

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ PHARMACOLOGY AND PHARMACY

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ *Orostachys spinosa* ЭКСТРАКТА СУХОГО ПРИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Разуваева Я.Г.,
Торопова А.А.,
Баяндуева Е.А.,
Николаева И.Г.

ФГБУН «Институт
общей и экспериментальной
биологии» СО РАН (670047, г. Улан-Удэ,
ул. Сахьяновой, 6, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Разуваева Янина Геннадьевна,
e-mail: tatur75@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Orostachys spinosa* (L.) Sweet – многолетнее растение, имеющее широкий ареал произрастания и содержащее различные метаболиты (аминокислоты, флавоноиды, полисахариды и др.). Извлечения из надземной части растения используются в традиционной медицине в качестве противосудорожного и седативного средства.

Цель работы. Исследовать нейропротективные свойства *O. spinosa* при холинергической недостаточности.

Материалы и методы. Исследования проведены на 52 крысах линии Wistar. Животным ежедневно в течение 21 дня вводили скополамин (1 мг/кг), далее в течение 14 дней – *per os* *O. spinosa* экстракт сухой в дозе 100 мг/кг. На 32-е сутки у животных вырабатывали условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ), сохранность которого проверяли через 1, 24 и 72 часа; на 35-е сутки тестировали в «открытом поле». На 36-е сутки проводили биохимические и гистологические исследования головного мозга.

Результаты. Установлено, что *O. spinosa* на фоне скополаминовой интоксикации снижает тревожность животных, стимулирует исследовательскую активность в «открытом поле», улучшает выработку и сохранность УРПИ, а также снижает количество функционально неактивных нейронов (пикнотических и «клеток-теней») в коре больших полушарий головного мозга. Экстракт снижает соотношение лактат/пируват на 47 %, интенсифицирует активность митохондриальных комплексов I и II на 54–64 %, увеличивает концентрацию аденозинтрифосфата в 1,6 раза по сравнению с контролем. *O. spinosa* проявляет антиоксидантные свойства, снижая содержание малонового диальдегида, повышая активность каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы в головном мозге.

Заключение. *O. spinosa* экстракт сухой оказывает нейропротективное действие при холинергическом дефиците. Исследуемый экстракт проявляет антиоксидантные свойства и стимулирует энергетические процессы в головном мозге.

Ключевые слова: *Orostachys spinosa* (L.) Sweet, экстракт сухой, нейропротективное действие, скополамин гидрохлорид, холинергическая недостаточность

Для цитирования: Разуваева Я.Г., Торопова А.А., Баяндуева Е.А., Николаева И.Г. Исследование нейропротективных свойств *Orostachys spinosa* экстракта сухого при холинергической недостаточности. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 213-221. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.21

Статья поступила: 07.12.2023

Статья принята: 14.06.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

NEUROPROTECTIVE EFFECT OF *OROSTACHYS SPINOSE* DRY EXTRACT IN CHOLINERGIC INSUFFICIENCY

Razuvaeva Ya.G.,
Toropova A.A.,
Bayandueva E.A.,
Nikolaeva I.G.

Institute of General and Experimental
Biology, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences
(Sakhyanova str. 6, Ulan-Ude 670047,
Russian Federation)

Corresponding author:
Yanina G. Razuvaeva,
e-mail: tatur75@mail.ru

ABSTRACT

Background. *Orostachys spinosa* (L.) Sweet. – a perennial plant of a wide habitat and contains various metabolites (amino acids, flavonoids, polysaccharides, etc.). Extracts from the aerial part of the plant are used in traditional medicine as an anticonvulsant and sedative.

The aim of the work. To study the neuroprotective effect of *O. spinosa* in cholinergic deficiency.

Materials and methods. The studies were carried out on 52 Wistar rats. The animals were administered scopolamine (1 mg/kg) daily for 21 days, followed by *O. spinosa* dry extract per os at a dose of 100 mg/kg for 14 days. On the day 32, the animals developed a conditioned passive avoidance reflex (CPAR), the integrity of which was checked after 1, 24 and 72 hours; on the day 35 they were tested in an "open field". On the day 36, biochemical and histological studies of the brain were carried out.

Results. It has been established that *O. spinosa*, against the background of scopolamine intoxication, reduces the anxiety of animals, stimulates exploratory activity in the open field test, improves the production and preservation of the CPAR, and also reduces the number of functionally inactive neurons (pyknotic and shadow cells) in the cerebral cortex. The extract reduces the lactate/pyruvate ratio by 47 %, intensifies the activity of mitochondrial complexes I and II by 54–64 %, and increases the concentration of adenosine triphosphate by 1.6 times compared to the control. *O. spinosa* exhibits antioxidant properties by reducing malondialdehyde and increasing the activity of catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase in the brain.

Conclusion. *O. spinosa* dry extract has a neuroprotective effect in cholinergic deficiency. The studied extract exhibits antioxidant properties and stimulates energy processes in the brain.

Key words: *Orostachys spinosa* (L.) Sweet, dry extract, neuroprotective effect, scopolamine hydrochloride, cholinergic insufficiency

Received: 07.12.2023
Accepted: 14.06.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Razuvaeva Ya.G., Toropova A.A., Bayandueva E.A., Nikolaeva I.G. Neuroprotective effect of *Orostachys spinosa* dry extract in cholinergic insufficiency. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 213-221. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.21

По данным Всемирной организации здравоохранения, в мире наблюдается демографическое старение населения, вследствие чего возрастает количество церебральных и нейродегенеративных заболеваний, а деменция и депрессия входят в число самых распространённых болезней пожилых людей [1]. Всё это обуславливает необходимость разработки новых подходов к поиску рационального лечения и профилактики заболеваний нервной системы. В профилактике неврологических заболеваний заслуживают внимания лекарственные препараты растительного происхождения, способные благодаря значительному разнообразию метаболитов оказывать полимодальное влияние на организм [2].

