

С. І. Юнусова, Я. В. Рожковський

Антиоксидантні властивості густого екстракту якірців сланких за умов *in vitro* та *in vivo*

Одеський національний медичний університет

Ключові слова: густий екстракт якірців
сланких (*Tribullus Terrestris L.*),
антиоксидантна активність

Порушення оксидантно-антиоксидантного балансу в патогенезі багатьох запальних захворювань потребує невідкладної медикаментозної корекції й диктує необхідність подальшого пошуку та більш широкого застосування сполук природного походження з антиоксидантними та мембранопротекторними властивостями. Широке використання з цією метою класичних антиоксидантів не завжди може бути виправданим у зв'язку з можливим виникненням небажаних побічних ефектів [1, 2]. Це зумовлює необхідність розробки нових лікарських засобів на основі лікарської рослинної сировини (ЛРС), які б містили біологічно активні речовини (БАР) з антиоксидантними властивостями та забезпечували комплексний лікувальний вплив на перебіг багатьох захворювань, патогенез яких пов'язаний з активацією вільнорадикальних процесів. На сучасному фармацевтичному ринку України вибір подібних фітозасобів вкрай обмежений. У цьому напрямі перспективною лікарською рослиною з достатньою вітчизняною сировинною базою могли б бути якірці сланкі (*Tribullus terrestris L.*), фітопрепарати з якої традиційно використовуються в лікуванні еректильної дисфункції, атеросклерозу та деяких інших патологічних станів [3–7]. До складу ЛРС якірців сланких входять у значній кількості поліфенольні спо-

луки, фітостероли, стероїдні сапоніни, комплекс макро- та мікроелементів з потенційними протизапальними, антиоксидантними й антимікробними властивостями. На кафедрі хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету в науковому співробітництві з кафедрою фармакогнозії Одеського національного медичного університету отримано та стандартизовано густий екстракт (обмолоченої від плодів трави) якірців сланких (ГЕЯС), вивчено склад БАР та попередньо підтверджено його протизапальну й антимікробну дію [8]. Виходячи з відомих метаболічних ефектів фітозасобів на основі сировини якірців сланких, можна було б очікувати наявність у ГЕЯС й антиоксидантних властивостей, що могло б бути підставою для розширення показань щодо його застосування при більшому переліку захворювань, патогенез яких пов'язаний з активацією вільнорадикальних процесів.

Мета дослідження – вивчити антиоксидантні властивості ГЕЯС за умов *in vitro* та *in vivo* на моделі токсичного тетрахлорметанового гепатиту в щурів.

Матеріали та методи. Досліди проведено на 96 статевозрілих безпородних білих щурах масою 180–200 г, яких утримували в стандартних умовах віварію Одеського національного медичного університету за вільного доступу до води та їжі.

ГЕЯС отримано екстракцією 50 % етанолом у співвідношенні ЛРС : екстрагент (1:10) з наступним його випаровуванням і згущенням [8].

Дослідження антиоксидантної дії ГЕЯС у концентраціях 5, 10, 15, 20 мкг/мл проводили в умовах *in vitro* в модельній системі ліпопротеїдів яєчного жовтка в середовищі рН 7,4, що вміщувало 40 ммоль/л $\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$, 105 ммоль/л KCl , 100 мкмоль/л FeSO_4 , порівняно з α -токоферолом у концентрації 8,0 мкг/мл [9]. Антиоксидантну активність (АОА) ГЕЯС та α -токоферолу визначали за їхньою здатністю гальмувати накопичення ТБК-активних продуктів, що утворилися в результаті Fe^{2+} -індукованого перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК), виражали у відсотках.

Ступінь окиснювальної модифікації білків за умов *in vitro* визначали за реакцією взаємодії окиснених амінокислотних залишків з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням маркерів окисної модифікації білка (ОМБ) – альдегідфенілгідразонів (АФГ), кетонфенілгідразонів (КФГ) за методом В. Halliwell [10]. Спектрофотометрично визначали вміст АФГ, що мають максимум поглинання 274 нм та КФГ з максимумом поглинання за 363 нм. Ступінь ОМБ виражали в умовних одиницях оптичної густини, віднесених на 1 г білка. Визначення загальної кількості білка в пробі проводили біуретовим методом з використанням стандартного набору реактивів.

