

Зэлэн зангуу (*tribulus terrestris* L.) агуулсан бэлдмэлийн үйлдлийг хархны ийлдсэн дэх тестостероны агууламжаар тодорхойлсон судалгааны үр дүн

Т.Даваасамбуу¹, С.Бадамцэцэг¹, Б.Оюунчимэг¹, А.Баянмөнх¹, Б.Бадамцэцэг¹,
Л.Лхавга¹, Л.Хүрэлбаатар¹

¹Эм судлалын хүрээлэн

davaasambuu@monos.mn

Study of the Biological Activities Preparation with *Tribulus Terrestris* L. on Free Serum Testosterone Changes in Male Rats

Davaasambuu T¹., Badamtsetseg S¹., Oyunchimeg B¹., Bayanmunkh A¹.,
Badamtsetseg B¹., Lkhagva L¹., Khurelbaatar L¹

¹Drug Research Institute

davaasambuu@monos.mn

Abstract

Introduction: An androgen also called an androgenic hormone and stimulates or controls the development and maintenance of male characteristics in vertebrates by binding to the androgen receptors. This includes the activity of the accessory male sex organs and development of male secondary sex characteristics. The primary and most well-known androgen is testosterone.

In traditional medicine many varieties of plants have been used as sex stimulants. For last centuries, Arabs have made use of herbal drugs to improve sexual performance and increase libido. Pharmacologic effect of *Tribulus terrestris* L. extract was studied on rabbit corpus cavernosum, rat free serum, and dog serum. It was shown that Protodioscin, which is one of the thistle components, has protractile activity.

Some Asian countries used young animal testicles for the growth of skeletal muscle, maintain and support optimal testicle health. In recent years, raw testicle glandular supplements are increasing in market. However, mechanism of raw testicle has not yet well understood but clinical trials showed that it could be useful in sexuality dysfunction in males.

Goal: The present study was undertaken to investigate the effect of preparation with *Tribulus terrestris* L. extract and dry bovine testes on free serum testosterone in male rats.

Materials and methods: Free serum testosterone level was measured in 30 healthy, adult male Wistar nonlinear rats weighing 170-220g. Rats were divided 5 groups,

including control group, group-1, group-2, group -3 and reference group. Dried thistle extract and raw bovine testicle were contained by 1:1, 1:2 and 2:1 ratio. Each 0.1g ratio was dissolved in 20 ml distilled water and administered 2 times per day. Blood sampling was done for each rat after 3, 7, 14, 21, 28 and 35 days. Their testosterone level was measured by ELISA Kit.

Results: The results indicated that free serum testosterone level in male rats increase and decrease in 7 days frequency. All tested groups showed gradual increase in the level of free serum testosterone when compared to that of corresponding control ($p < 0.05$). Statistical comparison of all groups revealed that the maximum level was found in group 1. Moreover, group 3 was showed gradually increase in level of free serum testosterone, irrelative with period of decrease testosterone level.

Conclusion: According to our results and previous study, it is suggested that preparation with *Tribulus terrestris* L. extract could be used in the androgen deficiency and erectile dysfunctions.

Keywords: *Tribulus Terrestris* L, Free testosterone, Dihydrotestosterone, Protodioscin

Судалгааны ажлын үндэслэл: Сүүлийн жилүүдэд дэлхийн хүн амын дундаж наслалт нэмэгдсээр байгаа бөгөөд үүнтэй холбоотойгоор ахмад настны эзлэх хувь нийт хүн амын 10-15% хүртэл өсөх хандлагатай байна [1]. Нас ахих тусам эрэгтэйчүүдийн биемахбодийн болон сэтгэл санаа, нөхөн үржихүйн үйл ажиллагааны идэвх буурдаг [2]. Сүүлийн үеийн судалгааны үр дүнгээс харахад ахимаг насны эрэгтэйчүүдэд гарах биемахбодийн өөрчлөлтүүд нь цусан дах тестостероны хэмжээ буурсантай холбоотой гэж үздэг байна [3].

Уг дааврын дутмагшилаас хамаарч эрэгтэй хүнд эстроген даавар давамгайлж таргалах, хөх ургах, бэлгийн дур хүсэл буурах, бэлгийн сулрал зэрэг сөрөг үр дагаварууд илэрдэг. Мөн төрөл бүрийн эмгэгийн үед хавсарга хэлбэрээр хүний цусан дах тестостероны хэмжээ багасдаг. Бөөрний архаг дутагдалын үед эр хүний цусан дах тестостероны хэмжээ багасаж, төмсөг нь хэмжээний хувьд жижгэрсэн, үлбэгэр чанартай болох, сперм нь хөдөлгөөн багасаж, олигоазосперми илэрдэг [4]. Энэ дааврын хомсдолыг арилгахын тулд андроген гормон ба тестостерон агуулсан эм бэлдмэлийг нэмэлтээр хэрэглэдэг. Манай оронд энэ төрлийн эм бэлдмэл ихэвчлэн гадаадаас өндөр үнэтэй импортлогддог тул өртөг хямд, байгалийн гаралтай, биологийн өндөр идэвх бүхий бүтээгдэхүүн гарган авах шаардлагатай байна.