В данном аспекте представляют интерес растения рода *Orostachys*. Так, извлечения *O. japonicas*, применяющегося в японской и корейской традиционных медицинах в качестве адаптогенного средства, оказывают ингибирующее действие в отношении ацетилхолинэстеразы [3], проявляют антиоксидантное действие [4], а также ограничивают апоптоз нейронов [5]. Аналогичными свойствами отличается другое многолетнее растение семейства толстянковых – *Orostachys spinosa* (L.) Sweet, – используемое в народной и традиционной медицинах разных народов при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, дыхательной и нервной систем [6]. Основными действующими соединениями *O. spinosa* являются аминокислоты, флавоноиды, кумарины, полисахариды, жирные кислоты и др. [7]. По данным экспериментальных исследований, жидкий экстракт из травы *O. spinosa* проявляет анксиолитические, ноотропные, антигипоксические и стресс-протективные свойства [8–10]. Из надземной части *O. spinosa* был получен сухой экстракт, для которого свойственно постоянство состава [11], проявляющий нейропротективные свойства при экспериментальной ишемии головного мозга [12]. В связи с этим интерес представляет оценка нейропротективных свойств *O. spinosa* экстракта сухого при моделировании нейродегенеративного заболевания.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить нейропротективное влияние *Orostachys spinosa* экстракта сухого при холинергическом дефиците.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 52 крысах линии Wistar массой 200–220 г. Содержание животных соответствовало Правилам надлежащей лабораторной практики (GLP, good laboratory practice) и Постановлению Правительства РФ № 855 от 13.06.2020. Исследовательскую работу проводили в соответствии с «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 1986). Протокол исследования согласован с этическим комитетом ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (№ 2 от 01.12.2020).

Объектом исследования служил сухой экстракт, полученный из надземной части *O. spinosa* путём последовательной трёхкратной экстракции измельчённого сырья 10%-м этиловым спиртом при температуре 60 °C с последующей фильтрацией, упариванием и вакуумной сушкой [8]. Экстракт стандартизирован по содержанию суммы свободных аминокислот в пересчёте на глутаминовую кислоту, которых должно быть не менее 3,0 %.

В качестве препарата сравнения использовали экстракт листьев *Ginkgo biloba* (танакан, таблетки; Beaufour Ipsen Industrie, Франция). В основе действия препаратов *G. biloba* лежат антиоксидантные свойства, способность нормализовать нейромедиаторные и энергетические процессы в головном мозге [13].

Для моделирования хронического холинергического дефицита животным контрольной и опытных групп в течение 21 дня вводили внутривентриально скополамин гидрохлорид в дозе 1 мг/кг [14]. Скополамин гидрохлорид рассматривают в качестве неселективного антагониста мускариновых рецепторов, вызывающего когнитивные нарушения и электрофизиологические изменения в головном мозге, сходные с таковыми при естественном старении и болезни Альцгеймера [15]. Скополамин также вызывает ряд клеточных изменений, включая нарушение системы антиоксидантной защиты, повышенный окислительный стресс, митохондриальную дисфункцию, апоптоз и нейровоспаление [16].

Животные были разделены на четыре группы. Первую опытную группу составляли крысы ($n = 13$), которым после 21-дневной инъекции скополамина вводили внутрижелудочно 1 раз в сутки в течение 14 дней *O. spinosa* экстракт сухой в дозе 100 мг/кг в форме водного раствора в объёме 10 мл/кг. По аналогичной схеме животным второй опытной группы ($n = 13$) вводили экстракт *G. biloba* в дозе 100 мг/кг, животным контрольной группы ($n = 12$) – воду в объёме 10 мл/кг. У животных интактного контроля ($n = 14$) холинергическую недостаточность не моделировали, им вводили внутривентриально в течение 21 дня физиологический раствор, далее – внутрижелудочно в течение 14 дней воду в объёме 10 мл/кг.

На 32-е сутки животных обучали в тесте «условный рефлекс пассивного избегания» (УРПИ) [14]; проверку условного рефлекса проводили через 1, 24 и 72 часа. На 35-е сутки животных тестировали в «открытом поле» [14]. На 36-е сутки после начала введения исследуемого экстракта животных декапитировали под эфирным наркозом, извлекали головной мозг для проведения биохимических и гистологических исследований.

Интенсивность процессов перекисного окисления липидов определяли по содержанию малонового диальдегида (МДА) [17]; состояние антиоксидантной системы – по активности каталазы (КАТ) [18], глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГР) [19]. Влияние исследуемого средства на энергетические процессы в головном мозге оценивали по содержанию аденозинтрифосфата (АТФ) [20], активности NADH-дегидрогеназы (комплекс I) и сукцинатдегидрогеназы (комплекс II) [21, 22]. По активности пируваткиназы (PK, pyruvate kinase) [23] и содержанию лактата и пирувата

в гомогенате головного мозга [20] характеризовали интенсивность гликолиза.

Срезы головного мозга для проведения гистологического исследования изготавливали по стандартной методике на микротоме MC-2 (СПЕКТРОЛАБ, Россия), затем окрашивали крезильовым фиолетовым по Нисслю [24]. Во II–V слоях фронтальной коры головного мозга подсчитывали количество нейронов, которые дифференцировали на нормохромные, интенсивно гипохромные, интенсивно гиперхромные (пикнотические) и «клетки-тени».

