

Биол. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 611.36:546.171.1

## ВЛИЯНИЕ ПЕРЕСТУПЕНИЯ БЕЛОГО И ЖЕНЬШЕНЯ НА АММИАКООБРАЗОВАТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС

Ж.А. ПАРОНЯН, Г.А. ТУРЦИЯЦ, Г.С. МИСАКЯН, Г.В. АПРИКЯН

*Институт биохимии НАН Армении, 375014, Ереван*

При инкубации гомогенатов головного мозга образуется определенное количество свободного аммиака. Под действием переступения белого образование свободного аммиака усиливается, вследствие ферментативного деимидирования такого же количества глутамина. Под действием женьшеня образование свободного аммиака особенно не меняется, однако синтез глутаминна заметно усиливается, вероятно, за счет активирования образования аммиака из других источников. В гомогенатах печени переступень и, в особенности, женьшень подавляют образование суммарного аммиака (свободный аммиак + амидоазот глутаминна) через глутаматдегидрогеназный путь. Выявлено, что при применении в терапевтических дозах препараты корней переступения и женьшеня не могут сколько-нибудь заметно усиливать образование свободного аммиака и оказать токсическое действие на организм.

Գլխուղեղի հոմոգենատների ինկուբացիայի ժամանակ առաջանում է որոշակի քանակությամբ ազատ ամոնիակ: Սպիրտակ լուծույթի ազդեցությամբ ազատ ամոնիակի առաջացումը ուժեղանում է զրեթե նույն քանակի գլուտամինի դեզամիդացման հետևանքով: Ժենշենը ամոնիակի առաջացումը զրեթե չի փոխում սակայն ուժեղացնում է գլուտամինի սինթեզը հավանաբար այլ աղբյուրներից ամոնիակի առաջացման խթանման շնորհիվ: Լոշուակը և, հատկապես, ժենշենը լյարդի հոմոգենատներում ճնշում են ընդհանուր ամոնիակի (ազատ ամոնիակ + գլուտամինի միդրոյին ազոտ) առաջացումը գլուտամատդեհիդրոգենազային ուղիով: Ստացված տվյալները վկայում են այն մասին, որ լոշուակը և ժենշենը քերպակտիկ դրոգաներով օգտագործելու դեպքում չեն կարող նշանակալից չափով ամոնիակ առաջացնել ու քունգվոր ազդեցություն ունենալ օրգանիզմի վրա:

During incubation of rat brain homogenates there is formation some amount of free ammonia. *Bryonia alba* increased free ammonia formation via stimulation enzymatic deamidation almost the same amount of glutamine. Ginseng has no significant influence on free ammonia formation but has stimulatory effect on glutamine synthesis probably via enhancement of ammonia formation from other sources. *Bryonia*, especially ginseng has inhibitory effect on total ammonia (free ammonia + amid nitrogen of glutamine) formation in liver homogenates by glutamate dehydrogenase action. Data obtained indicated that *bryonia alba* and ginseng during administration in therapeutic dosages cannot significantly increase ammonia formation and have toxic effect on organism.

### *Переступень белый - женьшень - аммиакообразование*

Переступень белый (*Bryonia alba* L) с древних времен использовался в народной медицине Армении также широко, как женьшень в Китае и Корее, являлся предметом почитания [8]. Корень этого растения как

лекарственное средство был известен в Армении еще в дохристианское время, о нем слагали легенды, его называли королем растений [2]. По другим данным, использование его в народной медицине имеет 2800-летнюю историю [7]. Переступень использовался в Армении при лечении более 40 болезней [11], в том числе, при заболеваниях сердечно-сосудистой, желудочно-кишечной, нервной систем.

Корни этого растения содержат кукурбитацины (тетрациклические тритерпены и их гликозиды) [9, 14, 15], пентациклические тритерпеновые кислоты, стерины и их гликозиды [14], простагландиноподобные вещества [10], сахара, белки, жиры, фосфолипиды, ненасыщенные жирные кислоты, витамины E, C и другие физиологически активные соединения, в том числе незаменимые и заменимые аминокислоты, гамма-аминомасляную кислоту [11]. Таким образом, корень переступня белого является целой аптекой, чем и объясняется широкий спектр его действия. Переступень белый оказался эффективным средством пролонгирования продолжительности жизни, не уступающем в этом отношении знаменитому женьшеню, за что получен патент Российской Федерации [1, 3, 13].