Судалгааны ажлын зорилго: Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) болон Үхрийн төмсөг агуулсан бэлдмэлийн фармакологийн үйлдлийг туршилтын хархны цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээгээр тодорхойлох

Судалгааны ажлын хэрэглэгдэхүүн, арга зүй: Фармакологийн судалгааг “WISTAR” шугамын бус 170-220 гр жин бүхий 30 толгой эр хүйсийн цагаан хархан дээр гүйцэтгэсэн. Туршилтын 5 бүлэг болгон дараах бүлгүүдэд хуваасан. Үүнд:

1. Хяналт- Бэлдмэл уулгаагүй бүлэг, n=6
2. Хувилбар 1- Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.)+Үхрийн төмсөг, 1:1, n=6
3. Хувилбар 2- Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) +Үхрийн төмсөг 1:2, n=6
4. Хувилбар 3- Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) +Үхрийн төмсөг 2:1, n=6
5. Стандарт- “Yohumate” бэлдмэл, n=6

Туршилтыг гүйцэтгэхдээ “Амьтанд туршилт хийх био-анагаахын ёс зүйн удирдамж”-ын дагуу ёс зүйн хэм хэмжээг баримтлан ажилласан. Фармакологийн судалгааг дараах дараалалаар гүйцэтгэсэн.

1. Туршилтын амьтдын эрүүл үеийн цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээг тодорхойлсон.
2. Туршилтын бэлдмэлүүдийн тунг Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.)болон төмсөгний агууламжаар тооцон туршилтын амьтдад өдөрт 2 удаа уулгасан.
3. Туршилтын бэлдмэлүүд болон стандарт бэлдмэлийг уулгаснаас хойш 3, 7, 14, 21, 28, 35 хоногууд дээр туршилтын амьтдын сүүлний венээс гепаринтай орчинд 1-1.5 мл цус авсан [5].
4. Авсан цусыг 1500 эрг/мин хурдаар 10 мин хурилдуулан ийлдсийг ялган, ийлдсэнд агуулагдах тестостероны хэмжээг тодорхойлсон.
5. Тестостероны хэмжээг тодорхой арга аргачлал (Microwell Method, Free testosterone, Ref.No.K01220)¹ арга зүйн дагуу Elisa Reader (StatFax-2100, λ=450 nm, Awareness Technology, Inc. USA) багаж ашиглан тодорхойлсон.
6. Судалгааны ажлын үр дүнгийн статистик боловсруулалтыг SPSS20 программаар гүйцэтгэж, судалгааны бүлэг хоорондын ялгааг Стьюдентийн критерээр үнэлэн, p<0.05 үеийн үнэн магадлал бүхий ялгаатай гэж тооцож One-Way ANOVA-аар баталгаажуулсан [6].

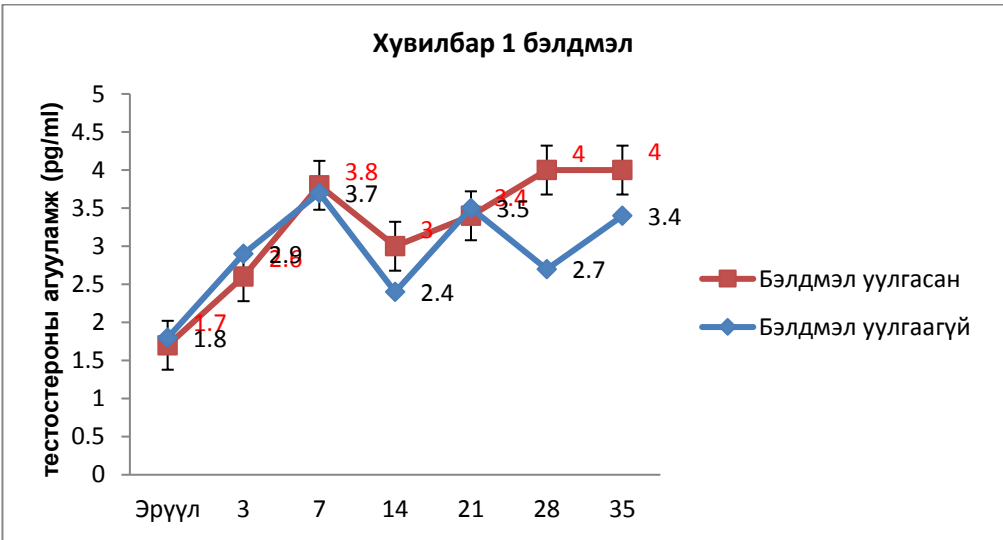
¹ Free testosterone, Microwell plate, REF.K01220, <http://www.dialab.at/index.cfm>