АОА ГЕЯС і фітозасобів за умов *in vivo* досліджували на моделі гострого токсичного ураження печінки в щурів тетрахлорметаном [11]. У кожній серії експериментів тварини були поділені на 4 групи по 8 тварин у кожній: 1 – інтактна, 2 – група контрольної патології, 3 – тварини, які отримували ГЕЯС у дозі 150 мг/кг, 4 – тварини, які на фоні модельованої патології як препарат порівняння отримували еталонний гепатопротектор Карсил («Sopharma», Болгарія)

у дозі 100 мг/кг. Фітозасоби вводили тваринам внутрішньошлунково впродовж 7 діб до та після відтворення модельної патології. Дозу фітозасобів обирали згідно з інструкцією, використовуючи коефіцієнти видової чутливості. Тварини інтактної групи та групи контрольної патології отримували еквівалентну кількість води очищеної. Через 7 діб після останнього введення тетрахлорметану тварин виводили з експерименту шляхом декапітації.

Вміст продуктів ПОЛ у печінці та сироватці крові визначали за реакцією з ТБК спектрофотометричним методом, принцип якого полягає в здатності малонового діальдегіду (МДА) при взаємодії з тіобарбітуровою кислотою в кислому середовищі за високої температури утворювати забарвлений комплекс червоного кольору, інтенсивність забарвлення якого адекватна вмісту ТБК-активних продуктів. Оптичну густину визначали за довжини хвилі 535 нм. Концентрацію ТБК-активних продуктів виражали в мкмоль/л у сироватці крові та мкмоль/г у гомогенаті печінки [10]. Вміст дієнових кон'югатів (ДК) визначали за методом, який ґрунтується на тому, що екстраговані гептан-ізопропіловою сумішшю ДК мають відповідний максимум поглинання за $\lambda = 232$ нм. Концентрацію ДК виражали в мкмоль/л у сироватці крові та мкмоль/г у гомогенаті печінки [12]. Активність супероксиддисмутизи (СОД) визначали методом, який ґрунтується на здатності ензиму інгібувати відновлення нітросинього тетразолію. Оптичну густину визначали за довжини хвилі 540 нм. Кількість ферменту, яка здатна інгібувати відновлення нітросинього тетразолію на 50 %, приймали за 1 ум. од. активності [13]. Активність

каталази визначали за здатністю ферменту розкласти пероксид водню, залишок якого утворює з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс жовтого кольору. Оптичну густину визначали за 410 нм [14]. Визначення активності глутатіонредуктази здійснювали методом реєстрації зменшення НАДФН (Mannervik B., 2001). Використовували реакційне середовище, яке містить 2 мл 0,05 моль/л фосфатного буфера (рН 8,0), 0,2 мл 1 ммоль/л ЕДТА, 0,5 мл 7,5 ммоль/л GSSG, 0,1 мл 1,2 ммоль/л НАДФН, 0,05–0,2 мл КСІ-супернатанта тканини. Активність ферменту визначали за зменшенням НАДФН протягом 5 хв за довжини хвилі 340 нм [15]. Визначення вмісту відновленого глутатіону (ВГ) здійснювали за допомогою реактиву Елмана [16]. Вміст у гомогенаті печінки α -токоферолу визначали спектрофотометричним методом [17].

Функціональний стан печінки тварин оцінювали за жовчоутворювальною функцією згідно з методичними рекомендаціями [11]. Визначали швидкість секреції жовчі за кожну годину спостереження в мг/хв/100 г, а в жовчі – концентрацію жовчних кислот і холестерину як показників синтетичної функції печінки. Визначення активності аланінамінотрансферази (АЛАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ) у сировотці крові проводили за допомогою стандартних наборів виробництва науково-виробничої фірми «SIMKO Ltd» (м. Львів).

Усі експерименти проведені відповідно до загальних етичних принципів експериментів на тваринах, регламентованих положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р., зі змінами, 1998 р.) та Законом України

від 01.03.2012 № 249 «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах». Отримані дані були статистично оброблені за допомогою Microsoft Excel і пакета програм Statistica 6,0 (StatSoft Inc., США). Визначали нормальність розподілу, використовуючи критерій W Шапіро-Уоліса. За нормального розподілу варіант використовували дисперсійний аналіз ANOVA.

Отримані дані виражали в форматі $M \pm m$. Відмінності вважалися статистично значущими в разі $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Проведені за умов *in vitro* дослідження АОА ГЕЯС у модельній системі ліпопротеїдів яєчного жовтка показали здатність цього фітозасобу знижувати концентрацію продуктів, які реагують з ТБК (табл. 1).

