Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн биологийн идэвхт бодисын агууламж болон бэлгийн сулралын эмгэг загварт үзүүлсэн зарим үр дүн

Б.Ширчинмаа[1], Ч.Чимэдрагчаа[2], А.Ану[2], У.Мядагбадам[2], Ч.Батнайрамдал[3]

[1]АШУҮИС, Монгол Анагаах Ухааны Олон Улсын Их Сургууль
[2]Уламжлалт Анагаах Ухааны Технологийн Хүрээлэн
[3]АШУҮИС, Монгол Анагаах Ухааны Төв эмнэлэг
Цахим шуудан: Shirchinmaadr@gmail.com, Утас: 88088993

Түлхүүр үг:
Чөлөөт радикал
Үл орлогдох амин хүчил
Фенолт нэгдэл
Бэлгийн сулрал

Товч утга:

Үндэслэл: Уламжлалт анагаах ухааны эм найрлага, эмт бодис, амьтны гаралтай түүхий эдийг дэлхий дахинд ашигласаар ирсэн. Эрэгтэйчүүдийн бэлгийн сулрал, доройтолд уламжлалт жор найрлага судлагдсаар байгаа хэдий ч Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн биологийн идэвхт бодисын агууламж болон бэлгийн сулралын эмгэг загварт үзүүлэх нөлөөг судалсан ажил ховор байгаа энэхүү судалгааны үндэслэл боллоо. **Зорилго:** Анти-Импотенци-4 ургамал, амьтны гаралтай бэлдмэлд агуулагдах биологийн идэвхит бодис болон хэт исэлдэтийн эсрэг нөлөөг судлах. **Арга, аргачлал:** Туршилтад вистар үүлдвэрийн 58 эр хархыг эрүүл, хяналт, харьцуулах, туршилт гэсэн 6 бүлэгт хуваан Peng Zou (2019) нарын арга зүйн дагуу архаг стресс үүсгэв. Архаг стрессийг санамсаргүй байдлаар өдөрт 1 удаа 56 хоногийн турш үүсгэсэн. Судалгааны төгсгөлд хэт исэлдэлтийг фермент холбоот урвалаар тодорхойлов. Харин Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн метанолын ханданд агуулагдах найрлагыг тодорхойлохдоо хэт идэвхт шингэний хроматографи–масс спектрометрийн (UPLC-MS) эерэг ион болон сөрөг ионы горимын хроматограмм шинжилгээний аргыг хэрэглэсэн. **Үр дүн:** Архаг стрессээр үүсгэгдсэн бэлгийн сулралын эмгэг загварт ДНХ-ийн гэмтлийн 8-гидрокси-2′-дезоксигуанозин (8-OHdG)-ийн хэмжээг Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн 42 мг/кг, 84 мг/кг, 210 мг/кг тундаа 13.3-32.5%-иар, МДА-ийн хэмжээнд эмчилгээний тундаа 7.9-23.7%-иар *(p<0.05)* бууруулсан байна. исэлдэлтийг хориглох фермент болох СОД-ийн хэмжээнд Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн 42 мг/кг тундаа 34.1%-иар, 84 мг/кг тундаа 38.1%-иар, 210 мг/кг тундаа 44.6%-иар тус тус *(p<0.05)* нэмэгдсэн. Харин Глютатионы хэмжээнд 37.0-55.4%-иар статистик үнэн магадлалтай ихэссэн байна. Биологийн идэвхит бодисын хувьд өндөр нарийвчлалт шингэний хроматографи–масс спектрометрийн эерэг ионы горимоор 6 төрлийн амин хүчил, флавоноид болон иридоидын ангилалд хамаарах нийт 10 төрлийн нэгдлийг таньж тодорхойлов. UPLC-MS-ийн сөрөг ионы горимын аргыг ашигласан шинжилгээгээр амин хүчил, нүүрс ус, органик хүчил, өөхний хүчил, флавоноид болон фенолт нэгдэл зэрэг нийт 18 төрлийн биологийн идэвхит бодисыг илрүүлсэн. **Дүгнэлт:** Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн метанолын ханданд амин хүчил, пурины уламжлал, нуклеозид, нүүрс-ус, органик болон өөхний хүчил, флавоноид, фенолт нэгдэл, иридоид зэрэг биологийн идэвхит бодисууд агуулагдаж байгааг илрүүлэв. Архаг стрессээр үүсгэгдсэн бэлгийн сулралд Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийг хэрэглэхэд Супероксиддисмутаза, Глютатионыг нэмэгдүүлж, 8-гидрокси-2′-дезоксигуанозин, МДА-ыг бууруулж байгаа нь хэт исэлдэлтийн эсрэг нөлөөтэй байгааг тодорхойлогдов.

Үндэслэл: Бэлгийн сулрал нь дэлхийд 3-76.5% хооронд хэлбэлздэг ч 40–70 насны эрэгтэйчүүдэд Итали улсад 46.9%, Хятад улсад 47.5%, АНУ-д 45.7% байгааг мэдээлсэн байна.[1] Сэтгэлзүйн хүчин зүйлс, тухайлбал стресс, түгшүүр болон сэтгэл гутрал зэрэг нейропсихологийн стрессүүд нь төв мэдрэлийн тогтолцооны үйл ажиллагааг өөрчилж, судасны цусны урсгал болон дааврын тэнцвэрт нөлөөлөх замаар хөвчрөлтийн үйл явцыг алдагдуулдаг байна.[2,3]

Исэлдэлтийн стресс гэдэг нь чөлөөт радикал (ROS)-ын үйлдвэрлэл ба антиоксидант хамгаалалтын хооронд тэнцвэргүй байдал юм. Энэ нь эсийн липид, протеин, ДНХ-д гэмтэл үүсгэж, эндотелийн үйл ажиллагааг алдагдуулдаг.[4]

