкг/мл) эти изменения были в значительной степени нивелированы.

ОБСУЖДЕНИЕ

ABPG представляет собой многокомпонентную смесь простых фенолгликозидов, доминирующим среди которых является салицин, а также конденсированных и гидролизуемых танинов [7, 19].

Такой состав обуславливает потенциал прямого антирадикального действия комплекса и способность к хелатированию металлов переменной валентности. В настоящей работе ABPG эффективно нейтрализовал радикал ДФПГ (IC_{50} 87,6 мкг/мл) и связывал ионы Fe^{2+} (14,07 мг экв. ЭДТА/г) в модельной системе. Полученное значение IC_{50} сопоставимо с литературными данными для водно-этанольных экстрактов коры других видов рода *Populus* [7]. Железо-хелатирующая активность ABPG ограничивает участие свободных ионов Fe^{2+} в переходе пероксида водорода в высокореактивный гидроксильный радикал в реакции Фентона, что, как известно, выступает триггером перекисного окисления мембранных липидов [20].

Проявление антиоксидантного потенциала объекта исследования в модельных системах не всегда согласуется с активностью в условиях живых систем, поэтому в дальнейшем эффекты ABPG оценивали на культуре клеток HepG2. В условиях липотоксичности, вызванной избытком СЖК, ABPG снижал внутриклеточный уровень АФК и подавлял накопление нейтральных липидов. В концентрации 125 мкг/мл содержание липидов уменьшалось в степени, сопоста-

вимой с действием агониста альфа-рецептора, активируемого пероксисомным пролифератором (PPAR- α), гемфиброзила. Это позволяет предположить, что ABPG не только подавляет окислительный стресс, но и нормализует липидный метаболизм гепатоцитов, восстанавливая митохондриальные функции, нарушенные продуктами перекисного окисления.

Известно, что при патологиях печени избыток СЖК вызывает разобщение процессов окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи митохондрий, усиливает генерацию внутриклеточных АФК, что в свою очередь усугубляет стеатоз [3].

Взаимосвязь гепатопротекторного эффекта комплекса и его влияния на состояние системы глутатиона была показана в моделях токсического и воспалительного повреждения *in vitro*. Парацетамол в сверхтерапевтических дозах истощает пул GSH вследствие конъюгации с N-ацетил-п-бензохинонином, что запускает окислительный стресс, митохондриальную дисфункцию и апоптоз гепатоцитов [21]. В присутствии ABPG (125 мкг/мл) отмечалось увеличение числа жизнеспособных клеток на 21% относительно лунок, обработанных парацетамолом, что свидетельствует о существенном вкладе антиоксидантных компонентов комплекса в ограничение редокс-опосредованной гибели клеток.

При сочетанном действии LPS и IFN γ зарегистрировано накопление АФК и сокращение пула внутриклеточного GSH. Комплекс ABPG (125 мкг/мл) снижал уровень АФК и повышал содержание GSH. Подобная динамика косвенно указывает на активацию транскрипционного фактора, родственного эритроидному фактору 2 (Nrf2), контролирующего экспрессию ферментов синтеза GSH и антиоксидантной защиты [22]. Препарат сравнения «Силимар» в значительной степени реализует гепатопротекторное и противовоспалительное действие через Nrf2-зависимые механизмы и ингибирование NF- κ B [23, 24]. Совпадение вектора изменений редокс-показателей под влиянием ABPG и силимара позволяет предполагать вовлеченность аналогичных сигнальных путей.

Салицин, доминирующий низкомолекулярный компонент комплекса, подавляет продукцию фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерлейкина 1 бета (ИЛ-1 β) и (ИЛ-6) в LPS-стимулированных макрофагах и повышает уровень ИЛ-10. Этот эффект связывают с ингибированием сигнальных путей митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК-) и NF- κ B-каскадов [25]. Наблюдаемое нами снижение окислительного стресса и возрастание уровня GSH на фоне воспалительной стимуляции согласуется с этим механизмом. Можно предположить, что сочетанное действие полифенольных танинов (прямая

антирадикальная и хелатирующая активность) и салицина (модуляция редокс-чувствительных сигнальных путей) обеспечивает интегральный фармакологический профиль АВРГ. Собственная антиоксидантная активность комплекса лежит в основе гепатопротекторной активности, способность восстанавливать пул GSH и ограничивать АФК-зависимую активацию NF-κB определяет противовоспалительный потенциал.