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica for Windows 6.0 (StatSoft Inc., США). Соответствие анализируемых признаков закону нормального распределения оценивали, используя критерий Шапиро – Уилка. Статистическую значимость различий между данными групп определяли с помощью t-критерия Стьюдента при условии, что выборка имеет нормальное распределение; с помощью критерия Манна – Уитни – если данные не подчиняются нормальному распределению вероятности. Данные представлены в виде среднего арифметического (M) и ошибки среднего арифметического (m). Для сравнения количества животных в груп-

пах сравнения использовали ф-критерий углового преобразования Фишера. Различия между опытными и контрольной группами считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты тестирования животных в «открытом поле» показали, что скополамин угнетает у животных двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность (рис. 1), что снижает введение экстракта *O. spinosa*. Так, у животных, которым вводили экстракт *O. spinosa*, количество заходов в центральные квадраты установки повысилось в 2,1 раза, вертикальных стоек и заглядываний в «норки» – в среднем в 1,7 раза относительно контрольных показателей. При этом у животных 2-й опытной группы количество центральных квадратов и норковый рефлекс были выше, чем в контроле, в 1,6 и 1,3 раза соответственно. На фоне длительного введения скополамина у животных 1-й опытной группы количество актов груминга снизилось в 1,6 раза в сравнении с контрольным значением (рис. 1).

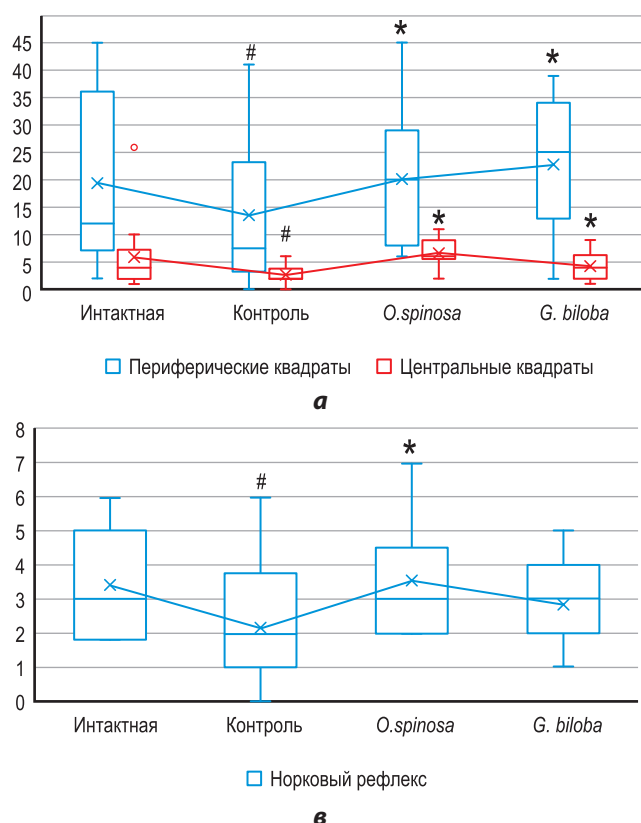


РИС. 1.

Показатели поведения крыс Wistar в тесте «открытое поле» при холинергической недостаточности: **а** – горизонтальная активность; **б** – вертикальная активность; **в** – норковый рефлекс; **г** – показатели тревожности. Статистическую значимость различий определяли с помощью критерия Манна – Уитни: # – различия статистически значимы относительно показателей интактной группы при $p \leq 0,05$; * – различия статистически значимы относительно показателей контрольной группы при $p \leq 0,05$

FIG. 1.

Behavioral indicators of Wistar rats in the open field test in cholinergic insufficiency: **a** – horizontal activity; **б** – vertical activity; **в** – mink reflex; **г** – anxiety indicators. Statistical significance of differences was determined using Mann – Whitney test: # – the differences are statistically significant compared to the indicators of the intact group at $p \leq 0,05$; * – the differences are statistically significant compared to the indicators of the control group at $p \leq 0,05$

При введении экстракта *O. spinosa* УРПИ сформировался у 100 % животных и сохранился через 24 и 72 часа у 92 и 77 % животных соответственно (рис. 2). Во 2-й опытной группе условный рефлекс сформировался так же, как в контрольной группе, у 75 % животных, при этом к 3-м суткам он сохранился у всех этих животных, тогда как в контроле – только у 50 %.

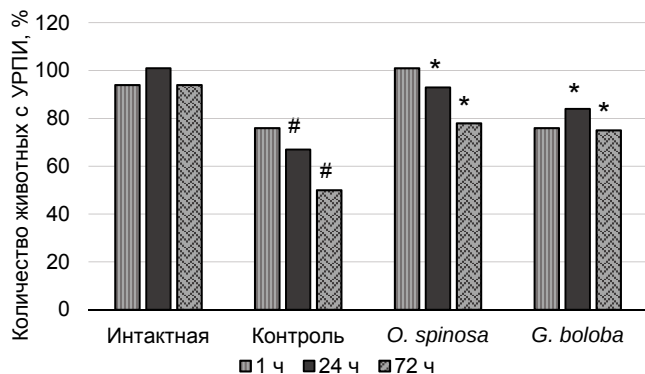


РИС. 2.

Количество крыс Wistar с выработанным условным рефлексом пассивного избегания при холинергической недостаточности. Статистическую значимость различий между группами оценивали с помощью ϕ -критерия улового преобразования Фишера: # – различия статистически значимы относительно показателей интактной группы при $p \leq 0,05$; * – различия статистически значимы относительно показателей контрольной группы при $p \leq 0,05$

FIG. 2.