Экстракт корней переступня стимулирует синтез белков и ДНК, повышает количество цАМФ и активность цГМФ-зависимой протеинкиназы и аденилатциклазы, подавляет липидную перекисидацию, стимулирует потребление кислорода митохондриями различных органов, высвобождение нейромедиаторных аминокислот и подавляет их обратный захват синапсоммами головного мозга, регулируя синаптическую трансмиссию [1, 13], в весьма высокой степени повышает  $Mg^{2+}$ - и  $Ca^{2+}$ -АТФ-азную активность и обладает способностью активировать иммунную систему [1, 4].

В литературе отсутствуют данные относительно влияния переступня белого и женьшеня на процессы образования и устранения аммиака, этого весьма токсического для организма соединения. Результаты таких исследований могут быть учтены при рекомендации препаратов этих растений для использования в качестве лечебных средств.

**Материал и методика.** Опыты были поставлены на половозрелых белых крысах породы Вистар массой 120-130 г. Животных быстро декапитировали, извлекали головной мозг без мозжечка или печень и после удаления кровеносных сосудов и остатков крови готовили 10%-ный гомогенат в специально подобранном ионно-К-фосфатном буфере ( $mM$ :  $KH_2PO_4$ - $K_2HPO_4$  - 16,  $MgSO_4$  - 5,  $KCl$  - 20 и  $NaCl$  - 76. Молярность буфера доводил сахарозой до 0,32 M. Для каждой пробы брали по 2 мл гомогената. С целью изучения влияния переступня белого и женьшеня на аммиакообразовательную функцию инкубационным пробам добавляли экстракты, полученные из 10 мг корей. Указанная доза оказалась оптимальной в предыдущих исследованиях [1]. Активность глутаматдегидрогеназы определяли ранее описанным методом [5, 6]. Реакционную смесь инкубировали при 37° в течение 30 мин в атмосфере воздуха. По окончании инкубации белки осаждали 40%-ной трихлоруксусной кислотой (конечную концентрацию доводил до 4%), спустя 30 мин пробы центрифугировали при 3,5 тыс. об/мин и центрифуге K-2 в течение 15 мин и в надосадочной жидкости определяли содержание аммиака и глутамин микродиффузионным методом [12]. Белок определяли по Лоури и соавторов [16]. Содержание реагентов в инкубационной среде составляло в конечных концентрациях:  $mM$ : глутамат 10, малонат 20, витамина K<sub>1</sub> (мендиона) 0,02. Указанные химикаты были приобретены от Sigma Chemical Company, остальные являлись коммерческими.

**Результаты и обсуждение.** Исследования показали, что корни переступня белого и женьшеня содержат определенное количество связанного и свободного аммиака, которое учитывалось при изучении их влияния на аммиакообразовательную функцию (табл. 1).

Таблица 1. Содержание свободного и связанного аммиака в корнях переступня белого и женьшеня, мг / 100 г сухого корня

Переступень белый		Женьшень	
Аммиак		Аммиак	
Свободный	Связанный	Свободный	Связанный
20,2±1,13 (21)*	45,5±4,11 (9)	11,2±0,87 (18)	22,03±1,54 (9)

) в скобках количество опытов.

При инкубации гомогенатов мозга (табл. 2) образуется определенное количество аммиака (6.84 γ N/100 мг белка). Под действием переступня образование аммиака увеличивается на 15.57 γ, что составляет 22.1%. При инкубации гомогената мозга содержание глутамина не подвергается особым изменениям, однако под действием переступня количество глутамина снижается на 14.07 γ. Согласно полученным результатам, прирост свободного аммиака при инкубации гомогенатов под действием переступня происходит за счет усиления дезамидирования глутамина. Действительно, соответствующие расчеты показали, что при инкубации гомогенатов мозга количество суммарного аммиака (свободный аммиак + амидоазот глутамина) заметно увеличивается, однако под действием переступня не подвергается существенным изменениям (табл. 3). Таким образом, под действием переступня глутамин подвергается дезамидированию, за счет чего увеличивается количество свободного аммиака. Данные табл. 2 показывают, что переступень усиливает глутаминазную активность на 20.15%, в результате чего образование свободного аммиака усиливается примерно в той же степени (22,1%).