Полученные данные демонстрируют, что АВРГ обладает сочетанной антиоксидантной, гепатопротекторной и противовоспалительной активностью, и позволяют рассматривать АВРГ как перспективный комплекс для дальнейшего изучения *in vivo* и идентификации конкретных молекулярных мишеней.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комплекс АВРГ в экспериментах *in vitro* проявляет антиоксидантную, гепатопротекторную и противовоспалительную активность, реализуемую через редокс-зависимые механизмы.

В модели липотоксичности на клетках HepG2 АВРГ эффективно снижает внутриклеточный уровень АФК и предотвращает избыточное накопление нейтральных липидов. При парацетамол-индуцированной токсичности АВРГ повышает выживаемость гепатоцитов.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой перспективности АВРГ как потенциального гепатопротектора и противовоспалительного средства.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Gan C., Yuan Y., Shen H., Gao J., Kong X., Che Z. et al. Liver diseases: epidemiology, causes, trends and predictions. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2025;10(1):33. DOI: 10.1038/s41392-024-02072-z.
- Sanfeliu-Redondo D., Gibert-Ramos A., Gracia-Sancho J. Cell senescence in liver diseases: pathological mechanism and theranostic opportunity. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2024;21:477–492. DOI: 10.1038/s41575-024-00913-4.
- Ezhilarasan D., Lakshmi T. A molecular insight into the role of antioxidants in nonalcoholic fatty liver diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022;1(2022):9233650. DOI: 10.1155/2022/9233650.
- Sharma P., Nandave M., Nandave D., Yadav S., Vargas-De-La-Cruz C., Singh S. et al. Reactive oxygen species (ROS)-mediated oxidative stress in chronic liver diseases and its mitigation by medicinal plants. *Am. J. Transl. Res.* 2023;15(11):6321.
- Kukavica B., Škondrić S., Knežević K., Ignjatović T., Mihačević D., Nakarada Đ. et al. Integrated profiling of essential metals, phenolic compounds, anti-inflammatory and hydroxyl radical scavenging activities for five medicinal plants. *Biomaterials*. 2025;38:1863–1880. DOI: 10.1007/s10534-025-00735-0.
- Gupta M., Singh N., Gulati M., Gupta R., Sudhakar K., Kapoor B. Herbal bioactives in treatment of inflammation: An overview. *South African Journal of Botany*. 2021;143:205–225. DOI: 10.1016/j.sajb.2021.07.027.
- Nisca A., Tanase C. Approaches to Extracting Bioactive Compounds from Bark of Various Plants: A Brief Review. *Plants*. 2025;14(18):2929. DOI: 10.3390/plants14182929.
- Писарева С.И., Юдина Н.В., Лоскутова Ю.В., Буркова В.Н., Боев С.Г. Влияние механообработки коры осины на антиоксидантные свойства водноспиртовых веществ. *Химия растительного сырья*. 2008;(3):45–50.
- Орлова А., Пovyдыш М. Обзор методов качественного и количественного анализа танинов в растительном сырье. *Химия растительного сырья*. 2019;(4):29–45. DOI: 10.14258/jcprm.2019045459.
- Olszowy M. What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019;144:135–143. DOI: 10.1016/j.plaphy.2019.09.039.
- Lee S.E., Ju E.M., Kim J.H. Free radical scavenging and antioxidant enzyme fortifying activities of extracts from Smilax china root. *Experimental & Molecular Medicine*. 2001;33(4):263–268. DOI: 10.1038/emmm.2001.43.
- Santos J.S., Alvarenga Brizola V.R., Granato D. High-throughput assay comparison and standardization for metal chelating capacity screening: A proposal and application. *Food Chemistry*. 2017;214:515–522. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.07.091.
- Repetto G., del Peso A., Zurita J.L. Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity. *Nature Protocols*. 2008;3(7):1125–1131. DOI: 10.1038/nprot.2008.75.
- Yao H. R., Liu J., Plumeri D., Cao Y. B., He T., Lin L. et al. Lipotoxicity in HepG2 cells triggered by free fatty acids. *Am. J. Transl. Res.* 2011;3(3):284.
- Zhang M., Lai J., Wu Q., Lai J., Su J., Zhu B. et al. Naringenin induces HepG2 cell apoptosis via ROS-mediated JAK-2/STAT-3 signaling pathways. *Molecules*. 2023;28(11):4506. DOI: 10.3390/molecules28114506.
- Cubit I., Rojas S., Kulikowski V., Martinez J., Prabhakar S. Cytokine expression in HepG2 cells and the effects of Budesonide. *Journal of ATE*. 2024;3(2):98–106. DOI: 10.5281/zenodo.13989027.
- Chen S., Pu J., Bai J., Yin Y., Wu K., Wang J. et al. EZH2 promotes hepatocellular carcinoma progression through modulating miR-22/galectin-9 axis. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2018;37:3. DOI: 10.1186/s13046-017-0670-6.
- Cox D.P., Cardozo Pelaez F. High throughput method for assessment of cellular reduced glutathione in mammalian cells. *Journal of Environmental Protection Science*. 2007;1:23–28.
- Cosme F., Aires A., Pinto T., Oliveira I., Vilela A., Gonçalves B. A comprehensive review of bioactive tannins in foods and beverages: Functional properties, health benefits, and sensory qualities. *Molecules*. 2025;30(4):800. DOI: 10.3390/molecules30040800.
- Xiao J., Guo S., Wang D., An Q. Fenton-like reaction: Recent advances and new trends. *Chemistry*. 2024;30(24):e202304337. DOI: 10.1002/chem.202304337.
- Kim I.H., Choi J.W., Nam T.J. PYP1-4 peptide from Pyropia