Number of Wistar rats with a conditioned passive avoidance reflex in cholinergic insufficiency. Statistical significance of differences was determined using Fisher's ϕ test: # – the differences are statistically significant compared to the indicators of the intact group at $p \leq 0.05$; * – the differences are statistically significant compared to the indicators of the control group at $p \leq 0.05$

Установлено, что многократные инъекции скополамина приводят к редукции энергетического потенциала клеток головного мозга, что связано со снижением интенсивности анаэробных и аэробных процессов (рис. 3, 4). Согласно данным, представленным на рисунке 3, активность РК в гомогенате головного мозга контрольных животных снизилась на 25 %, содержание пирувата – на 22 % по сравнению с показателями животных интактного контроля. На фоне уменьшения концентрации пирувата уровень лактата в головном мозге контрольных животных составил $2,5 \pm 0,19$ мкмоль/г ткани, что выше на 42 % интактного показателя. Вследствие этого соотношение лактат/пируват в контроле повысилось в 2,4 раза, достигнув показателя $17,6 \pm 0,88$ (рис. 3). Также в контроле двукратно снизились активности митохондриальных комплексов I и II, вследствие чего концентрация АТФ в головном мозге составила $0,7 \pm 0,08$ мкмоль/г ткани, что в 2,4 раза ниже интактно-го значения (рис. 4).

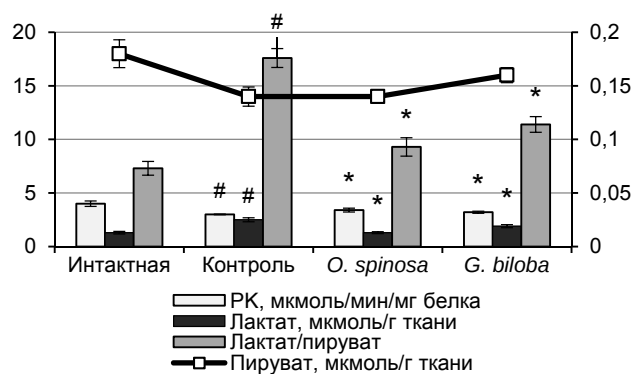


РИС. 3.

Показатели процесса гликолиза в головном мозге крыс Wistar при холинергической недостаточности. Данные представлены в виде среднего арифметического (M) и ошибки среднего арифметического (m). Статистическую значимость различий между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента: # – различия статистически значимы относительно показателей интактной группы при $p \leq 0,05$; * – различия статистически значимы относительно показателей контрольной группы при $p \leq 0,05$

FIG. 3.

Glycolysis indicators in the Wistar rats brain in cholinergic insufficiency. Data are presented as arithmetic mean (M) and arithmetic mean error (m). Statistical significance of differences was determined using Student's t test: # – the differences are statistically significant compared to the indicators of the intact group at $p \leq 0.05$; * – the differences are statistically significant compared to the indicators of the control group at $p \leq 0.05$

На фоне применения сухого экстракта *O. spinosa* активность РК увеличилась только на 13 %, а содержание пирувата практически соответствовало таковому у контрольных животных (рис. 3). При этом уровень лактата у животных 1-й опытной группы был ниже на 48 % контрольного показателя и соответствовал таковому у животных интактного контроля. В результате этого соотношение лактат/пируват у животных данной опытной группы было ниже на 47 %, чем в контроле, тогда как во 2-й опытной группе – на 35 %. Активности митохондриальных комплексов I и II у крыс, которым вводили экстракт *O. spinosa*, были выше на 57 и 64 %, экстракт *G. biloba* – на 87 и 20 % соответственно, чем в контроле (рис. 4). Вследствие этого содержание АТФ в головном мозге животных опытных групп увеличилось в среднем в 1,6 раза по сравнению с контрольным показателем.

Нарушения энергетического обмена, развивающиеся при холинергической недостаточности, способствуют усилению выработки свободных радикалов, а также угнетению активности ферментов антиоксидантной системы [16], что приводит к необратимым процессам и гибели нейронов. Так, у животных контрольной группы на фоне увеличения содержания МДА (в 2,2 раза) наблюдается снижение активности антиоксидантных ферментов: КАТ на 42 %, ГПО на 67% и ГР на 52 %, – относительно показателей у животных интактного контроля (табл. 1).

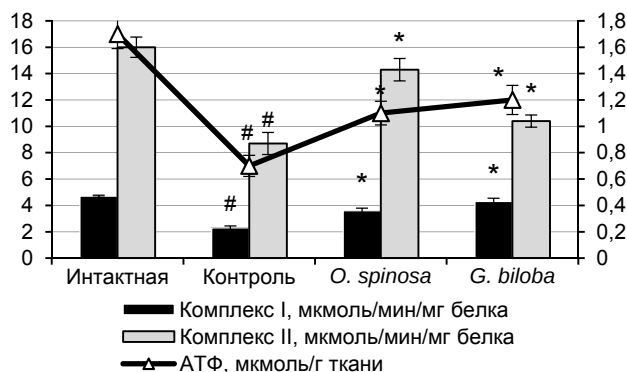


РИС. 4.

Активность митохондриальных комплексов I и II и содержание АТФ в головном мозге крыс Wistar при холинергической недостаточности. Данные представлены в виде среднего арифметического (M) и ошибки среднего арифметического (m). Статистическую значимость различий между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента: # – различия статистически значимы относительно показателей интактной группы при $p \leq 0,05$; * – различия статистически значимы относительно показателей контрольной группы при $p \leq 0,05$

FIG. 4.