Судалгааны ажлын үр дүн: Судалгааны бэлдмэл уулгахаас өмнө бүлэг тус бүрийн туршилтын хархнаас цус авч эрүүл үеийн цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээг тодорхойлсныг Хүснэгт 1-ээр үзүүлэв.

Хүснэгт 1. Туршилтын хархны эрүүл цусны ийлдсэн дэх тестостероны агууламжын үзүүлэлт (pg/ml)

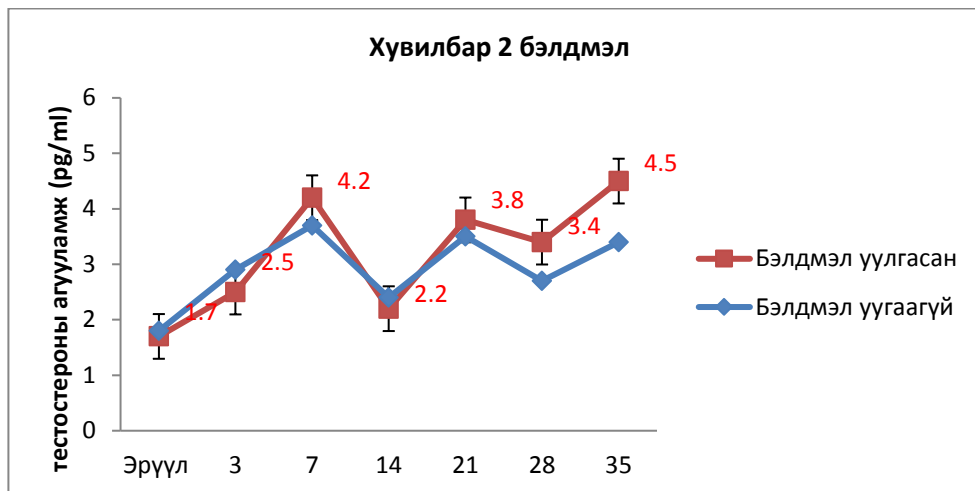
№	Бүлэг	Эрүүл
1	Хяналт (n=6)	1.8±0.1
2	Хувилбар 1 (n=6)	1.7±0.3
3	Хувилбар 2 (n=6)	1.7±0.1
4	Хувилбар 3 (n=6)	1.8±0.2
5	Стандарт (n=6)	1.3±0.2

Туршилтын бэлдмэлүүд болон стандарт бэлдмэлийг уулгаснаас хойш 3, 7, 14, 21, 28, 35 хоногуудад дээр туршилтын хархнуудаас цус авч ийлдсэнд нь тестостероны агууламжийг тодорхойлсон үр дүнг Зураг 1,2,3,4-т тус тус үзүүлэв.



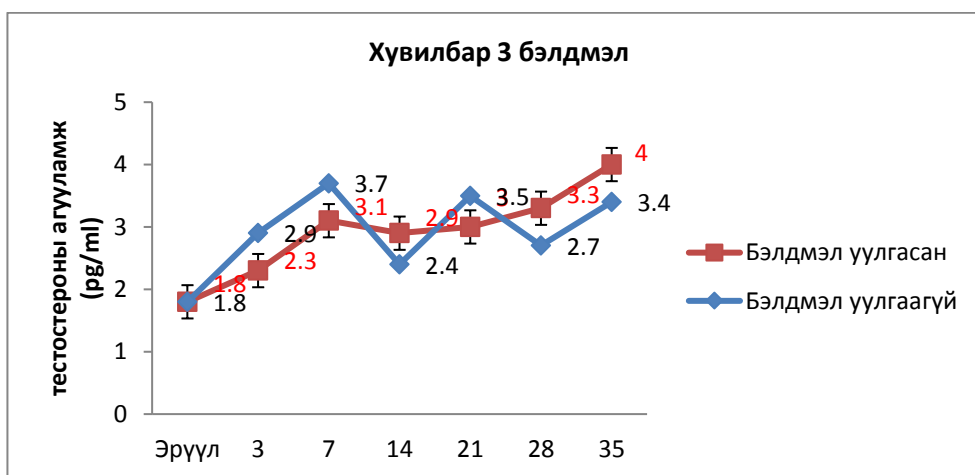
Зураг 1. Хувилбар 1 бэлдмэл уулгасан туршилтын хархны цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээ (pg/ml)