- yezoensis protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity in HepG2 cells. *Exp. Ther. Med.* 2020;19(2):849–860. DOI: 10.3892/etm.2019.8304.
22. Ngo V., Duennwald M.L. Nrf2 and oxidative stress: a general overview of mechanisms and implications in human disease. *Antioxidants*. 2022;11(12):2345. DOI: 10.3390/antiox11122345.
23. Dhande D., Dhok A., Anjankar A., Nagpure S. Silymarin as an Antioxidant Therapy in Chronic Liver Diseases: A Comprehensive Review. *Cureus*. 2024;16(8):e67083. DOI: 10.7759/cureus.67083.
24. Surai P.F. Silymarin as a natural antioxidant: an overview of the current evidence and perspectives. *Antioxidants*. 2015; 4(1):204–247. DOI: 10.3390/antiox4010204.
25. Li Y., Wu Q., Deng Y., Lv H., Qiu J., Chi G. et al. D(-)-Salicin inhibits the LPS-induced inflammation in RAW264.7 cells and mouse models. *Int. Immunopharmacol.* 2015;26(2): 286–294. DOI: 10.1016/j.intimp.2015.04.016

Вклад авторов

Перина Е.А., Буйко Е.Е. – определение противовоспалительной, антиоксидантной и гепатопротекторной активности комплекса *in vitro*, написание текста статьи. Кайдаш О.А. – определение гепатопротекторной активности *in vitro*. Диксас Е.Б. – оценка антирадикальной и халатирующей способности. Кривошеков С.В., Сергун В.П., Буркова В.Н. – синтез и электрохимическое исследование комплекса. Иванов В.В., Удут Е.В. – методология, рецензирование и редактирование.

Информация об авторах

Перина Екатерина Александровна – мл. науч. сотрудник, центр доклинических исследований, центральная научно-исследовательская лаборатория (ЦНИЛ), СибГМУ, г. Томск, catherineperina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4273-8228>

Буйко Евгений Евгеньевич – канд. биол. наук, мл. науч. сотрудник, центр доклинических исследований, ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск, buykoevgen@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6714-1938>

Диксас Елена Борисовна – мл. науч. сотрудник, центр доклинических исследований, ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск, elena_diksas@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0006-5958-599X>

Кайдаш Ольга Александровна – канд. биол. наук, мл. науч. сотрудник, центр доклинических исследований, ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск, kaidash_2011@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8761-7537>

Кривошеков Сергей Владимирович – канд. хим. наук, доцент, зав. лабораторией контроля качества, ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск, ksv_tsu@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>

Сергун Валерий Петрович – канд. хим. наук, директор ООО «Биолит», г. Томск; ст. науч. сотрудник, лаборатория сверхкритической флюидной экстракции, КемГМУ, г. Кемерово, info@biolit.info, <https://orcid.org/0009-0003-6368-9992>

Буркова Валентина Николаевна – д-р хим. наук, академик Российской академии естественных наук, президент ООО «Биолит», г. Томск, infobiolit@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0003-4253-4764>

Иванов Владимир Владимирович – канд. биол. наук, доцент, руководитель центра доклинических исследований, ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск, ivanovvv1953@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3326-729X>

Удут Елена Владимировна – д-р мед. наук, профессор РАН, зав. ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск, udut.ev@ssmu.ru, 0000-0002-6104-4782

(✉) Перина Екатерина Александровна, catherineperina@gmail.com

Поступила в редакцию 20.07.2026;
добрена после рецензирования 27.07.2026;
принята к публикации 29.07.2026