Activity of mitochondrial complexes I and II and ATP content in the Wistar rats brain in cholinergic insufficiency. Data are presented as arithmetic mean (M) and arithmetic mean error (m). Statistical significance of differences was determined using Student's t test: # – the differences are statistically significant compared to the indicators of the intact group at $p \leq 0.05$; * – the differences are statistically significant compared to the indicators of the control group at $p \leq 0.05$

На фоне введения экстрактов отмечалось снижение концентрации МДА в гомогенате головного мозга на 25–30 % по сравнению с контрольным показателем. Активность ферментов – КАТ, ГПО и ГР – в ткани головного мозга животных 1-й опытной группы повысилась на 36, 78 и 32 %, 2-й опытной группы – на 67, 68 и 34 % соответственно по сравнению с таковыми у контрольных животных.

Патоморфологические исследования коры больших полушарий показали, что на фоне длительного введения скополамина гидрохлорида большинство нейронов II–V слоёв уменьшались в размерах, ядра и цито-

плазма выглядели однородно окрашенными, верхушечный дендрит истончался и прослеживался на продолжительном расстоянии, «винтообразно извиваясь» (рис. 6а). В среднем количество интенсивно гиперхромных нейронов во II–V слоях было больше на 77 % относительно интактного показателя, составив $10,6 \pm 1,35$ % от общего количества нейронов (рис. 5). Также наблюдали большее количество «клеток-теней» (на 48 %); у данных нейронов отмечали кариолизис на фоне гомогенной вследствие хроматолиза цитоплазмы. Большинство «клеток-теней» были подвержены сателлитозу и нейронофагии.

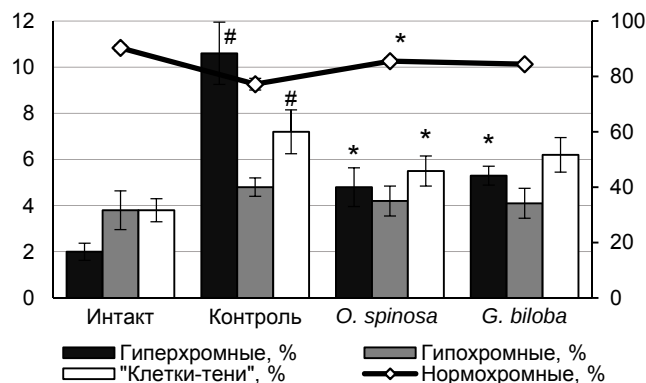


РИС. 5.

Морфометрические показатели нейронов коры больших полушарий головного мозга крыс Wistar при холинергической недостаточности. Данные представлены в виде среднего арифметического (M) и ошибки среднего арифметического (m). Статистическую значимость различий между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента: # – различия статистически значимы относительно показателей интактной группы при $p \leq 0,05$; * – различия статистически значимы относительно показателей контрольной группы при $p \leq 0,05$

FIG. 5.

Morphometric parameters of neurons in the cerebral cortex of Wistar rats in cholinergic insufficiency. Data are presented as arithmetic mean (M) and arithmetic mean error (m). Statistical significance of differences was determined using Student's t test: # – the differences are statistically significant compared to the indicators of the intact group at $p \leq 0.05$; * – the differences are statistically significant compared to the indicators of the control group at $p \leq 0.05$

ТАБЛИЦА 1

ПОКАЗАТЕЛИ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС WISTAR ПРИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ, M $\pm$ m

Группа	МДА, мкмоль/г ткани	КАТ, мкмоль/мин/г ткани	ГПО, нмоль/мин/мг белка	ГР, нмоль/мин/мг белка
Интakтная	8,4 $\pm$ 0,55	11,0 $\pm$ 0,70	49,2 $\pm$ 2,50	63,1 $\pm$ 6,36
Контроль	18,7 $\pm$ 0,97 [#]	6,4 $\pm$ 0,12 [#]	16,4 $\pm$ 1,10 [#]	30,2 $\pm$ 2,01 [#]
O. spinosa	14,0 $\pm$ 1,15 [*]	8,7 $\pm$ 0,34 [*]	29,2 $\pm$ 1,78 [*]	40,0 $\pm$ 1,11 [*]
G. biloba	13,0 $\pm$ 1,19 [*]	10,7 $\pm$ 0,30 [*]	27,5 $\pm$ 2,10 [*]	40,4 $\pm$ 2,40

Примечание. Статистическую значимость различий определяли с помощью t-критерия Стьюдента: # – различия статистически значимы относительно показателей интактной группы при $p \leq 0,05$; * – различия статистически значимы относительно показателей контрольной группы при $p \leq 0,05$.

TABLE 1

INDICATORS OF THE PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEM OF THE WISTAR RATS BRAIN IN CHOLINERGIC INSUFFICIENCY, M $\pm$ m