Уламжлалт анагаах ухааны сурвалж судруудад бэлгийн доройтолд таван үндэс, ванлаг, дажид, цагаан бөөр (хярзан, төмсөг)-өөр голлон махны шөл, бурам, архиар хөллөглөн хэрэглэх талаар тэмдэглэгдсэн байдаг.Бэлгийн доройтолд өргөн хэрэглэгддэг Ванлаг (Эрхтний гар) ургамлын үндэсний хандны 10−6 моль/л концентрацид арктигенин, лаппаол А, лаппаол F агуулагддаг бөгөөд антиоксидант үйлчилтэй болохыг нотолгоожуулсан байдаг.[5]

Мөн Мухар цагааны үндэсний ханд нь BV-2 эсэд малондиалдегидийн (**МДА**) хэт их экспресс болон супероксиддисмутазын (СОД) экспрессийг дарангуйлдаг байна.[6] Иймээс Анти-Импотенци-4 бэлдмэлд агуулагдах биологийн идэвхт бодисыг илрүүлэн, хэт исэлдэлтийн эсрэг үйлдлийг нотолгоожуулах зайлшгүй шаардлагатай байна.

Зорилго: Архаг стрессээр үүсгэгдсэн бэлгийн сулралд Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн хэт исэлдэлтийн эсрэг нөлөө болон бэлдмэлд агуулагдах биологийн идэвхт бодисыг илрүүлэх

Зорилт:

1. Архаг стрессийн бэлгийн сулралд Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн хэт исэлдэлтийн эсрэг нөлөөг судлах
2. Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн метанолын хандад агуулагдах зарим биологийн идэвхт бодисыг илрүүлэх

Арга, аргачлал: Судалгааг Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их Сургуулийн Монгол Анагаах Ухааны Олон Улсын Их Сургуулийн Уламжлалт Жор Судлалын Тэнхим болон БНХАУ-ын Өвөр Монголын Олон Улсын Монгол Эмнэлгийн Хорооны харьяа Хятад, Монголын эм, эмчилгээ судлалын хүрээлэнгийн туршилтын төвд түшиглэн хийсэн.

Туршилтын амьтан: Туршилтанд Хятад, Монголын эм, эмчилгээ судлалын хүрээлэнгийн виварт үржүүлж буй харьцангуй эрүүл 200-250 гр жинтэй 50 толгой Вистар үүлдрийн харх ашигласан. Туршилтын хугацаанд амьтдыг виварын хэвийн нөхцөлд (20±2^{0}C) байлгаж, ердийн тэжээлээр хооллосон. АШУҮИС-ийн Анагаах ухааны судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны 2024 оны 06 сарын 14-ний хурлаар судалгааг хийх ёс зүйн зөвшөөрөл (№2024/3-06) авсан.

Архаг стрессээр өдөөсөн бэлгийн сулрал үүсгэсэн арга зүй: Туршилтыг вистар үүлдэрийн харьцангуй эрүүл 200-250 грамм жинтэй 58 толгой хархыг эрүүл, хяналт, харьцуулах, туршилт I, II, III гэсэн 6 бүлэгт хуваан *Peng Zou* (2019)[7] нарын арга зүйн дагуу архаг стресс үүсгэсэн. Архаг стрессийг үүсгэхдээ туршилтын хархыг 48 цаг хоолгүй байлгах, 24 цаг усгүй байлгах, 2 цаг биеийн хөдөлгөөнийг хязгаарлах, сүүлнээс 1 минут дүүжлэх, 45^0 хазгай саванд байлгах, шөнийн гэрэлтүүлэгтэй хонуулах, 5 минут хүйтэн усанд (4^{0}C) сэлүүлэх зэрэг стресс үүсгэх төрлүүдээс нэг аргыг санамсаргүй байдлаар сонгон 56 хоногийн турш үргэлжүүлсэн. Туршилтын бүлэгт Анти-Импотенци-4 бэлдмэлээс 42 мг/кг, 84 мг/кг, 210 мг/кг-аар биеийн жинд тооцсон бол харьцуулах бүлэгт ДГЭА (DHEA) 5.2 мг/кг-аар эрүүл бүлэгт зориулалтын цэвэр саванд байлган, ердийн тэжээлээр хооллон ус өгч байсан. Туршилтын төгсгөлд амьтдаас цусны дээж авч фермент холбоот урвалын (ELISA) шинжилгээгээр 8-гидрокси-2′-дезоксигуанозин (OHdG), Малондиальдегид (МДА), Супероксид дисмутаза (СОД), Глютатион (GSH) зэрэг антиоксидант үзүүлэлтүүдийг тодорхойлсон.

Биологийн идэвхт бодисыг илрүүлсэн арга зүй: Бид Анти-Имотенци-4 бэлдмэлд агуулагдах биологийн идэвхт бодисыг UPLC-MS аргаар илрүүлсэн.[8] Хроматографийн шинжилгээг дөрвөн элементийн шахуурга, хийгүйжүүлэх машин, автомат дээж авагч, термостатик хяналттай баганын камертай хэт өндөр хүчин чадалтай шингэн хроматографийн систем дээр хийсэн. 1г дээжийг 0.0001 нарийвчлалтайгаар жинлэн 25 мл багтаамжтай хэмжээст колбонд авч 50%-ийн метанолын уусмалаас 25 мл нэмэн хэт авианы баннанд 30 минут хандлан 10 минут хурилтуурдав. Ялгах ажиллагааг ACQUITY UPLC дээр гүйцэтгэсэн. Хөдөлгөөнт фаз нь уусгагч А (H_2O дахь 0.1%-ийн шоргоолжны хүчил) болон уусгагч В (ацетонитрил дахь 0.1%-ийн шоргоолжны хүчил: метанол, 9:1)-аас бүрдсэн бөгөөд элюцийн градиентыг ашигласан. Градиентыг 0-40 минут 94-6%, 41-43 минут 5%, 43-45 минут 6% байдлаар гүйцэтгэсэн. SCIEX X500R өндөр нарийвчлалтай масс спектрометрийг ашиглан мэдээлэлд суурилсан өгөгдөл цуглуулах горим (IDA)-оор ионы өгөгдлийг цуглуулсан. Цахилгаан шүршилтэт ионжуулалтын эх үүсвэр (ESI)-ийг эерэг болон сөрөг ионы горимд тус тус ашиглан хэмжилт хийсэн.[9]

Үр дүнгийн статистик боловсруулалт: Судалгааны ажлын үр дүнг арифметик дундаж (M), стандарт хазайлт (δ), стандарт алдаа (m), итгэмжлэх хязгаар (95%) тооцож дундаж тооны ялгааны үнэн магадлалыг T-test, One way ANOVA, Two way RM-ANOVAтестээр шалган боловсруулалтыг Graph pad Prism 9.0 программыг ашиглан хийж гүйцэтгэсэн.