Таблица 2. Влияние переступня белого и женьшеня на аммиакообразовательную функцию головного мозга белых крыс, γ N/100 мг белка

До инкубации	Состав инкубационной смеси	Аммиак		Глутамин	
		Количество	Разница	Количество	Разница
	Гомогенат	70,44±2,42 (8)		67,23±5,03 (6)	
После инкубации	Гомогенат	77,28±1,06 (8)	+6,84	68,7±5,46	+1,47
	Гомогенат + переступень	92,85±9,0 (8)	+15,57	54,63±2,41 (6)	-14,07
	Гомогенат + женьшень	81,23±2,1 (6)	+3,95	83,48±5,4 (6)	+14,78

Экстракт корней женьшеня, использованный в том же количестве, что и экстракт переступня, приводит к увеличению образования аммиака

лишь на 3,95 γ (5,12%), в то время как количество глутамина на 14,78 γ (23,0%). Нам представляется, что увеличение количества глутамина (табл.2) при невыраженном изменении свободного аммиака является следствием использования аммиака, образовавшегося из других источников. Под действием женьшеня количество суммарного аммиака увеличивается на 18,73 γ, что составляет 12,8% (табл.3).

Таблица 3. Влияние переступня белого и женьшеня на содержание суммарного аммиака (свободный аммиак + амидозот глутамина) в гомогенатах мозга белых крыс, γ N/100 мг белка

До инкубации	Состав инкубационной смеси	Количество суммарного аммиака	Разница
После инкубации	Гомогенат	137,67±6,22 (8)	
	Гомогенат	145,98±8,46 (8)	+8,31
	Гомогенат + переступень	147,48±4,91 (8)	+1,5
	Гомогенат + женьшень	164,7±4,18 (6)	+18,73

Обобщая полученные результаты, можно сделать заключение, что под действием переступня белого не происходит значительного увеличения суммарного аммиака. Обнаруженное увеличение свободного аммиака происходит за счет повышения глутаминазной активности. Увеличение суммарного аммиака под действием женьшеня происходит вследствие увеличения амидозота глутамина, который не может оказывать негативное действие на организм.

В экспериментах по изучению влияния переступня и женьшеня на образование суммарного аммиака через глутаматдегидрогеназный путь использовали малонат, который подавляет переход глутамата в аспарат, ингибируя окисление янтарной кислоты, и вследствие предотвращения обратного транспорта электронов в дыхательной цепи, способствует окислению пиридиннуклеотидных коферментов и, следовательно, окислительному дезаминированию глутамата. Добавление менадиона (витамина K<sub>3</sub>) приводит к неферментативному окислению пиридиннуклеотидных коферментов [5, 6]. Для выявления влияния переступня и женьшеня на активность глутаматдегидрогеназы проводили опыты в разных сериях и в разное время, поэтому исходное количество суммарного аммиака в разных сериях различается.

При инкубировании гомогенатов печени образуется значительное количество суммарного аммиака через глутаматдегидрогеназный путь (в присутствии ГК + малонат + витамин K<sub>3</sub>), которое составляет 22,44 и 22,67 γ от общего N/100 мг белка. Под действием переступня образование суммарного аммиака через глутаматдегидрогеназный путь подавляется на 4,48 γ (3,25%), а под действием женьшеня на 27,5 γ (16,64%). Таким образом, переступень не оказывает выраженного влияния на дезаминирование

глутамата, а женьшень заметно подавляет этот процесс (табл. 4). Полученные результаты позволяют сделать заключение, что переступень и женьшень не способствуют усилению образования аммиака через глутаматдегидрогеназный путь, скорее всего, они оказывают ингибирующее действие, особенно под действием женьшеня.

Таблица 4. Влияние переступня белого и женьшеня на глутаматдегидрогеназную активность в гомогенатах печени белых крыс,  $\gamma$  N/100 мг белка

До инкубации	Состав реакционной смеси	Переступень		Женьшень	
		Количество	Разница	Количество	Разница
	Гомогенат	99,1±1,59 (9)		115,0±1,45 (6)	
После инкубации	Гомогенат	115,63±6,11 (10)	+16,53	142,63±6,5 (6)	+27,63
	Гомогенат + глутамат + малонат + менадион	138,07±4,43 (11)	+22,44	165,3±5,2 (8)	+22,67
	Гомогенат + глутамат + малонат + менадион + переступень(женьшень)	133,59±6,06 (10)	-4,48	137,8±4,7 (8)	-27,5