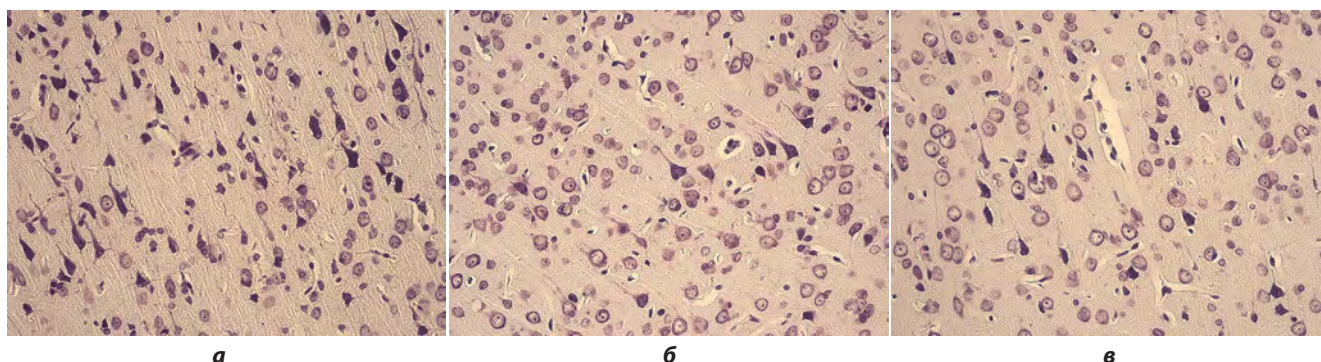


РИС. 6.

Микрофотографии коры больших полушарий головного мозга крыс Wistar при холинергической недостаточности (окраска крезильовым фиолетовым по Нисслю, увеличение $\times 200$):

а – контроль; **б** – *O. spinosa*; **в** – *G. biloba*

FIG. 6.

Microphotographs of Wistar rats cerebral cortex in long-term cholinergic insufficiency (Nissl cresyl violet staining, magnification $\times 200$): **a** – control; **b** – *O. spinosa*; **v** – *G. biloba*

У животных, получавших оцениваемые экстракты, патоморфологическая картина коры больших полушарий не выглядела так «мозаично» как у животных контрольной группы. Пикнотические нейроны выявлялись единично, в большинстве случаев только в III и V слоях (рис. 6б, в). Их количество в среднем было в 2,0 раза ниже, чем в контроле. «Клетки-тени» и сопровождающие их процессы сателлитоза и нейронофагии отмечались значительно реже, однако во всех слоях коры больших полушарий. Вследствие снижения общего количества регрессивных нейронов число нормохромных клеток у животных 1-й опытной группы было на 11 % выше, чем в контроле.

Таким образом, сухой экстракт *O. spinosa* на фоне длительной холинергической недостаточности оказывает антиамнестическое действие и нормализует эмоциональное состояние животных; в частности он улучшает формирование и сохранность условных рефлексов, а также стимулирует ориентировочно-исследовательскую активность. Экстракт *O. spinosa* повышает устойчивость головного мозга к токсическому действию скополамина, ограничивая количество регрессивных форм нейронов (гиперхромных и «клеток-теней») и увеличивая количество функциональных нейронов в коре больших полушарий. Нейропротективное действие *O. spinosa* экстракта связано с его способностью влиять на функциональную активность НАДН-дегидрогеназных и сукцинатдегидрогеназных комплексов дыхательной цепи митохондрий, корректировать процессы аэробного гликолиза, снижать содержание продуктов МДА, повышать интенсивность эндогенной антиоксидантной системы за счёт повышения активности ферментов (ГПО, ГР и КАТ) в головном мозге.

Выявленный нейропротективный эффект сухого экстракта *O. spinosa* обусловлен наличием в нём различных соединений, среди которых доминируют флавоноиды, аминокислоты, полисахариды и кумарины. Метаболиты *O. spinosa* способствуют торможению дисфункции холинергической системы и окислительного стресса. Так, на скополаминовой модели Альцгеймера выраженную нейропротективную активность показал мирицетин

[25]. Данный флавоноид проявляет антиамнестическое действие в условиях нарушений когнитивных функций, вызванных хроническим стрессом [26], а также на фоне введения стрептозотоцина [27] и D-галактозы [28]. Нейропротективное действие проявляет идентифицированный в *O. spinosa* флавоноид лютеолин. Лютеолин снижает когнитивную дисфункцию у крыс в условиях моделирования болезни Альцгеймера за счёт удаления свободных радикалов кислорода, повышения антиоксидантного потенциала, снижения экспрессии NF- κ B и BACE1, а также уменьшения отложения A β [29]. Определённый вклад в нейропротективное действие исследуемого экстракта вносят кумарины, которые благодаря антиагрегантным, антикоагулянтным свойствам способствуют нормализации церебрального кровотока. Также нейропротективное действие кумаринов реализуется за счёт ингибирования окислительного стресса и нейровоспаления [30]. Аминокислоты и полисахариды, содержащиеся в экстракте *O. spinosa*, также обладают фармакотерапевтической эффективностью при лечении заболеваний нервной системы посредством различных механизмов, включая ингибирование окислительного стресса, нейровоспаления, клеточного апоптоза и эксайтотоксичности [31, 32].

ВЫВОДЫ

Таким образом, сухой экстракт *O. spinosa* проявляет нейропротективные свойства при длительном введении скополамина, препятствуя развитию у животных «тревоги», улучшая процессы обучения и памяти на фоне ограничения изменений в нейронах коры больших полушарий головного мозга. Нейропротекторное действие сухого экстракта *O. spinosa* связано с его способностью стимулировать активность антиоксидантной системы и метаболические процессы в головном мозге.