Встановлено, що ступінь інгібування ліпопероксидації в суспензії ліпопротеїдів яєчного жовтка в присутності ГЕЯС у концентрації 5,0 мкг/мл складає $(20,1 \pm 1,9) \%$, за концентрації 8,0 мкг/мл – $(37,0 \pm 4,1) \%$, за концентрації 10,0 мкг/мл – $(40,8 \pm 3,2) \%$, за концентрацій 15,0 мкг/мл і 20,0 мкг/мл – $(53,8 \pm 5,0) \%$ і $(77,6 \pm 5,1) \%$ відповідно. Це вказує на те, що ГЕЯС в умовах *in vitro* виявляє антиоксидантні властивості, виразність яких зростає зі збільшенням концентрації фітозасобу. В еквівалентних концентраціях (8,0 мкг/мл) цей фітозасіб за здатністю інгібувати ПОЛ поступається α -токоферолу ($p = 0,035$), у концентрації 15,0 мкг/мл АОА ГЕЯС і α -токоферолу (8,0 мкг/мл) є співставною ($p = 0,079$), а за концентрації 20,0 мкг/мл ГЕЯС має потужніший антиокиснювальний потенціал, ніж препарат порівняння – $(77,6 \pm 5,1) \%$ проти $(51,4 \pm 4,6) \%$ у α -токоферолу ($p = 0,002$). Це

**Ступінь інгібування процесів ліпопереокиснення в суспензії ліпопротейдів
яєчного жовтка за впливу різних концентрацій густого екстракту
якірців сланких ($M \pm t, n = 8$)**

Умови експерименту	Інгібування ліпопереокиснення, %				
	Концентрація, мкг/мл				
	5	8	10	15	20
α-Токкоферол	–	51,4 ± 4,6	–	–	–
Густий екстракт якірців сланких	20,1 ± 1,9* p < 0,001	37,0 ± 4,1* p = 0,035	40,8 ± 3,2 p = 0,079	53,8 ± 5,0 p = 0,729	77,6 ± 5,1* p = 0,002

Примітка. *Відмінності достовірні порівняно з показником пригнічення ПОЛ α-токоферолом у концентрації 8 мкг/кг.

може свідчити про те, що окремі БАР, які входять до складу ГЕЯС (комплекс фенольних сполук, флавоноїди, стероїдні сполуки тощо), можуть спричиняти пряму антиоксидантну дію за рахунок їхньої безпосередньої взаємодії з вільними радикалами, які накопичуються під впливом Fe^{2+} у ліпопротейдах яєчного жовтка, що цілком узгоджується з результатами інших досліджень [18, 19].

Для більш детальної та поглибленої оцінки антиоксидантних властивостей ГЕЯС додатково визначали його вплив на процеси ОМБ за умов *in vitro*, оскільки відомо, що зазвичай продукти ПОЛ нейтралізуються досить швидко, тоді як окиснені білки піддаються руйнації протягом тривалого часу. ОМБ є однією з ознак окиснювального стресу, який призводить до порушення мембранного потенціалу та процесів деполяризації, десенситизації рецепторів, метаболізму клітини, мітохондріальної дисфункції, надалі – до ініціації апоптозу [20]. Як відомо, АФГ є ранніми, а КФГ – більш пізніми маркерами окиснювального порушення білкової молекули. Експерименти *in vitro* показали, що ГЕЯС має високу здатність пригнічувати процес карбонілювання білків в умовах окиснювального стресу. Встановлено, що присутність у середовищі різних концентрацій

ГЕЯС призводило до достовірного зниження ступеня ОМБ у цитозолі печінки експериментальних тварин. При цьому збільшення концентрації ГЕЯС з 5 мкг/мл до 10 мкг/мл і 20 мкг/мл супроводжується зростанням їхньої здатності гальмувати утворення продуктів ОМБ (табл. 2).

Найбільша здатність знижувати загальний рівень карбонільних похідних за умов *in vitro* була зафіксована за концентрації ГЕЯС 20 мкг/мл і становила щодо зменшення вмісту АФГ – 39,5 % ($P < 0,001$), а КФГ – 54,8 % ($P < 0,001$). Отже, зафіксоване майже дворазове зменшення кількості вторинних маркерів окиснювального стресу – з $(2,94 \pm 0,08)$ ум. од./г білка до $(1,32 \pm 0,06)$ ум. од./г білка ($P < 0,001$), на відміну від первинних маркерів, може опосередковано свідчити про здатність ГЕЯС у зазначеній концентрації пригнічувати агрегацію білків і таким чином протидіяти пізнім порушенням в процесі окиснювального стресу. Подальше збільшення концентрації ГЕЯС до 50 мкг/мл не виявило відповідного додаткового зростання АОА цього фітозасобу. У зазначеній концентрації ГЕЯС зменшував вміст АФГ на 18,9 % ($P < 0,001$), а КФГ – на 29,3 % ($P < 0,001$). Це може вказувати на непрямий антиоксидантний ефект ГЕЯС стосовно ОМБ, а можливо й негативний

