

Рекомендована д. біол. наук, проф. Л. С. Фірою

УДК 615.214.21

## ДОСЛІДЖЕННЯ БІОХІМІЧНИХ МЕХАНІЗМІВ АДАПТОГЕННОГО ВПЛИВУ ЕКСТРАКТУ КОРИ ОСИКИ НА МОДЕЛІ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ

©І. В. Луцак, С. Ю. Штриголь, А. В. Мельник<sup>1</sup>

Національний фармацевтичний університет, Харків

<sup>1</sup>Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

**Резюме:** проведено дослідження впливу екстракту кори осики на біохімічні показники у щурів на тлі іммобілізаційного стресу. Встановлено позитивний вплив досліджуваного фітопрепарату на показники енергетичного, вуглеводного обміну, пригнічення процесів пероксидного окиснення ліпідів. За ефективністю екстракт кори осики не поступається класичному фітоадаптогену екстракту родіоли рідкому.

**Ключові слова:** екстракт кори осики, екстракт родіоли, іммобілізаційний стрес, метаболізм.

**Вступ.** Пошук нових видів адаптогенних рослин є актуальним завданням фармації. Це зумовлено тим, що лікарські рослини з адаптогенними властивостями (родіола рожева, елеутерокок, лимонник китайський тощо) переважно зустрічаються у Сибіру, на Далекому Сході, у країнах Південно-Східної Азії, а ресурси багатьох видів обмежені [14, 15].

Відомий і добре вивчений адаптоген – екстракт родіоли рідкий (ЕРР), фармакологічні ефекти якого зумовлені переважно простим фенолом тирозолом і фенологікозидом салідрозидом [7, 17, 18]. Ці речовини у великій кількості містяться в осиці (тополі тремтячій, *Populus tremula* L., родина вербові – *Salicaceae*), в т. ч. у корі [2]. Сировинна база цієї рослини в Україні велика. Препарати осики відомі потогінними, жарознижувальними, протизапальними, знеболювальними, пом'якшувальними, в'язучими, сечогінними властивостям [14]. Сухий екстракт кори осики (ЕКО) має низьку токсичність ( $LD_{50} > 5$  г/кг) і протизапальну активність у дозах 15-50 мг/кг ( $ED_{50}=25$  мг/кг), а в дозах 1-10  $ED_{50}$  не впливає на ЦНС щурів [4]. Ми вперше виявили адаптогенні властивості ЕКО в умовно ефективній дозі 1 г/кг [8–11]. ЕКО стимулює рухову активність та орієнтовно-дослідницьку поведінку тварин у тесті відкритого поля, не поступаючись ЕРР (але з додатковим седативним ефектом), і збільшує фізичну витривалість у тесті плавання з навантаженням. У тесті звисання над водою ЕКО підвищує статичну силову витривалість, у тесті повторного плавання без перерви гальмує розвиток стомлення. За проявами актопротекторної дії ЕКО не поступається ЕРР (1-5 мл/кг) або перевершує його. На відміну від ЕРР, ЕКО чинить фрігопротекторний ефект – підвищує опірність до гострого загального охо-

лодження. Особливо необхідно вказати на стреспротекторні властивості ЕКО, доведені за поведінковими тестами та впливом на фізичну витривалість після іммобілізаційного стресу [10].

Мета роботи – з'ясувати біохімічні механізми адаптогенного ефекту ЕКО на моделі іммобілізаційного стресу.

**Методи дослідження.** Експерименти виконано на 24 білих нелінійних щурах-самцях масою 180-200 г. Усі тварини були розподілені на 4 групи по 6 особин. Перша група – інтактні тварини. Друга група – контрольна патологія (КП). Щури третьої і четвертої груп отримували внутрішньошлунково, відповідно, неспиртовий екстракт родіоли рідкий (ЕРР) у дозі 1 мл/кг та екстракт кори осики (ЕКО) у дозі 1 г/кг. Усі засоби вводили профілактично протягом двох тижнів до відтворення стресу. Тварини групи КП отримували дистильовану воду в об'ємі, еквівалентному об'єму препаратів. Дотримувались методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ і вимог біоетики згідно з Національними «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (2001), що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовують для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). Стрес моделювали шляхом 3-годинної іммобілізації щурів на спині на операційному столику атравматичним фіксуванням за кінцівки. Враховуючи, що стадія тривоги припадає на перші 12 год від початку дії чинника, що викликає стрес, стреспротективну дію препаратів оцінювали через 2 год після завершення впливу стресорного фактора, як запропоновано в [16]. Інтактних щурів стресовому впливу не піддавали. Щурів забивали під пропофоловим наркозом шляхом дислокації шийних хребців.