Финансирование

Исследования проведены в рамках выполнения темы государственного задания по проекту FWSM-2021-0005 (№ государственной регистрации 121030100227-7).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. World Health Organization. *Ageing and health*. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health> [date of access: 01.11.2023].
2. Bommakanti V, Puthenparambil Ajikumar A, Sivi CM, Prakash G, Mundanat AS, Ahmad F, et al. An overview of herbal nutraceuticals, their extraction, formulation, therapeutic effects and potential toxicity. *Separations*. 2023; 10(3): 177. doi: 10.3390/separations10030177
3. Kim JH, Lee SH, Lee HW, Sun YN, Jang WH, Yang SY, et al. (-)-Epicatechin derivate from *Orostachys japonicus* as potential inhibitor of the human butyrylcholinesterase. *Int J Biol Macromol*. 2016; 91: 1033-1039. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.06.069
4. Lee JH, Lee SJ, Park S, Kim HK, Jeong WY, Choi JY, et al. Characterisation of flavonoids in *Orostachys japonicus* A. Berger using HPLC-MS/MS: Contribution to the overall antioxidant effect. *Food Chem*. 2011; 124(4): 1627-1633. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.08.031
5. Hassan MHA, Elwekeel A, Moawad A, Afifi N, Amin E, Amir DE. Phytochemical constituents and biological activity of selected genera of family *Crassulaceae*: A review. *S Afr J Bot*. 2021; 141(2021): 383-404. doi: 10.1016/j.sajb.2021.05.016
6. Буданцев А.Л., Лесиовская Е.Е. *Дикорастущие полезные растения России*. СПб: СПФХА; 2001. [Budantsev AL, Lesiovskaya EE. *Wild-growing useful plants of Russia*. St. Petersburg; 2001. (In Russ.)].
7. Николаева И.Г., Цыбиктарова Л.П., Николаева Г.Г., Манжигеев П.Г. Фитохимическое исследование надземной части горноколючника колючего. *Вопросы обеспечения качества лекарственных средств*. 2018; 22(4): 52-56. [Nikolaeva IG, Tsybiktartarova LP, Nikolaeva GG, Manzhigeev PG. The phytochemical investigation of the aerial part of *Orostachys spinosa* (L.) Sweet. *Journal of Pharmaceuticals Quality Assurance Issues*. 2018; 22(4): 52-56. (In Russ.)].
8. Усов Л.А., Левента А.И., Одинец А.Д. Анксиолитические и мнемотропные эффекты извлечений из горноколючника и рододендрона Адамса в эксперименте на лабораторных животных. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2010; 96(5): 125-128. [Usov LA, Leventa AI, Odinets AD. Anxiety and memorable effects of extract from *Orostachis spinosa* and *Rhododendron Adamsii* in experiment on laboratory animals. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)*. 2010; 96(5): 125-128. (In Russ.)].
8. Одинец А.Д., Левента А.И., Щукин Д.А., Шабатурова О.В. К антигипоксическому действию препаратов из растительного сырья Байкальской Сибири. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2011; 104(5): 112-115. [Odinets AD, Leventa AI, Shukin DA, Shabaturova OV. Antihypoxic action of preparations from vegetable raw materials of the Baikalian Siberia. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)*. 2011; 104(5): 112-115. (In Russ.)].
10. Одинец А.Д., Усов Л.А., Изатулин А.В., Левента А.И., Шабатурова О.В. Влияние препаратов из горноколючника колючего и рододендрона Адамса на течение стресс-реакции

экспериментальных животных. *Acta biomedica scientifica*. 2010; 76(6): 175-181. [Odinets AD, Usov LA, Izatulin AV, Leventa AI, Shabaturova OV. Influence of the preparations of *Orostachys spinosa* (pallas) Fich. And *Rhododendron adamsii* Rhed. on a course of stress-reaction of experimental animals. *Acta biomedica scientifica*. 2010; 76(6): 175-181. (In Russ.)].

11. Николаева И.Г., Хобракова В.Б., Разуваева Я.Г., Николаева Г.Г., Николаев С.М., Цыбиктарова Л.П., и др. *Способ получения средства, обладающего нейропротективной, иммуномодулирующей активностью*: Пат. 2784435 Рос. Федерация; МПК A61K 36/41 (2006.01), A61K 127/00 (2006.01), A61K 133/00 (2006.01), A61K 135/00 (2006.01), A61P 25/00 (2006.01), A61P 37/02 (2006.01), B01D 11/02 (2006.01); заявитель и патентообладатель ФГБУН ИОЭБ СО РАН. № 022113385; заявл. 18.05.2022; опубл. 25.11.2022. Бюл. № 33. [Nikolaeva IG, Khobrakova VB, Razuvaeva YaG, Nikolaeva GG, Nikolaev SM, Tsybiktartarova LP, et al. *Method for producing a drug with neuroprotective, immunomodulatory activity*: Patent No. 2784435 of the Russian Federation. 2022. (3). (In Russ.)]
12. Разуваева Я.Г., Баяндуева Е.А., Торопова А.А., Николаева И.Г. Оценка противоишемического действия экстракта сухого *Orostachys spinosa* при билатеральной окклюзии общих сонных артерий у белых крыс. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2022; 25(7): 3-8. [Razuvaeva YaG, Bayandueva EA, Toropova AA, Nikolaeva IG. Studying of the anti-ischemic effect of *Orostachys spinosa* dry extract in carotid arteries bilateral occlusion in white rats. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2022; 25(7): 3-8. (In Russ.)]. doi: 10.29296/25877313-2022-07-01
13. Nowak A, Kojder K, Zielonka-Brzezicka J, Wróbel J, Bosicki M, Fabiańska M, et al. The use of *Ginkgo biloba* L. as a neuroprotective agent in the Alzheimer's disease. *Front Pharmacol*. 2021; 12: 775034. doi: 10.3389/fphar.2021.775034
14. Миронов А.Н. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. М.: Гриф и К; 2012. [Mironov AN. *Guidelines for conducting preclinical studies of drugs*. Moscow: Grif i K; 2012. (In Russ.)].
15. Bajo R, Pusil S, López ME, Canuet L, Pereda E, Osipova D, et al. Scopolamine effects on functional brain connectivity: A pharmacological model of Alzheimer's disease. *Sci Rep*. 2015; 5: 9748. doi: 10.1038/srep09748
16. Tang KS. The cellular and molecular processes associated with scopolamine-induced memory deficit: A model of Alzheimer's biomarkers. *Life Sci*. 2019; 233: 116695. doi: 10.1016/j.lfs.2019.116695
17. Камышников В.С. *Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике*. М.: МЕДпресс-информ; 2009. [Kamyshnikov VS. *Handbook of clinical and biochemical studies and laboratory diagnostics*. Moscow: MEDpress-inform; 2009. (In Russ.)].
18. Гирин С.В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах. *Лабораторная диагностика*. 1999; 4: 45-46. [Girin SV. Modification of the method for determining catalase activity in biological substrates. *Laboratory diagnostics*. 1999; 4: 45-46. (In Russ.)].
19. Pinto RE, Bartley W. The effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase activities and aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. *Biochem J*. 1969; 112(1): 109-115. doi: 10.1042/bj1120109