Зураг 1-ээс харахад Хувилбар 1 (Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.)+Үхрийн төмсөг, 1:1)) бэлдмэлийг хэрэглэснээс хойш 7 дах хоногт цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээ нэмэгдэж ($p<0.05$), 28-35 дах хоногуудад цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээг 1.3 pg/ml буюу 37.1%-иар нэмэгдүүлжээ.



Зураг 2. Хувилбар 2 бэлдмэл уулгасан туршилтын хархны цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээ (pg/ml)

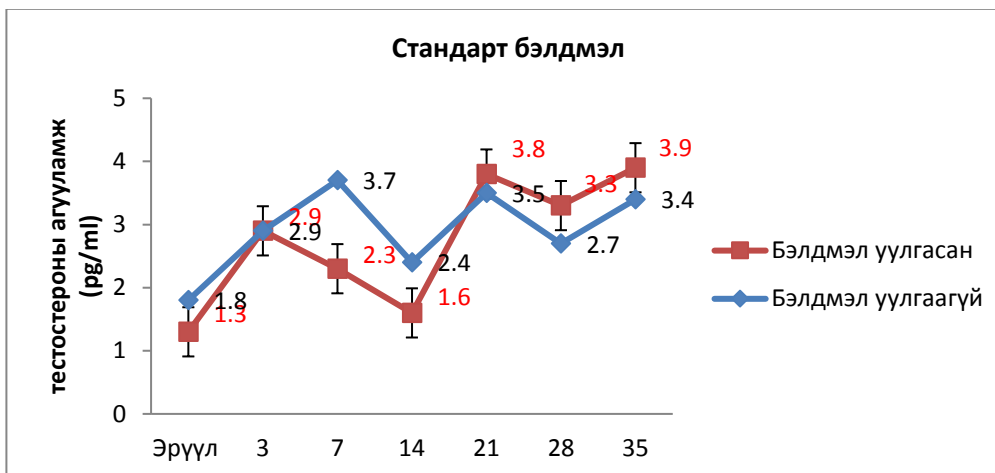
Зураг 2-оос харахад Хувилбар 2 (Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.)+Үхрийн төмсөг, 1:2) бэлдмэлийг хэрэглэснээс хойш 7 дах хоногт цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээ огцом өсөж, туршилтын 14 хоногт 2.2 pg/ml ($p < 0.05$) хүртэл буурсан байна.



Зураг 3. Хувилбар 3 бэлдмэл уулгасан туршилтын хархны цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээ (pg/ml)

Зураг 3-аас харахад Хувилбар 3 (Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.)+Үхрийн төмсөг, 2:1) бэлдмэлийг хэрэглэснээс хойш эрүүл үеийн тестостероны хэмжээ тогтвортой өссөн ($p < 0.05$) харагдаж байна (Зураг 3). Үхрийн төмсөгний хэмжээ, зэлэн зангууны хэмжээнээс 2 дахин их байх нь тохиромжтой бөгөөд үхрийн төмсөгний үйлдэл, зэлэн зангууны үйлдлийг дэмжиж, цусны ийлдсэн дэх

тестостероны хэмжээг аажим, тогтвортойгоор өсгөж байгаа зүй тогтол ажиглагдсан.



Зураг 4. Стандарт бэлдмэл уулгасан туршилтын хархны цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээ (pg/ml)

Зураг 4-өөс харахад Стандарт (Yohumate) бэлдмэлийг хэрэглэснээс хойш тестостероны хэмжээ 3 хоног дээр өсөж, 14 хоног хүртэл огцом бууруулж, дахин 21 хоног дээрээ огцом өсгөжээ.

Туршилтын үр дүнгээс харахад хувилбар 3 (Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.)+Үхрийн төмсөг, 2:1) бэлдмэл нь тестостероны хэмжээг тогтмол хэмжээнд өсгөж байгаагаараа бусад бэлдмэлүүдээс онцлог үйлдэлтэй болох нь тогтоогдлоо.