Вплив препаратів на процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного захисту оцінювали відповідно за показниками активності креатинфосфокінази (КФК) в гомогенаті скелетних м'язів; ТБК-реактивів, супероксиддисмутази (СОД) та карбонільних груп білків (КГБ) в гомогенаті печінки; в сироватці крові досліджували рівень глюкози, лактату, пірувату та співвідношення лактат/піруват, які відображають стан енергетичного обміну.

Сироватку отримували центрифугуванням крові при 1500 г 15 хв при 18-22 °С. Наважку м'язів стегна гомогенізували (тефлон-скло, 3000 об./хв) в 1,15% розчині хлориду калію (1:3 за об'ємом), гомогенат проціджували через 2 шари марлі. Печінку перфузували холодним 1,15% розчином КСІ, гомогенізували при 3000 об./хв (тефлон-скло) в середовищі 1,15% КСІ (співвідношення 1:3), після чого гомогенати центрифугували 30 хв при 600 г.

Вміст глікогену визначали після його повного гідролізу за зростанням вмісту глюкози [12]. Концентрацію глюкози визначали глюкозооксидазним методом з використанням стандартних наборів (Філісіт-Діагностика, Україна). Загальний білок визначали у гомогенатах м'язів і печінки мікробіуретовим методом із реактивом Бенедикта [6], ТБК-реактивні – за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [3], КГБ – за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразиним [13]. Вміст пірувату та лактату визначали колориметричним методом [1]. Активність КФК визначали кінетичним методом (стандартний набір фірми «Lachema», Чехія). Активність СОД оцінювали за гальмуванням окиснення кверцетину [5].

Статистичну обробку виконували з використанням t критерію Стьюдента.

**Результати й обговорення.** Результати дослідів наведено в таблиці 1.

**Таблиця 1.** Порівняльний вплив екстракту кори осики та екстракту родіоли рідкого на біохімічні показники щурів на тлі іммобілізаційного стресу, M±m

Показники	Інтактні тварини (n=6)	Іммобілізаційний стрес		
		контрольна патологія(n=6)	ЕРР, 1мл/кг (n=6)	ЕКО, 1 г/кг (n=6)
<b>Гомогенат скелетних м'язів</b>				
КФК, мкмоль/хв на 1 мг білка	57,7±3,16	42,1±3,86*	51,2±1,42#	53,2±1,96#
Глікоген, мкмоль/г тканини	33,3±2,25	22,7±1,14*	28,4±1,37#	29,3±1,30#
Загальний білок, мг/г тканини	198,8±5,76	183,6±8,88	195,6±5,88	194,0±4,80
<b>Гомогенат печінки</b>				
Загальний білок, мг/г тканини	171,2±4,041	156,4±1,79	162,0±7,16	168,0±8,08
Глікоген, мкмоль/г тканини	76,7±3,54	45,2±1,77*	62,5±2,65*#	66,2±1,74*#
ТБК-реактивні, нмоль/мг білка	10,9±0,44	23,4±1,85*	12,3±1,01#	11,9±0,97#
КГБ, нмоль/мг білка	8,43±0,28	15,3±1,18*	9,67±0,73#	9,40±0,66#
СОД, ум.од./мг білка	8,25±0,33	5,11±0,61*	7,58±0,42#	7,87±0,62#
<b>Сироватка крові</b>				
Глюкоза, ммоль/л	5,16±0,10	6,49±0,31*	5,40±0,21#	5,30±0,18#
Лактат, ммоль/л	1,51±0,05	4,43±0,12*	2,31±0,14*#	1,92±0,10*#
Піруват, ммоль/л	0,34±0,02	0,47±0,02*	0,41±0,01*#	0,37±0,01#
Лактат / піруват	4,56±0,30	9,61±0,53*	5,67±0,44#	5,13±0,26#

**Примітки:** 1. ЕКО – екстракт кори осики, ЕРР – екстракт родіоли рідкий, КФК – креатинфосфокіназа, КГБ – карбонільні групи білків, СОД – супероксиддисмутаза; 2. \* – p<0,05 відносно інтактних тварин, # – p<0,05 відносно контрольної патології.