В наших предыдущих исследованиях было показано, что переступень белый и женьшень оказывают примерно одинаковое пролонгирующее действие на продолжительность жизни белых крыс [1, 3, 4, 13]. Обнаружена также схожесть в механизмах их действия, однако имеются и некоторые различия. Переступень повышает активность протеникиназы С, а женьшень не оказывает заметного влияния на активность этого фермента [1, 4]. В условиях стресса НАДФ-зависимая липидная пероксидация в микросомах мозга крыс под действием переступня подавляется на 35,9%, а женьшень подавляет этот процесс всего на 9,2%. В случае же аскорбатзависимой липидной пероксидации наблюдается обратная картина. В условиях стресса переступень подавляет этот процесс на 24,4%, в то время как женьшень — на 47,3%. В митохондриях мозга в одинаковых условиях переступень стимулирует потребление кислорода до 77%, а женьшень — всего на 31%. В митохондриях сердечной мышцы переступень усиливает потребление кислорода на 94,3%, тогда как женьшень — всего на 35,4% [1, 13].

В заключение следует отметить, что переступень белый повышает содержание свободного аммиака за счет возрастания глутаминазной активности, однако при этом количество суммарного аммиака не претерпевает выраженных изменений, в то время как женьшень существенно не влияет на образование аммиака, но повышает синтез глутамина, увеличивая количество образовавшегося суммарного аммиака. Следовательно, препараты корней этих растений при применении в терапевтических дозах не могут оказывать токсического действия на организм через образование свободного аммиака.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Սպրիկյան Գ.Կ.* Ծերաբանություն. առողջության ամրապնդման և երկարակեցության զաղտնիքները, Երևան, Ջանգալ, 314-341, 2005.
2. *Չարիկյան Կ.* Հայաստանի բուսական աշխարհը, Երուսաղեմ, Սուրբ Հակոբի հրատարակչություն, 1968.
3. *Արիկյան Գ.Վ., Արիկյան Ս.Վ., Մկրտչյան Գ.Ա., Սարգսյան Զ.Բ., Պարոնյան Զ.Ա., Կարամյան Կ.Ս., Կարամյան Լ.Ս.* Всес. Симп. Геронтологические средства, эксп. поиск и клин. использование, тез. и реф. докл. Киев, 9-10, 1990.
4. *Արիկյան Գ.Վ., Լի Դ.Վ., Արաքելյան Լ.Ն., Կնարյան Վ.Ա., Արիկյան Վ.Ս., Կարաջյան Գ.Ա., Սարոնյան Զ.Ա., Սարգսյան Գ.Ա.* Нейрохимия, 15, 3, 318-322, 1998.
5. *Արիկյան Գ.Վ., Մազյան Վ.Ա., Բուրյան Գ.Գ.* ДАН АрмССР, LXI, 1, 54-59, 1975.
6. *Արիկյան Գ.Վ., Մազյան Վ.Ա.* Вопр. биохимии мозга, Изд. АН АрмССР, Ереван, 8, 91-105, 1973.
7. *Արիկյան Ս.Վ.* В сб: Флора, растительность и растительные ресурсы Армянской ССР. Изд. АН АрмССР, Ереван, 171-194, 1981.
8. *Վարձանյան Ս.Ա.* Медицина в древней и средневековой Армении, Изд. Советакан грох, Ереван, 1982.
9. *Սարգսյան Ա.Գ., Ուկրաինսկի Մ.Ն., Մազյան Վ.Ա., Սարգսյան Վ.Ս.* Биохимия, 5, 5, 721-729, 1979.
10. *Սարգսյան Ա.Գ., Ավետիսյան Գ.Մ., Դավթյան Ջ.Բ., Մազյան Վ.Ա.* Биохимия, 5, 5, 242-253, 1979.
11. *Սարգսյան Ա.Օ.* В сб. Лекарственные растения Армении и их лечебные препараты, Изд. АН АрмССР, 1, 73-110, 1949.
12. *Տառնապետյան Ա.Ս., Կոչարյան Գ.Ս., Կարապետյան Ա.* Вопр. мед. химии, 5, 538-545, 1962.
13. *Arpikyan G.V., Paronian J., Armenian A., Arakelian J., Manukian Sh., Arpikyan A.* 48th Annual Scientific meeting: Gerontologic challenges: Biological through societal perspectives in: The Gerontologist, 35, Special issue 1, p.243, 1995.
14. *Biglino G.* Ann. Chim. (Roma) 49, 4, 782-792, 1959.
15. *Lavie D., Glotter E.* Fortschr. Chem. Org. Naturst., Bd. 29, 307-362, 1971.
16. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* J. Biol. Chem. 193, 265-275, 1951.

Поступила 01.1.2006