Үр дүн:

1. Архаг стрессээр үүсгэгдсэн бэлгийн сулралын эмгэг загварт Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн хэт исэлдэлтэнд үзүүлсэн үр дүн: Бид 1-р зорилтын хүрээнд бэлгийн сулралын эмгэг загварын үед хэт исэлдэлтийн процесст Анти-Импотенци-4 бэлдэлийн нөлөөг судлахдаа эрүүл хяналтын бүлгийн үзүүлэлтийг

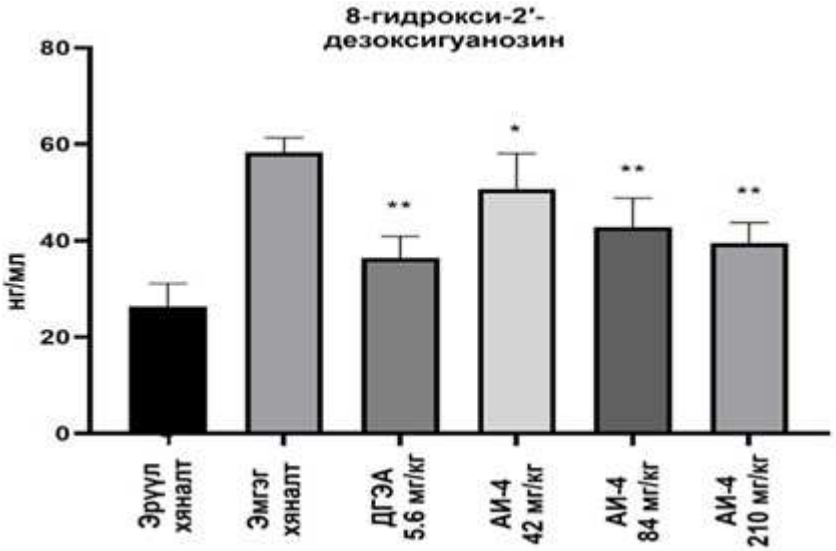
эмгэг хяналтын бүлэгтэй харьцуулан, эмчилгээний бүлгүүдийн үзүүлэлтийг эмгэг хяналтын бүтэгтэй харьцуулан тодорхойлов.

Хүснэгт 1. Архаг стрессээр үүсгэгдсэн бэлгийн сулралын үеийн Анти-Импотенци-4 бэлдэлийн хэт исэлдэлтэнд үзүүлсэн нөлөө

Бүлэг	8-OHdG (нг/мл)	МДА (нмоль/л)	СОД (пг/мл)	GSH (нг/мл)
Эрүүл хяналт	26.2 ±4.85	2.7±0.32	640.7±59.4	8.7±0.78
Эмгэг хяналт	58.3 ± 3.05$^{\#\#}$	3.8±0.37$^{\#}$	259.2±23.8$^{\#\#}$	2.9±0.76$^{\#\#}$
ДГЭА 5.6 мг/кг	36.4 ± 4.47**	3.1±0.40*	473.9±67.8**	7.4±0.44**
Анти-Импотенци-4 42 мг/кг	50.6 ± 7.37*	3.5±0.32	393.2±48.6**	4.6±0.62**
Анти-Импотенци-4 84 мг/кг	42.8 ± 5.9**	3.5±0.44	418.2±61.2**	5.5±0.83**
Анти-Импотенци-4 210 мг/кг	39.4 ± 4.3**	2.9±0.45*	467.3±55.4**	6.5±0.92**

Тайлбар: *One way ANOVA-Tukey post test; $^{\#}p<0.05$, $^{\#\#}p<0.01$ vs эрүүл бүлэгтэй харьцуулахад; *p<0.05, **p<0.01, vs хяналын бүлэгтэй харьцуулахад*

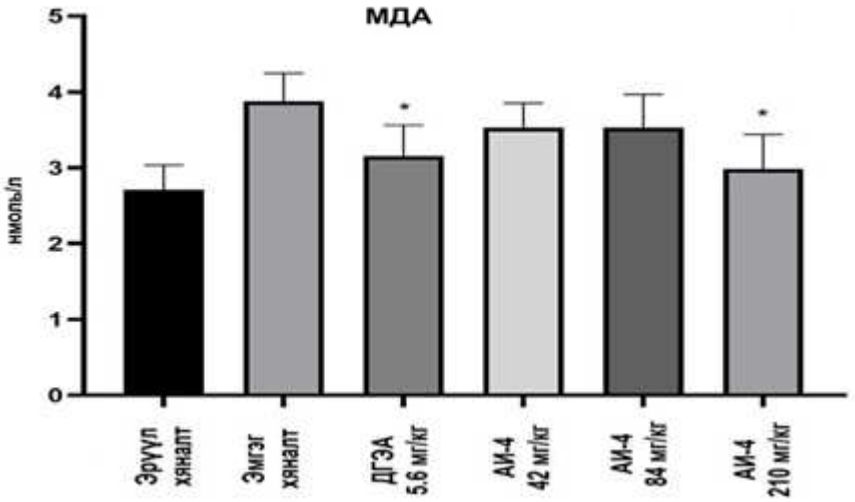
Туршилтын амьтанд архаг стрессээр үүсгэгдсэн бэлгийн сулралын эмгэг загварт хэт исэлдэлтийн стрессийн үзүүлэлтүүдийг үнэлэхэд, эмгэг хяналтын бүлэгт ДНХ-ийн исэлдэлтийн маркер болох 8-гидрокси-2′-дезоксигуанозин (8-OHdG)-ний үзүүлэлт 56.4%-иар, липидийн хэт исэлдэлтийн үзүүлэлт МДА-ийн хэмжээ 29.0%-иар эрүүл хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад статистик үнэн магадлалтайгаар ($p<0.05$) нэмэгдсэн нь ажиглагдлаа. Үүний зэрэгцээ хэт исэлдэлтийг хориглох ферментүүд болох СОД болон GSH-ны түвшин эмгэг хяналтын бүлэгт статистик үнэн магадлалтайгаар ($p<0.05$) буурсан байв. (Хүснэгт 1)