Антиоксидантна активність різних концентрацій густого екстракту якірців сланких в умовах *in vitro* за здатністю гальмувати окисну модифікацію білка в тканині печінки ($M \pm m, n = 6$)

Умови експерименту		Показник			
		Альдегід-фенілгідрозони, ум. од./г білка	Анти-оксидантна активність, %	Кетонфеніл-гідрозони, ум. од./г білка	Анти-оксидантна активність, %
Середовище без густого екстракту якірців сланких		3,97 ± 0,11	-	2,94±0,08	-
Концентрація густого екстракту якірців сланких у середовищі, мкг/мл	5	3,48 ± 0,05* p = 0,002	12,3	2,32 ± 0,07# p < 0,001	21,1
	10	2,91 ± 0,12* p < 0,001	26,7	1,97 ± 0,08# p < 0,001	33,0
	20	2,40 ± 0,05* p < 0,001	39,5	1,32 ± 0,06# p < 0,001	54,8
	50	3,22 ± 0,08* p < 0,001	18,9	2,08 ± 0,09# p < 0,001	29,3

Примітка. *Відмінності достовірні порівняно з вмістом АФГ у середовищі без ГЕЯС, #відмінності достовірні порівняно з вмістом КФГ у середовищі без ГЕЯС.

вплив більш високих концентрацій екстрагованих речовин, що входять до складу цього фітозасобу, на активність антиоксидантної системи печінки. Отже, нами встановлено, що БАР у складі ГЕЯС, які мають передусім поліфенольну структуру, характеризуються прямою антиоксидантною дією та шляхом нейтралізації вільних радикалів здатні обмежувати ОМБ за умов *in vitro*.

Тетрахлорметан, як відомо, є класичним мембранотропним токсином, механізм дії якого пов'язаний з активацією вільнорадикального окиснення в мембранах гепатоцитів. Тому модель токсичного тетрахлорметанового гепатиту традиційно використовують для оцінки мембранопротекторних і антиоксидантних властивостей сполук, що досліджуються [11]. Встановлено, що відтворення токсичного гепатиту в щурів супроводжується виразною активацією проце-

сів вільнорадикального окиснення на тлі глибокого пригнічення всіх ланок антиоксидантної системи (табл. 3).

Вміст МДА в печінці та сироватці крові на 7-й день після введення токсину збільшувався порівняно з інтактними тваринами на 156,4 % ($P < 0,001$) і 125,0 % ($P < 0,001$) відповідно, ДК – на 120,2 % ($P < 0,001$) і 170,4 % ($P < 0,001$) відповідно, активність СОД в печінці зменшувалася на 62,2 % ($P < 0,001$), каталази – на 48,0 % ($P < 0,001$), глутатіонредуктази – на 56,2 % ($P < 0,001$). Вміст відновленого глутатіону та рівень α -токоферолу склав 42,5 % ($P < 0,001$) і 54,5 % ($P < 0,001$) відповідно до абсолютного значення цих показників у тканині печінки інтактних тварин.

Наслідком посилення процесів ПОЛ стала деструкція мембран гепатоцитів, цитоліз і ферментемія, про що свідчить достовірне збільшення в сироватці крові тварин групи контрольної

Показники оксидантно-антиоксидантного балансу в печінці та сироватці крові щурів за моделювання токсичного тетрахлорметанового гепатиту та впливу фітозасобів ($M \pm m$, $n = 8$)