20. Прохоров М.И. (ред.). *Методы биохимических исследований*. Л.: Изд-во ЛГУ; 1982. [Prokhorov MI (ed.). *Methods of biochemical research*. Leningrad: Publishing House of Leningrad State University; 1982. (In Russ.)].
21. Pollard AK, Craig EL, Chakrabarti L. Mitochondrial complex 1 activity measured by spectrophotometry is reduced across all brain regions in ageing and more specifically in neurodegeneration. *PLoS One*. 2016; 11(6):e0157405. doi: 10.1371/journal.pone.0157405
22. Spinazzi M, Casarin A, Pertegato V, Salviati L, Angelini C. Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells. *Nat Protoc*. 2012; 7(6): 1235-1246. doi: 10.1038/nprot.2012.058
23. Osterman J, Fritz PJ, Wuntch T. Pyruvate kinase isozymes from rat tissues. *J Biol Chem*. 1973; 248(3): 1011-1018.
24. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. *Основы гистологической техники*. СПб.: СпецЛит; 2010. [Korzhevsky DE, Gilyarov AV. *Fundamentals of histological techniques*. St. Petersburg: SpetsLit; 2010. (In Russ.)].
25. Wang B, Zhong Y, Gao C, Li J. Myricetin ameliorates scopolamine-induced memory impairment in mice via inhibiting acetylcholinesterase and down-regulating brain iron. *Bioch Biophys Res Comm*. 2017; 490(2): 336-342. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.06.045
26. Wang QM, Wang GL, Ma ZG. Protective effects of myricetin on chronic stress-induced cognitive deficits. *Neuroreport*. 2016; 27(9): 652-658. doi: 10.1097/WNR.0000000000000591
27. Li J, Xiang H, Huang C, Lu J. Pharmacological actions of myricetin in the nervous system: A comprehensive review of preclinical studies in animals and cell models. *Front Pharmacol*. 2021; 12: 797298. doi: 10.3389/fphar.2021.797298
28. Lei Y, Chen J, Zhang W, Fu W, Wu G, Wei H, et al. *In vivo* investigation on the potential of galangin, kaempferol and myricetin for protection of d-galactose-induced cognitive impairment. *Food Chem*. 2012; 135(4): 702-707. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.07.043
29. Kou JJ, Shi JZ, He YY, Hao JJ, Zhang HY, Luo DM, et al. Luteolin alleviates cognitive impairment in Alzheimer's disease mouse model via inhibiting endoplasmic reticulum stress-dependent neuroinflammation. *Acta Pharmacol Sin*. 2022; 43(4): 840-849. doi: 10.1038/s41401-021-00702-8
30. Barchestani ZN, Rafieirad M. The effect of herniarin on spatial working memory, pain threshold, and oxidative stress in ischemic hypoperfusion model in rats. *Caspian J Neurol Sci*. 2021; 7(1): 42-50. doi: 10.32598/CJNS.7.24.5
31. Xu XL, Li S, Zhang R, Le WD. Neuroprotective effects of naturally sourced bioactive polysaccharides: An update. *Neural Regen Res*. 2022; 17(9): 1907-1912. doi: 10.4103/1673-5374.335142
32. Zhu Y, Wang R, Fan Z, Luo D, Cai G, Li X, et al. Taurine alleviates chronic social defeat stress-induced depression by protecting cortical neurons from dendritic spine loss. *Cell Mol Neurobiol*. 2023; 43(2): 827-840. doi: 10.1007/s10571-022-01218-3

Сведения об авторах

Разуваева Янина Геннадьевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, e-mail: tatur75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7829-1424>

Торопова Анюта Алексеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, e-mail: anyuta-tor@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2618-7777>

Баяндиева Елена Александровна – аспирант, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, e-mail: baynduev@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0009-4748-0068>

Николаева Ирина Геннадьевна – доктор фармацевтических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, e-mail: i-nik@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3476-1014>

Information about the authors

Yanina G. Razuvaeva – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory for the Safety of Biologically Active Substances, Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: tatur75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7829-1424>

Anyuta A. Toropova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory for the Safety of Biologically Active Substances, Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: anyuta-tor@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2618-7777>

Yelena A. Bayanduyeva – Postgraduate, Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: baynduev@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0009-4748-0068>

Irina G. Nikolaeva – Dr. Sc. (Pharm.), Docent, Senior Research Officer at the Laboratory for the Safety of Biologically Active Substances, Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: i-nik@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3476-1014>