Зураг 1. Архаг стрессээр үүсгэгдсэн бэлгийн сулралын эмгэг загварын хархны сийвэнгийн 8-гидрокси-2′-дезоксигуанозины харьцуулсан дүн

One-way ANOVA Tukey post test; $^{\#\#}p<0.01$ vs эрүүл бүлэгтэй харьцуулахад; **p<0.01 vs хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад

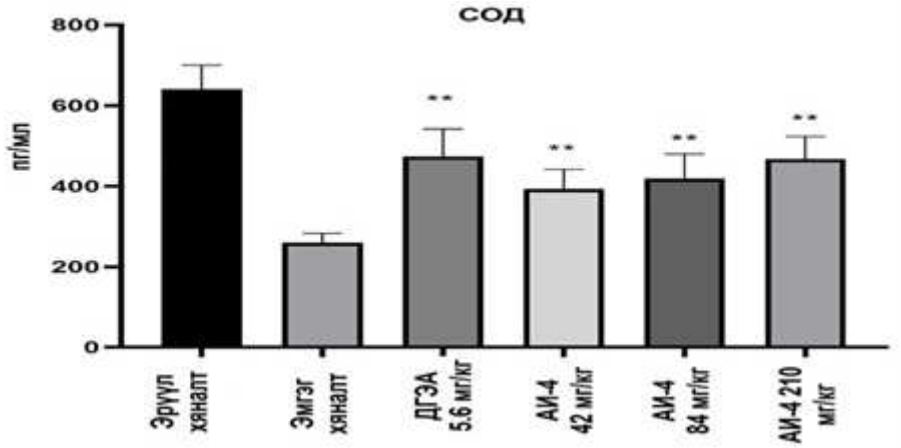
Харин 8-гидрокси-2′-дезоксигуанозин (8-OHdG)-ийн хэмжээг харьцуулах бүлгийн ДГЭА (DHEA) 5.6 мг/кг тунгаар өгсөн бүлгийн амьтдыг эмгэг хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад 37.6%-иар, Анти-Импотенци-4 бэлдэлийн 42 мг/кг тундаа 13.3%-иар, 84 мг/кг тундаа 26.6%-иар, 210 мг/кг тундаа 32.5%-иар *($p<0.05$)* ДНХ-ийн исэлдэлтийн гэмтлээс хамгаалж байгаа нь тодорхойлогдлоо.(Зураг 1)



Зураг 2. Архаг стрессээр үүсгэгдсэн бэлгийн сулралын үеийн хархны сийвэнгийн МДА-ийн харьцуулсан дүн

One-way ANOVA- Tukey post test; #p<0.05 vs эрүүл бүлэгтэй харьцуулахад;
*p<0.05 vs хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад

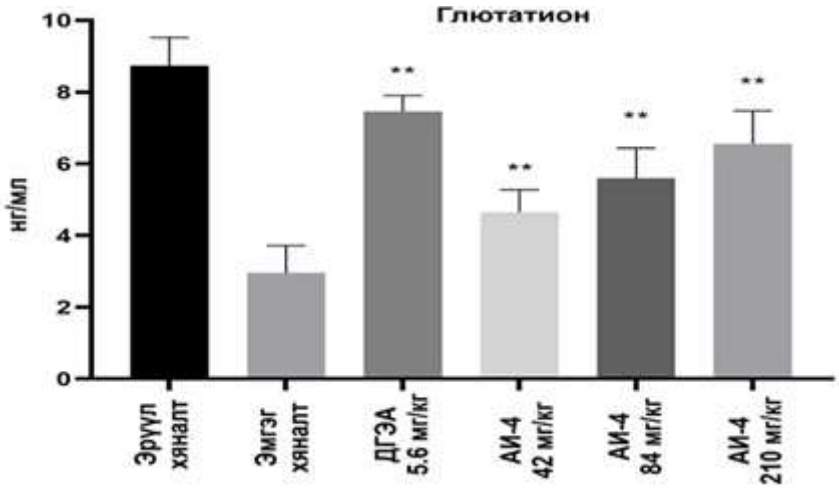
Липидийн хэт исэлдэлтийн маркер болох МДА-ийн хэмжээнд харьцуулах бүлгийн ДГЭА (DHEA) 5.6 мг/кг тунгаар өгсөн бүлгийн амьтдыг эмгэг хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад 18.5%-иар, харин эмчилгээний бүлгийн 42 мг/кг болон 84 мг/кг тундаа ижилхэн 7.9%-иар, Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн 210 мг/кг тундаа 23.7%-иар хамгаалах нөлөө ажиглагдлаа. (Зураг 2)



Зураг 3. Архаг стрессээр үүсгэгдсэн бэлгийн сулрал үүсгэсэн хархны сийвэнгийн СОД-ийн харьцуулсан дүн

One-way ANOVA Tukey post test; ##p<0.01 vs эрүүл бүлэгтэй харьцуулахад;
**p<0.01 vs хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад

Хэт исэлдэлтийг хориглох фермент болох СОД-ийн хэмжээнд ДГЭА (DHEA) өгсөн бүлгийг эмгэг хяналт буюу архаг стресс үүсгэсэн бүлгийн амьтадтай харьцуулахад 45.5%-иар, Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн 42 мг/кг тундаа 34.1%-иар, 84 мг/кг тундаа 38.1%-иар, өндөр тун болох 210 мг/кг тундаа 44.6%-иар (p<0.05) статистик үнэн магадлалтай ихэсгэж исэлдэлтээс хамгаалах нөлөө ажиглагдлаа. (Зураг 3)

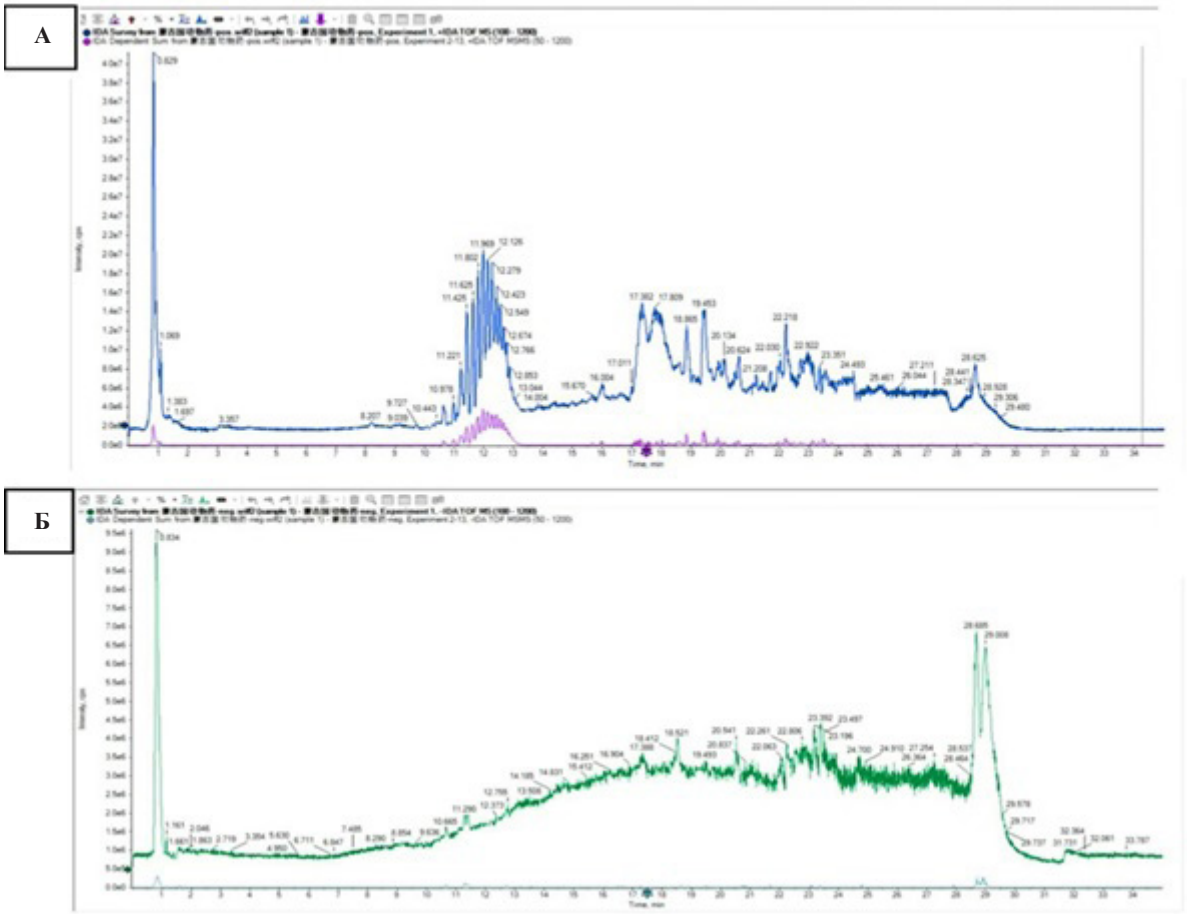


Зураг 4. Архаг стрессээр бэлгийн сулралын эмгэг загварт үүсгэсэн хархны сийвэнгийн Глютатион (GSH) хэмжээг тодорхойлсон дүн

One-way ANOVA Tukey post test; ##p<0.01 vs эрүүл бүлэгтэй харьцуулахад;
**p<0.01 vs хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад

Харин липид, ДНХ-ийг хамгаалах гол фермент Глютатион (GSH)-ийн үзүүлэлтийг ДГЭА (DHEA) өгсөн бүлгийг эмгэг хяналт буюу архаг стресс үүсгэсэн бүлгийн амьтадтай харьцуулахад 60.4%-иар, Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн 42 мг/кг тундаа 37.0%-иар, 84 мг/кг тундаа 47.3%-иар, өндөр тун болох 210 мг/кг тундаа 55.4%-иар тус тус нэмэгдүүлж статистик үнэн магадлалтай хамгаалах нөлөөтэй болох нь ажиглагдлаа. (Зураг 4)

26 *Анти-Импотенци-4 бэлдмэлд агуулагдах биологийн идэвхт бодисыг илрүүлсэн үр дүн:* Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийг хэт идэвхт шингэний хроматогафи ба масс спектрометр шинжилгээний үр дүнд нийт 28 төрлийн химийн нэгдэл илэрсэн бөгөөд эерэг цэнэгтэй ион хэлбэрээр илэрсэн 10 нэгдэл, харин сөрөг цэнэгтэй ион хэлбэрээр тодорхойлогдсон 18 нэгдэл нь ажиглагдсан. (Зураг 5)



Зураг 5. Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн UPLC-MS–ийн хроматограмм.