Показник	Експериментальна група			
	Інтактні тварини	Контрольна патологія	Контрольна патологія + ГЕЯС, 150 мг/кг	Контрольна патологія + Карсил, 100 мг/кг
Вміст малонового діальдегіду в печінці, мкмоль/г	50,2 ± 3,1	128,7 ± 7,9 *p < 0,001	83,0 ± 5,3 *p < 0,001 #p < 0,001	80,0 ± 4,1 *p < 0,001 #p < 0,001
Вміст малонового діальдегіду в сироватці крові, мкмоль/л	0,48 ± 0,03	1,08 ± 0,08 *p < 0,001	0,75 ± 0,06 *p = 0,001 #p = 0,005	0,77 ± 0,05 *p < 0,001 #p = 0,005
Вміст дієнових кон'югатів у печінці, мкмоль/г	4,10 ± 0,40	9,03 ± 0,71 *p < 0,001	5,70 ± 0,38 *p = 0,012 #p = 0,001	6,21 ± 0,50 *p = 0,005 #p = 0,006
Вміст дієнових кон'югатів у сироватці крові, мкмоль/л	0,071 ± 0,006	0,192 ± 0,060 *p < 0,001	0,104 ± 0,011 *p = 0,020 #p < 0,001	0,128 ± 0,013 *p = 0,001 #p = 0,008
Активність супероксиддисмутази, ум. од./мг білка	13,5 ± 0,4	5,1 ± 0,4 *p < 0,001	9,7 ± 0,4 *p < 0,001 #p < 0,001	8,7 ± 0,6 *p < 0,001 #p < 0,001
Активність каталази, ммольH ₂ O ₂ /хв · г білка	2,04 ± 0,18	1,06 ± 0,08 *p < 0,001	1,76 ± 0,13 *p = 0,228 #p < 0,001	1,70 ± 0,09 *p = 0,113 #p < 0,001
Активність глутатіон-редуктази, мкмоль/хв · мг білка	0,13 ± 0,01	0,057 ± 0,050 *p < 0,001	0,108 ± 0,008 *p = 0,108 #p < 0,001	0,098 ± 0,004 *p = 0,01 #p < 0,001
Вміст глутатіону відновленого, мкмоль/г	0,120 ± 0,01	0,051 ± 0,007 *p < 0,001	0,094 ± 0,006 *p = 0,043 #p < 0,001	0,080 ± 0,006 *p = 0,004 #p = 0,007
Вміст α-токоферолу, мкмоль/г	0,55 ± 0,03	0,30 ± 0,05 *p < 0,001	0,49 ± 0,04 *p = 0,250 #p = 0,010	0,44 ± 0,06 *p = 0,123 #p = 0,095

Примітка. Тут і в табл. 4, 5: *р порівняно з інтактними тваринами, #р порівняно з групою контрольної патології.

патології активності АЛАТ у 2,03 разу ($P < 0,001$), АсАТ у 1,95 разу ($P < 0,001$) (табл. 4).

Це призводило до функціональних змін у печінці тварин в умовах експериментальної патології: швидкість секреції жовчі зменшувалась у 10,6 разу ($P < 0,001$), вміст холестерину та жовчних кислот знижувався на 41,5 % ($P < 0,001$) і 44,4 % ($P < 0,001$) відповідно.

Дослідження показали, що застосування ГЕЯС у дозі 150 мг/кг ефективно запобігало накопиченню продуктів ПОЛ і виснаженню резервів структурних і ферментних антиоксидантів. Завдяки профілактичному введенню цього фітозасобу рівні МДА та ДЖ у печінці та сироватці крові в умовах патології зростали менш виразно, а резерви антиоксидантної системи залишались більш потужни-

Активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів за моделювання токсичного тетрахлорметанового гепатиту та впливу фітозасобів (M ± m, n = 8)

Показник	Експериментальна група			
	Інтактна група	Контрольна патологія	Густий екстракт ячірців сланких, 150 мг/кг	Карсил, 100 мг/кг
Аспартатаміно-трансфераза, ммоль/л · год	0,75 ± 0,05	1,52 ± 0,10 *p < 0,001	0,92 ± 0,05 *p = 0,031 #p < 0,001	0,96 ± 0,07 *p = 0,029 #p < 0,001
Аланінаміно-трансфераза, ммоль/л · год	0,40 ± 0,04	0,78 ± 0,04 *p < 0,001	0,46 ± 0,04 *p = 0,307 #p < 0,001	0,57 ± 0,05 *p = 0,019 #p = 0,005

ми: активність СОД перевершувала відповідний показник групи контрольної патології в 1,90 разу ($P < 0,001$), активність каталази – у 1,66 разу ($P < 0,001$), активність глутатіон-редуктази – у 1,89 разу ($P < 0,001$), вміст ВГ – у 1,84 разу ($P < 0,001$), у той час як рівень α -токоферолу залишався практично на фізіологічному рівні. Профілактичне застосування референс-препарату також сприяло ефективній корекції показників оксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тканині печінки щурів з тетрахлорметановим гепатитом. Однак застосування ГЕЯС в умовах експерименту більш ефективно, ніж карсил, стабілізувало показники ферментемії, зменшуючи її до мінімуму.

Більш активно ГЕЯС коригував й показники функціонального стану печінки. Зокрема під впливом цього фітозасобу в тварин з експериментальним гепатитом швидкість секреції жовчі зростала більше ніж у 7,5 разу – з ($0,27 \pm 0,05$) мг/хв/100 г до ($2,03 \pm 0,20$) мг/хв/100 г ($P < 0,001$). За умов застосування ГЕЯС у тварин з гепатитом вміст жовчних кислот зберігався на рівні 90,6 % ($P < 0,001$) і холестерину в жовчі – на рівні 92,5 % ($p = 0,344$) порівняно з інтактними тваринами, що вказує на його

позитивний вплив на жовчоутворювальну та жовчовидільну функцію печінки (табл. 5).