Під впливом іммобілізаційного стресу в щурів групи КП статистично значуще знижувалася активність КФК у скелетних м'язах у середньому на 27,0 %, що може свідчити про порушення енергетичного обміну. На тлі ЕКО та ЕРР це зниження склало лише 7,8 і 11,3 % відповідно не сягаючи вірогідного рівня. Вміст глікогену у м'язах і печінці тварин групи КП знижувався на 31,8-41,1% (p<0,002), відбиваючи виснаження цього енерговмісного субстрату. Обидва досліджувані фітопрепарати сприяли нормалізації даного показника, який залишався вірогідно зниже-

ним порівняно з інтактним контролем лише в печінці на 13,7–18,5 % (p<0,01).

Рівень загального білка у м'язах та печінці у групі КП невірогідно знижувався на 7,6–8,6 %, а в групах ЕРР та ЕКО – на 1,6–5,4 % порівняно з показником інтактних щурів.

У тварин групи КП, як видно з даних таблиці 1, мала місце активація ПОЛ, що доводиться зростанням вмісту в печінці ТБК-реактивних на 112 % і КГБ на 81,5 % (p<0,001), на тлі виснаження антиоксидантного захисту (активність СОД знизилася на 38,1 %,

$p < 0,002$ ). ЕКО та ЕРР однаковою мірою усували ці зміни.

Посилення глікогенолізу в скелетних м'язах і печінці, що свідчить про закономірну в умовах стресу симпатoadреналову активацію, супроводжувалося зростанням концентрації глюкози в крові щурів групи КП (табл.1). При цьому відбувалося накопичення лактату (його вміст зростає на 193 %,  $p < 0,001$ ) на тлі значно меншого зростання пірувату (на 38,2%,  $p < 0,001$ ), що свідчить про неповне окиснення глюкози з розвитком ацидозу. Співвідношення лактат/піруват зросло на 110 % ( $p < 0,001$ ). ЕКО та ЕРР нормалізували концентрацію глюкози в крові, що вказує на її посилену утилізацію тканинами, значно редукували зростання лактату й пірувату (останній показник на тлі ЕКО повністю нормалізувався), а також сприяли нормалізації показни-

ка лактат/піруват (він залишався невірогідно ( $p > 0,05$ ) збільшеним порівняно з інтактним контролем на 24,3 % у групі ЕРР і на 12,5 % – у групі ЕКО, що свідчить про антиацидотичну дію обох препаратів).

Отже, біохімічні механізми стреспротекторної дії ЕКО, за якою він не поступається еталонному адаптогенному препарату ЕРР, пов'язано з антиоксидантним впливом і покращенням енергетичного обміну, зокрема метаболізму глюкози.

**Висновки.** 1. Екстракт кори осики (1 г/кг) чинить стреспротекторну дію на моделі іммобілізаційного стресу в щурів, не поступаючись екстракту родіоли рідкому (1 мл/кг).

2. Біохімічні механізми стреспротекторної дії екстракту кори осики пов'язані з антиоксидантним впливом і покращенням енергетичного обміну.

### Література

1. Асатиани В. С. Биохимическая фотометрия / В. С. Асатиани. – М. : Изд-во АН СССР, 1957. – 836 с.
2. Бородіна Н. В. Фармакогностичне дослідження рослин роду тополя : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук / Н. В. Бородіна. – К., 2007. – 21 с.
3. Владимиров Ю. В. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. В. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Наука, 1972. – 252 с.
4. Деркач Н. В. Протизапальна активність водного екстракту з кори осики : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук / Н. В. Деркач. – К., 2006. – 20 с.
5. Костюк В. А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. В. Ковалева // *Вопр. мед. химии.* – 1990. – № 2. – С. 88–91.
6. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии / Г. А. Кочетов. – М. : Высшая школа, 1980. – 272 с.
7. Куркин В. А. Фенилпропаноиды лекарственных растений, распространение, классификация, структурный анализ, биологическая активность / В. А. Куркин // *Химия природных соединений.* – 2003. – № 2. – С. 87.
8. Луцак І. В. Вивчення адаптогенних властивостей екстракту кори осики / І. В. Луцак, С. Ю. Штриголь // *Клінічна фармація.* – 2011. – Т.15, № 3. – С. 62-66.
9. Луцак І. В. Вивчення антигіпоксичних властивостей екстракту кори осики в якості адаптогена : тези доп. XVI міжнар. медичного конгресу студентів та молодих учених / І. В. Луцак. – Тернопіль : ТДМУ ім. І. Я. Горбачевського, 2012. – С.272.
10. Луцак І. В. Вплив фітоадаптогенів на поведінкові реакції та фізичну витривалість після іммобілізацій-