А.эерэг (ESI^+) Б. сөрөг (ESI^-) ионы горим

Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн эерэг ионы горимоор химийн найрлагыг тодорхойлсон үр дүнгээс харахад 6 зүйлийн уургийн төрлийн нэгдэл, иридиод, флавоноидын төрлийн нэгдлүүд агуулагдаж байна (Хүснэгт 2).

Хүснэгт 2. Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн эерэг ионы горимоор биологийн идэвхит бодис илрүүлсэн үр дүн

Бодисын нэр	Химийн томьёо	Молекул масс	Ионы хэлбэр цэнэг
Амин хүчил			
Валин	$C_5H_{11}NO_2$	118.086	[M+H]+
Лейцин	$C_6H_{13}NO_2$	132.102	[M+H]+
Карнитин	$C_7H_{15}NO_3$	162.112	[M+H]+
6-гидроксипурин	$C_5H_4N_4O$	137.046	[M+H]+
Аденозин	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	268.104	[M+H]+
Глутамины хүчил	$C_5H_9NO_4$	148.06	[M+H]+
Флавоноид			
Акацетин	$C_{16}H_{12}O_5$	285.076	[M+H]+
Иридиод			
8-Эпилоганийн хүчил	$C_{16}H_{24}O_{10}$	377.144	[M+H]+
Генипозид+NH3	$C_{17}H_{24}O_{10}.NH_3$	406.171	[M+H]+
Бусад			
Кофеин	$C_8H_{10}N_4O_2$	195.088	[M+H]+

Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн сөрөг ионы горимын биологийн идэвхит бодисыг тодорхойлсон үр дүнгээс харахад 8 зүйлийн уургийн төрлийн нэгдэл, нүүрс-ус, флавоноид, органик хүчил болон фенолт нэгдлүүд агуулагдаж байна (Хүснэгт 3).

Хүснэгт 3. Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн сөрөг ионы горимоор биологийн идэвхит бодис тодорхойлсон үр дүн

Бодисын нэр	Химийн томьёо	Молекул масс	Ионы хэлбэр Цэнэг
Амин хүчил			
Лейцин	$C_6H_{13}NO_2$	130.087	[M-H]-
Аспарагины хүчил	$C_4H_7NO_4$	132.03	[M-H]-
6-гидроксипурин	$C_5H_4N_4O$	135.031	[M-H]-
Аденин	$C_5H_5N_5$	134.047	[M-H]-
Триптофан	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	203.083	[M-H]-
Фенилаланин	$C_9H_{11}NO_2$	164.072	[M-H]-
Глутамины хүчил	$C_5H_9NO_4$	146.046	[M-H]-
Гуанозин	$C_{10}H_{13}N_5O_5$	282.084	[M-H]-
Нүүрс-ус			
D-галактоз	$C_6H_{12}O_6$	179.056	[M-H]-
Органик хүчил			
L-алимны хүчил	$C_4H_6O_5$	133.014	[M-H]-
Миристины хүчил	$C_{14}H_{28}O_2$	227.202	[M-H]-
Бензойн хүчил	$C_7H_6O_2$	121.03	[M-H]-
Өөхний хүчил			
Линолийн хүчил	$C_{18}H_{32}O_2$	279.233	[M-H]-
Флавоноид			
Шафтозид	$C_{26}H_{28}O_{14}$	563.141	[M-H]-
Фенолт нэгдэл			
Гастродин	$C_{13}H_{18}O_7$	285.098	[M-H]-
Птеростилбен	$C_{16}H_{16}O_3$	255.103	[M-H]-
Бусад			
Теобромин	$C_7H_8N_4O_2$	179.057	[M-H]-
Пеонифлорин	$C_{23}H_{28}O_{11}$	479.156	[M-H]-

Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн UPLC-MS-ийн хроматограммын аргаар тодорхойлоход лейцин, 6-гидроксипурин гэсэн 2 амин хүчил нь эерэг (ESI^+) болон сөрөг (ESI^-) ионы горимд илэрсэн.

Хэлцэмж: Гипоталамус-өнчин тархины-төмсөгний тэнхлэг, хэт исэлдэлт, бэлэг эрхтний апоптоз, NO/cGMP/PDE5α замыг өөрчлөлдөг архаг стресс нь туршилтын амьтанд бэлгийн сулрал үүсгэдэг[10] тул олон улсад өргөн ашиглаж байна. Архаг стресс нь азотын ислийг бууруулах замаар супероксид анион (O_2^-) гэх мэт хүчилтөрөгчийн идэвхтэй хэлбэрүүдийг үүсгэж судасны эдэд исэлдэлтийн стрессийг нэмэгдүүлдэг. Исэлдэлтийн стресс нь хүчилтөрөгчийн идэвхтэй хэлбэр (ROS)-ийг үүсгэж, судасны хананы эндотел эсүүдийг гэмтээж, цусны урсгал бууран, бэлгийн сулралын үндсэн шалтгаан болдог.[11] Бидний судалгаагаар архаг стрессээр үүсгэсэн бэлгийн сулралын эмгэг загварт эмгэг хяналтын бүлгийн 8-гидрокси-2′-дезоксигуанозин (8-OHdG)-ний үзүүлэлт 56.4%-иар, МДА-ийн хэмжээ 29.0%-иар ихэссэн ($p<0.05$) байсан нь бэлгийн сулралын эмгэг загвар үүсгэсэн судалгааны үр дүнтэй тохирч байна. Энэ нь судлаач Hui H (2019) нарын судалснаар чихрийн шижингийн үеийн бэлгийн сулралд *Eucommia ulmoides Oliv* ургамлын начны хандны нөлөөг судлахад сийвэнгийн супероксид дисмутаза (SOD) *($p<0.05$)* болон глютатион пероксидаза (GSH-Px)-ийн *($p<0.01$)* хэмжээг нэмэгдүүлсэн[12] нь Анти-Импотенци-4 бэлдмэл хэрэглэсэн эмчилгээний бүлгүүдэд СОД-ийн хэмжээ 42 мг/кг тундаа 34.1%-иар, 84 мг/кг тундаа 38.1%-иар, 210 мг/кг тундаа 44.6%-иар нэмэгдүүлсэн нь ижил үр дүнтэй байлаа.