Отримані результати свідчать про виразні антиоксидантні та гепатопротекторні властивості ГЕЯС, який в умовах експериментальної патології за ефективністю не поступається Карсилу, класичному гепатопротектору з АОА.

Це цілком узгоджується з підтвердженими антиоксидантними властивостями комплексу фенольних і стероїдних сполук, що входять до складу ГЕЯС [6, 18, 19] і відкриває перспективу подальших досліджень з метою розширення показань до його застосування при більш широкому колі патологічних процесів, які супроводжуються надлишковою активацією процесів вільнорадикального окиснення.

Слід зазначити, що фітозасіб ГЕЯС у наших попередніх дослідженнях виявив здатність суттєво пригнічувати окиснювальні процеси і в тканині передміхурової залози за експериментального кріотравматичного простатиту в щурів [21]. Зокрема ГЕЯС відновлював за умов патології масові коефіцієнти передміхурової залози та сім'яних пухирців, сприяв збереженню на рівні, близькому до фізіологічного, показників андрогенного статусу-

Показники функціонального стану печінки щурів за моделювання токсичного тетрахлорметанового гепатиту та впливу фітозасобів ($M \pm m, n = 8$)

Показник	Експериментальна група			
	Інтактна група	Контрольна патологія	Густий екстракт якрців сланких	Карсил
Швидкість секреції жовчі, мг/хв/100 г	2,87 ± 0,45	0,27 ± 0,05 *p<0,001	2,03 ± 0,20 *p=0,110 #p<0,001	0,88 ± 0,16 * p<0,001 #p=0,003
Вміст жовчних кислот, мг%	684,0 ± 9,4	380,4 ± 6,8 *p<0,001	619,7 ± 7,9 * p<0,001 #p<0,001	550,2 ± 6,9 * p<0,001 #p<0,001
Вміст холестерину в жовчі, ммоль/л	0,530 ± 0,038	0,310 ± 0,017* p < 0,001	0,490 ± 0,015 *p = 0,344 #p < 0,001	0,430 ± 0,016 *p = 0,029 #p < 0,001

су організму, що може свідчити про його потенційну простатопротекторну дію. Водночас встановлена в ГЕЯС гепатопротекторна дія може свідчити про можливість більш широкого метаболічного впливу цього фітозасобу на організм порівняно з традиційними простатопротекторами і може бути підставою для створення перспективного препарату з антиоксидантною, гепато- та простатопротекторною дією.

Висновки

1. ГЕЯС в умовах *in vitro* в модельній системі ліпопротеїдів яєчних жовтків у діапазоні концентрацій від 5,0 мкг/мл до 20,0 мкг/мл характеризується прямою антиоксидантною дією, виразність якої зростає зі збільшенням концентрації фітозасобу.
2. Фітозасіб ГЕЯС в умовах *in vitro* демонструє пряму антиоксидантну

дію стосовно гальмування процесів перекисної модифікації білків в діапазоні концентрацій від 5,0 мкг/мл до 50,0 мкг/мл.

3. На моделі токсичного тетрахлорметанового гепатиту в щурів ГЕЯС у дозі 150 мг/кг виявив виразні антиоксидантні властивості, які реалізуються шляхом збереження функціональної активності та природних резервів антиоксидантної системи, що проявляється зменшенням показників цитолізу, ферментемії та відновленням показників жовчотворювальної та жовчовидільної функції печінки.
4. В умовах токсичного гепатиту фітозасіб ГЕЯС у дозі 150 мг/кг не поступається, а за стабілізуючим впливом на окремі показники функціонального стану печінки перевершує гепатопротекторні властивості Карсилу в дозі 100 мг/кг.

1. Antioxidants: positive or negative actors?/ S. Bahare et al. *Biomolecules*. 2018. V. 8 (4). P. 124. <https://doi.org/10.3390/biom8040124>.
2. Henkel R., Agarwal A. Harmful effects of antioxidant therapy. S. Parekattil et al. (eds). Springer, Cham. *Male infertility*. 2020. Jan. P. 845–854. https://doi.org/10.1007/978-3-030-32300-4_68.
3. Effect of *tribulus terrestris* extract on cardiac histomorphology and testicular physiology of rats. I. L. Luciano et al. *Research, society and development* [S. l.], v. 10, n. 10. 2021. P. e180101018634. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i10.18634>. URL: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/18634>.