ного стресу: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання створення нових лікарських засобів / І. В. Луцак, С. Ю. Штриголь. – Х. : НФаУ, 2012. – С. 387.

11. Луцак І. В. Екстракт кори осики – потенційний адаптоген // *Фармакологія та лікарська токсикологія : тези доп. IV Національного з'їзду фармакологів України / І. В. Луцак, С. Ю. Штриголь.* – 2011. – № 5 (24). – С. 200.

12. Орехович В.Н. Современные методы в биохимии / В. Н. Орехович. – М. : Мед., 1968. – 372 с.

13. Пат. № 58110А, Україна МПК 7 А61К35/16. Спосіб визначення карбонільних сполук в сироватці крові / С. В. Шевчук, О. О. Пентюк, Р. А. Мусін, Н. В. Заїчко (Україна) заявл. 04.10.2002; опубл. 15.07.2003.

14. Практикум по фармакогнозии: учебное пособие / под общ. ред. В. Н. Ковалева. – Х. : Изд-во НФаУ „Золотые страницы”, 2003. – 512 с.

15. Саратиков А. С. Родиола розовая – ценное лекарственное растение (золотой корень) / А. С. Саратиков, Е. А. Краснов. – [3-е изд., испр. и доп.]. – Томск: Изд-во Томского ун-та, 1987. – 254 с.

16. Експериментальне вивчення нових адаптогенних засобів: метод. рекомендації / [Л. В. Яковлева, О. Я. Міщенко, Ю. Б. Лар'яновська та ін.]. – К., 2009. – 37 с.

17. Panossian A. Rosenroot (*Rhodiola rosea*): Traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy // *Phytomedicine.* – 2010. – Vol.6, № 17. – P. 481–493.

18. Panossian A. Stimulating effect of adaptogens: an overview with particular reference to their efficacy following single dose administration // *Phytother. Res.* – 2005. – Vol.19. – P. 819–838.

## ИССЛЕДОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ АДАПТОГЕННОГО ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА КОРЫ ОСИНЫ НА МОДЕЛИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА У КРЫС

И. В. Луцак, С. Ю. Штрыголь, А. В. Мельник<sup>1</sup>

*Национальный фармацевтический университет, Харьков*

<sup>1</sup>*Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова*

**Резюме:** проведено исследование влияния экстракта коры осины на биохимические показатели крыс на фоне иммобилизационного стресса.

Выявлено положительное влияние исследуемого фитопрепарата на показатели энергетического, углеводного обмена, угнетение процессов перекисного окисления липидов. По эффективности экстракт коры осины не уступает классическому фитоадаптогену экстракта родиолы жидкому.

**Ключевые слова:** экстракт коры осины, экстракт родиолы, иммобилизационный стресс, метаболизм.

## THE RESEARCH OF THE BIOCHEMICAL MECHANISMS OF THE ADAPTOGENIC INFLUENCE OF ASPEN BARK EXTRACT ON THE MODEL OF THE IMMOBILIZATION STRESS IN RATS

I. V. Lutsak, S. Yu. Shtryhol, A. V. Melnyk<sup>1</sup>

*National Pharmaceutical University, Kharkiv*

<sup>1</sup>*Vinnytsia National Medical University by M. I. Pyrohov*

**Summary:** there was carried out the research of the aspen bark extract effect on the biochemical indicators of rats on the background of the immobilization stress. The positive influence of the phytopreparation under research on the indicators of the energetic, carbohydrate exchange was established, as well as the suppression of peroxide lipids oxidation processes. The aspen bark extract is as effective as the classical phytoadaptogen fluid rhodiola extract.

**Key words:** aspen bark extract, rhodiola extract, immobilisation stress, metabolism.