Глютатион (GSH) нь эсийн хамгийн чухал антиоксидант бөгөөд L-аргининаас NO-г нийлэгжүүлдэг азотын исэл (NO) синтазын чухал кофактор юм. Италийн судлаач Tagliabue M нарын чихрийн шижингийн 2-р хэв шинжтэй бэлгийн сулралтай өвчтөнгүүдийн цусан дахь глютатион (GSH)-ний хэмжээг харьцуулан судлахад чихрийн шижин бэлгийн сулрал хавсарсан бүлэгт хамгийн бага буюу бүлэгт 1670.7 2 мкмоль/л хэмжигдэж[13] буурсан байгаа нь архаг стрессээр өдөөхөд туршилтын амьтанд глютатион (GSH)-ний хэмжээ эрүүл бүлгийнхээс 3 дахин буурсантай дүйж байна. Харин Анти-Импотенци-4 бэлдмэлээр эмчлэхэд бүлгүүдэд GSH-ийн хэмжээ тун хамааран аажмаар нэмэгдэх хандлага ажиглагдсан. Тухайлбал эмчилгээний 42 мг/кг бага тунд 1.5 дахин, 84 мг/кг дунд тунд 1.8 дахин, 210 мг/кг өндөр тунгийн бүлэгт 7.3 нэгж хүрч 2.2 дахин тус нэмэгдүүлсэн. Энэ нь Анти-Импотенци-4 бэлдмэлд агуулагдах глутамины хүчил нь физиологийн орчинд γ-глутамилцистеин синтаза ферментийн оролцоотойгоор (H^+) протоноо алдан глутамат болон хувирч глютатионыг нийлэгжүүлт нэмэгдүүлж[14] байгаатай холбоотой.

Фенолт нэгдлүүд нь маш сайн устөрөгчийн атомын донор бөгөөд ихэвчлэн үр дүнтэй DPPH радикалыг саатуулагчид болдог.[15] Бидний судалгааны Анти-Импотенци-4 бэлдмэлд гастродин болон птеростилбен гэсэн фенолт нэгдэл, акацетин ба шафтозид гэсэн флавоноид агуулагдаж байгааг хэт идэвхт шингэний хроматографи ба масс спектрометрийн аргаар тодорхойлсон. Фенолт нэгдлүүд нь DPPH болон ABTS радикалуудыг бууруулах, метал хелатжуулалтын чадвар, липидийн хэт исэлдэлтийг сайжруулах шинж чанартай болохыг судлаач Nwagwe OR (2025) нар *Pentaclethra macrophylla* болон *Albizia zygia* ургамлын навчны ханданд нийт фенолт нэгдэлийн агууламж 29.4-43.9 мг GAE/г, нийт флавоноидын хэмжээг 0.70 мг QE/г, 0.92 мг QE/г тус тус тодорхойлсон нь фенолт болон флавоноид нэгдлүүдийн өндөр антиоксидант идэвхийг илтгэнэ байна.[16,17]

Дүгнэлт:

1. Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийн метанолын ханданд амин хүчил, пурины уламжлал, нуклеозид, нүүрс-ус, органик болон өөхний хүчил, флавоноид, фенолт нэгдэл, иридоид зэрэг биологийн идэвхит бодисууд агуулагдаж байгааг илрүүлэв.
2. Архаг стрессээр үүсгэгдсэн бэлгийн сулралд Анти-Импотенци-4 бэлдмэлийг хэрэглэхэд Супероксиддисмутаза, Глютатионыг нэмэгдүүлж, 8-гидрокси-2′-дезоксигуанозин, МДА-ыг бууруулж байгаа нь хэт исэлдэлтийн эсрэг нөлөөтэй байгааг тодорхойлогдов.

Ном зүй:

1. *Goldstein I, Goren A, Li VW, Tang WY, Hassan TA. Global prevalence, patient profiles, and health outcomes of erectile dysfunction among 40-70 year-old men. J Sex Med. 2018;15(Suppl 3):S209–S210. doi:10.1016/j.jsxm.2018.04.187Ojnn*
2. *Jannini TB, Giraldi A. Psychological and psychiatric underpinnings of erectile dysfunction: anxiety, depression and stress as a predictor of men's health. In: The Canary in the Coalmine. Trends in Andrology and Sexual Medicine. 2025:61–78. doi:10.1007/978-3-031-98580-5_4*
3. *Dewitte M, Bettocchi C, Carvalho J, Corona G, Flink I, Limoncin E, et al. A psychosocial approach to erectile dysfunction: position statements from the European Society of Sexual Medicine. Sex Med. 2021;9(6):100434. doi:10.1016/j.esxm.2021.100434*
4. *Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organ J. 2012;5:9–19. doi:10.1097/WOX.0b013e3182439613*
5. *Meng XH, Wang M, Lin PC. Gymnadenia conopsea (L.) R. Br.: Comprehensive review of propagation and breeding, traditional uses, chemical composition, pharmacology, quality control, and processing. J Ethnopharmacol. 2023;306:116205. doi:10.1016/j.jep.2023.116205*
6. *Wei X, Wang D, Liu J, Zhu Q, Xu Z, Niu J, Xu W. Interpreting the Mechanism of Active Ingredients in Polygonati Rhizoma in Treating Depression by Combining Systemic Pharmacology and In Vitro Experiments. Nutrients. 2024 Apr 14;16(8):1167. doi: 10.3390/nu16081167. PMID: 38674858; PMCID: PMC11054788.*
7. *Zou P, Wang X, Yang W, et al. Mechanisms of stress-induced spermatogenesis impairment in male rats following unpredictable chronic mild stress (uCMS). Int J Mol Sci. 2019;20(18):4470. doi:10.3390/ijms20184470*
8. *Nagy K, Redeuil K, Bertholet R, Steiling H, Kussmann M. Quantification of anthocyanins and flavonols in milk-based food products by ultra performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Anal Chem. 2009;81(15):6347–6356. doi:10.1021/ac900985z*
9. *Nielsen SS. Phenol-sulfuric acid method for total carbohydrates. In: Food Analysis Laboratory Manual. Boston, MA: Springer US; 2009:47–53.*