4. A comprehensive review of the phytochemical, pharmacological, and toxicological properties of *Tribulus terrestris* L. R. Ștefănescu et al. *Biomolecules*. 2020. V. 10 (5). P. 752. <https://doi.org/10.3390/biom10050752>.
5. Effect of *Tribulus Terrestris* in the treatment of female sexual dysfunction and clitoral vascularization. Results of a randomized study comparing two different dosage regimes. F. B. Castro Vale et al. *Journal of sex & marital therapy*. 2021. V. 47. P. 696–706. <https://doi.org/10.1080/0092623X.2021.1938764>.
6. Phytochemical and biological studies of *Tribulus terrestris* L. growing in Egypt. M. A. Nagwa et al. *International Journal of Pharmacology*. 2018. V. 14. P. 248–259. <https://doi.org/10.3923/ijp.2018.248.259>.
7. Naseri L., Akbari M., Khazaei M. A. Review on therapeutic effects of *Tribulus terrestris*. *J. Med. Plants*. 2019. V. 18 (72). P. 1–22. URL: <http://jmp.ir/article-1-2700-en.html>.
8. Кливняк Б. М. Фармакогностичне вивчення якріців сланких (*Tribulus terrestris* L.): автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук: 15.00.02/Нац. фармац. ун-т Харків, 2017. 20 с.
9. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов. Г. И. Клебанов, И. В. Бабенкова, Ю. О. Теселкин и др. *Лаб. дело*. 1988. № 5. С. 59–62.
10. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних лікарських засобів первинної та вторинної нейропротекції: методичні рекомендації; за ред. І. С. Чекмана. Київ, 2016. 92 с.
11. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації; за ред. О. В. Стефанова. Київ: ВД «Авіцена», 2001. 528 с.
12. Колесова О. Е., Маркин А. А., Федорова Т. Н. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах. *Лаб. дело*. 1984. № 9. С. 540–546.
13. Чевари С., Чаба И., Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах. *Лаб. дело*. 1985. № 11. С. 678–684.
14. Метод определения активности каталазы. М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев. *Лаб. дело*. 1988. № 1. С. 16–19.
15. Mannervik B. Measurement of glutathione reductase activity. *Curr. Protoc. Toxicol*. 2001. Chapter 7: Unit 7.2. <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0702s00>. PMID: 23045061.
16. Sedlack J., Lindsay A. L. Estimation of total protein and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellmans reagent. *Anal. Biochem*. 1968. V. 25. P. 192–205.
17. Kayden H. J., Chow C.-K., Bjornson L. K. Spectrophotometric method for determination of tocoferol in red blood cell. *J. lipid res*. 1973. V. 14. P. 533–540.
18. Bioactive compounds, antioxidant, anti-inflammatory, anti-cancer, and toxicity assessment of *Tribulus terrestris* – *in vitro* and *in vivo* studies. W. A. Malik et al. *Antioxidants (Basel)*. 2022. V. 11 (6). P. 1160. <https://doi.org/10.3390/antiox11061160>.
19. Latifa N. A. A., Syed A. Q. Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Tribulus terrestris* L. fruits. *Research J. Pharm. and Tech*. 2021. V. 14 (1). P. 331–336. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2021.00061.5>.
20. Protein oxidation – formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases. R. Kehm et al. *Redox Biol*. 2021. V. 42. P. 101901. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101901>. Epub 2021 Feb 18. PMID: 33744200; PMCID: PMC8113053.
21. Простатопротекторна дія густого екстракту якріців сланких на моделі кріотравми передміхурової залози у щурів. С. І. Юнусова, Я. В. Рожковський, Б. В. Приступа, С. І. Богату. *Фітотерапія. Часопис*. 2022. № 3. С. 78–85. <https://doi.org/10.33617/2522-9680-2022-3-78>.

Конфлікт інтересів відсутній.

С. І. Юнусова, Я. В. Рожковський

Антиоксидантні властивості густого екстракту якріців сланких за умов *in vitro* та *in vivo*

Мета дослідження – вивчити антиоксидантні властивості густого екстракту якріців сланких (ГЕЯС) за умов *in vitro* та *in vivo* на моделі токсичного тетрахлорметанового гепатиту у щурів.

Досліди проведені на 96 статевозрілих безпорідних білих щурах масою 180–200 г, поділених на 4 групи. ГЕЯС отриманий екстракцією 50 % етанолом у співвідношенні лікарська рослинна сировина: екстрагент (1:10) з наступним його випаровуванням і згущенням. Дослідження антиоксидантної дії ГЕЯС у концентраціях 5, 10, 15, 20 мг/мл проводили в умовах *in vitro* в модельній системі ліпопротеїдів яєчного жовтка. Ступінь окиснювальної модифікації білків *in vitro* визначали за реакцією взаємодії окиснених амінокислотних залишків з 2,4-динітрофенілгідразином. Антиоксидантну активність ГЕЯС у дозі 150 мг/кг та препарату порівняння Карсилу (100 мг/кг) за умов *in vivo* досліджували на

моделі гострого токсичного ураження печінки в щурів тетрахлорметаном. Баланс окиснювальних процесів та антирадикального захисту оцінювали за вмістом продуктів перекисного окиснення ліпідів, активністю супероксиддисмутази, каталази, глутатіонредуктази, вмістом відновленого глутатіону та α -токоферолу. У сироватці крові тварин визначали активність аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази. Функціональний стан печінки оцінювали за швидкістю секреції жовчі, концентрацією в ній жовчних кислот і холестерину.

За результатами проведеного дослідження були встановлені виразні антиоксидантні властивості фітозасобу ГЕЯС за умов *in vitro* та *in vivo* на моделі токсичного тетрахлорметанового гепатиту в щурів.

Показано, що фітозасіб ГЕЯС в діапазоні від 5,0 до 50,0 мкг/мл характеризується прямою, залежною від концентрації антиоксидантною дією щодо процесів перекисного окиснення ліпідів і білків в умовах *in vitro*.

На моделі токсичного тетрахлорметанового гепатиту в щурів ГЕЯС у дозі 150 мг/кг сприяє збереженню функціональної активності та природних резервів антиоксидантної системи, зменшує показники цитолізу, ферментемії та відновлює показники жовчоутворювальної та жовчовидільної функції печінки.

Зроблено висновок, що за ефективністю в умовах токсичного гепатиту фітозасіб ГЕЯС у дозі 150 мг/кг не поступається, а за стабілізуючим впливом на окремі показники функціонального стану печінки перевершує гепатопротекторні властивості Карсилу в дозі 100 мг/кг.

Ключові слова: густи екстракт ягідців сланких (*Tribullus Terrestris L.*), антиоксидантна активність

S. I. Yunusova, Ya. V. Rozhkovskyi

Antioxidant activity of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* *in vitro* and *in vivo*

*The purpose of the study was to investigate the antioxidant activity of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* (TETT) *in vitro* and *in vivo* under the model of toxic tetrachloromethane hepatitis in rats.*

Experiments were conducted on 96 sexually mature purebred white rats 180–200 g, divided into 4 groups. A thick extract of threshed grass from the fruits *Tribulus terrestris L.* was obtained by extraction with 50 % ethanol in ratio raw material:solvent (1:10) followed by its evaporation and thickening. Study of the antioxidant effect of TETT in concentrations of 5, 10, 15, 20 $\mu\text{g/ml}$ was carried out *in vitro* in a model system of yolk lipoproteins. The degree of oxidative modification of proteins *in vitro* was determined by reaction of oxidized aminoacid residues with 2,4-dinitrophenylhydrazine. Antioxidant activity of TETT at a dose of 150 mg/kg in comparison with Karsyl (100 mg/kg) was studied *in vivo* under the model of acute toxic liver injury in rats induced by tetrachloromethane. Balance between oxidizing processes and antiradical protection in animals was evaluated by content of lipid peroxidation products, by superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase activities and by reduced glutathione and α -tocopherol contents. The levels of ALT and AST activities were determined in the blood serum of animals. The functional condition of the liver was assessed by the rate of bile secretion and the concentration of bile acids and cholesterol in it.

According to the results of the research, pronounced antioxidant properties of the TETT *in vitro* and *in vivo* on the models of toxic tetrachloromethane hepatitis in rats have been established. It is shown that TETT in the range from 5.0 $\mu\text{g/ml}$ to 20.0 $\mu\text{g/ml}$ has a direct, concentrations dependent antioxidant effect on the processes of peroxidation of lipids and proteins *in vitro*.

On the model of toxic tetrachloromethane hepatitis in rats TETT at a dose of 150 mg/kg contributes to the preservation of functional activity and natural reserves of the antioxidant system, reduces indicators of cytolysis and restores indicators of bile formation and biliary function of the liver.

It was concluded that the effectiveness of the herbal remedy TETT in the conditions of toxic hepatitis is not inferior, and in terms of its stabilizing effect on some indicators of the functional state of the liver, surpasses the hepatoprotective properties of Karsyl at a dose of 100 mg/kg.

Key words: thick extract of *Tribullus Terrestris L.*, antioxidant activity

Джерело фінансування: дисертаційне дослідження, власні кошти.

Надійшла: 11 березня 2023 р.

Прийнята до друку: 26 квітня 2023 р.

Контактна особа: Рожковський Ярослав Володимирович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології та фармакогнозії, Одеський національний медичний університет, буд. 2, Валівський провулок, м. Одеса, 65082. Тел.: + 38 0 482 37 14 91.
Електронна пошта: yarro@ukr.net