10. Yadav A, Mishra RK. Sub-chronic restraint stress suppresses sexual potency and erection efficiency by targeting the hypothalamic-pituitary-testicular axis and the nitric oxide–cyclic guanosine monophosphate–phosphodiesterase 5α pathway in adult rats. Neuroendocrinology. 2023;113(4):442-456. doi:10.1159/000528131
11. Kaltsas A, Zikopoulos A, Dimitriadis F, Sheshi D, Politis M, Moustakli E, et al. Current issues in molecular biology related to erectile dysfunction and oxidative stress. Curr Issues Mol Biol. 2024;46(8):8807–8834. doi:10.3390/cimb46080521
12. Fu H, Bai X, Le L, Tian D, Gao H, Qi LX, Hu KP. Eucommia ulmoides Oliv. leaf extract improves erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats by protecting endothelial function and ameliorating hypothalamic-pituitary-gonadal axis function. Evid Based Complement Alternat Med. 2019;2019:1782953. doi:10.1155/2019/1782953
13. Tagliabue M, Pinach S, Di Bisceglie C, Brocato L, Cassader M, Bertagna A, et al. Glutathione levels in patients with erectile dysfunction, with or without diabetes mellitus. Int J Androl. 2005;28(3):156–162. doi:10.1111/j.1365-2605.2005 00528.x
14. Lu SC. Glutathione synthesis. Biochim Biophys Acta. 2013;1830(5):3143-3153. doi:10.1016/j.bbagen.2012.09.008
15. Huyut Z, Beydemir Ş, Gülçin İ. Antioxidant and Antiradical Properties of Selected Flavonoids and Phenolic Compounds. Biochem Res Int. 2017;2017:7616791. doi:10.1155/2017/7616791
16. Nwagwe OR, Adefegha SA, Oboh G, Atoki AV, Owolabi IO. Modulation of erectile dysfunction–associated enzymes and oxidative stress markers by Albizia zygia and Pentaclethra macrophylla leaf extracts: an in vitro evaluation. Cogent Food Agric. 2025;11(1):2547460. doi:10.1080/23311932.2025.2547460
17. Yang X, Zhang W, Ying X, Stien D. New flavonoids from Portulaca oleracea L. and their activities. Fitoterapia. 2018;127:257–262. doi:10.1016/j.fitote.2018.02.032

Bioactive Constituents of Anti-Impotence-4 and Its Effects in an Experimental Model of Erectile Dysfunction

Shirchinmaa B[1], Chimedragchaa Ch[2], Anu A[2], Myadagbadam U[2], Batnairamdal Ch[3]

[1]MNUMS, Mongolian International University of Medical Sciences
[2]MNUMS, Mongolian National Hospital of Traditional Medicine
[3]Institute of Traditional Medicine Technology
E-mail: Shirchinmaadr@gmail.com, Tel: +976-88088993

Abstract:
Background: Traditional medicine has long utilized herbal and animal-derived materials worldwide, and traditional formulations for the management of male sexual dysfunction continue to be actively investigated. This study aimed to investigate the chemical composition and antioxidant effects of Anti-Impotence-4, an herbal–animal formulation, in an experimental model of chronic stress-induced erectile dysfunction (ED).
Aim: To investigate the bioactive compounds present in the plant- and animal-derived formulation Anti-Impotence-4 and its effects against oxidative stress.
Materials and Methods: Fifty-eight male Wistar rats were randomly divided into six groups, including healthy control, disease control, reference, and treatment groups. Chronic stress was induced once daily for 56 days using a random stress protocol, as described by Peng Zou (2019). Oxidative stress parameters were determined using ELISA. The chemical constituents of the methanolic extract of Anti-Impotence-4 were analyzed using ultra-performance liquid chromatography–mass spectrometry (UPLC–MS) in both positive and negative ionization modes.
Results: In an experimental model of erectile dysfunction induced by chronic stress, treatment with Anti-Impotence-4 led to a dose-dependent attenuation of oxidative damage. Specifically, levels of the DNA oxidation marker 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine (8-OHdG) were reduced by 13.3–32.5% following administration of Anti-Impotence-4 at doses of 42, 84, and 210 mg/kg. Likewise, malondialdehyde (MDA) concentrations decreased by 7.9–23.7% at therapeutic doses ($p<0.05$). In contrast, antioxidant defense mechanisms were markedly enhanced, as evidenced by significant increases in superoxide dismutase (SOD) activity (34.1%, 38.1%, and 44.6%, respectively; $p<0.05$) and glutathione (GSH) levels, which rose by 37.0–55.4%. Biological substances identified a total of 10 compounds, including six amino acids, flavonoids, and iridoids, in the positive ion mode. In negative-ion mode, 18 bioactive compounds were detected, including amino acids, carbohydrates, organic acids, fatty acids, flavonoids, and phenolic compounds.
Conclusion: Phytochemical analysis of the methanolic extract of the Anti-Impotence-4 formulation demonstrated the presence of diverse bioactive constituents, including amino acids, purine derivatives, nucleosides, carbohydrates, organic and fatty acids, flavonoids, phenolic compounds, and iridoids. In a chronic stress-induced erectile dysfunction model, treatment with Anti-Impotence-4 significantly enhanced antioxidant defense by increasing superoxide dismutase and glutathione levels, while markedly reducing oxidative stress markers such as 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine and malondialdehe indicating significant antioxidant and protective effects.

Keywords: Reactive oxygen species, essential amino acids, phenolic compounds, erectile dysfunction