Хэлцэмж: Ургамлын гаралтай биологийн идэвхт бүтээгдэхүүнүүдийн цусны ийлдсэнд агуулагдах тестостероний хэмжээг нэмэгдүүлэх туршилтууд багагүй хийгдсэн байдаг. Хунчир, Хүн орхоодой, Хятадын чихэрлэг төмс, Грек чирэг, Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) гэх мэт ургамлуудын ханд нь тестостероны нийлэгжилтэнд нөлөөлдөг нь тогтоогдсон. Валид Тантау нь Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлын газрын дээд хэсгийг 11 өөр хувилбараар хандлан туршилтын харханд 40 хоног уулган 40 хоногийн дараа цусан дахь тестостероны хэмжээг тодорхойлсон. Ингэхэд Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.)-ны 70%-ийн этанолон ханд уусан бүлэг бидний судалгаатай ойролцоо (1,85-3,90 pg/mL) үр дүн үзүүлсэн. Мөн Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлын газрын дээх хэсгийн (үр ороогүй) 70%-ийн этанолон хандыг хлороформ, этилацетат, бутаноолоор бүлэглэн хандалж, тус бүрийн идэвхийг судлахад этилацетатын бүлэг (5,7 pg/mL) бидний судалгааны дүнгээс 24,5%-иар (1,3 pg/mL-ээр) өндөр үзүүлэлттэй гарсан. Харин бусад бүлэг нь бидний судалгааны үр дүнтэй ойролцоо буюу 2,93-3,88 pg/mL

агуулагдаж байгааг тогтоожээ. Валид Тантавугийн 3-р шатны судалгаа Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлын зөвхөн үрийг хандлан хлороформ, этилацетат, бутаноолоор бүлэглэн хандалж, тус бүрийн идэвхийг судлахад мөн л этилацетатаар бүлэглэн хандалсан ханд хамгийн өндөр агууламжтай буюу 21,3 pg/mL тестостероны агууламжтай байжээ [7].

Мөн Ираны судлаачид Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлын ханд болон морфины хамааралыг судалсан байна. Ингэхдээ эрүүл эр харханд Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлын усан ханд уулган хяналтын (ханд уугаагүй) бүлэгтэй харьцуулахад цусны ийлдсэн дэх тестостероны агууламжинд өөрчлөлт ажиглагдаагүй. Харин 0,2 мг/мл морфин 21 өдрийн турш уулгасан хархны тестостероны хэмжээ хяналтын бүлгээс 70%-иар (0,12 ng/ml хүртэл) буурсан үзүүлэлттэй гарсан нь морфин тогтмол хэрэглэхэд цусны ийлдсэн дэх тестостероны агууламж буурдаг болохийг баталжээ. Мөн судлаачид морфиныг Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлын хандтай 21 хоног хамт уулган тестостероны хэмжээг тодорхойлоход дан морфин уусан бүлэгээс 37,8%-иар илүү (0.193 ng/ml-ээр) үзүүлэлттэй гарсан байна [8]. Энэ нь Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) агуулсан бэлдмэлүүд нь цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээг ихэсгэх зүй тогтолтойг харуулж байна.

Судлаач Мухамед М. Мухамед нарын Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлын хуурайшуулсан хандан дээр хийсэн судалгааны үр дүнгээр эмчилгээний 28 дах хоногт Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) уулгасан бүлгийн тестостероны хэмжээ хяналтын бүлгээс 6.6%-иар ихэссэн байна [9]. Харин бидний хийсэн судалгааны үр дүнгээр засаа агуулсан Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлын хуурайшуулсан ханд нь туршилтын хархны цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээг 48.1%-иар ихэсгэсэн. Мухамед М. Мухамедийн үр дүнтэй харьцуулахад бидний гарган авсан Үхрийн хуурайшуулсан төмсөг, Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.)-ны найрлага бүхий бэлдмэл нь Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлын хуурайшуулсан дан ханднаас 8 дахин илүү үйлдэл үзүүлж байна.

Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлын тестостероны нийлэгжилтэнд нөлөөлөх үйлдлийг 2009 он Иракийн эрдэмтэн Ахмед А.Хассан бусад судлаачдын хамтаар тогтоосон байна. Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлыг 70%-ийн

этанол, метанол, ацетонитрил, гександ хандлан, ургамлын ханднуудын фармакологийн үйлдлийг туршилтын амьтны цусан дах тестостероны хэмжээгээр тогтоосон байна. Судалгааны үр дүнгээр метанолд хандалсан Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлын ханд уулгасан бүлгийн тестостероны хэмжээ нэрмэл ус уулгасан хяналтын бүлгээс (9.1 ng/ml) статистик үнэн магадлалтайгаар өссөн (24.2 ng/ml, $p < 0.05$). 70%-ийн спиртэнд хандалсан Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.)-ны спиртэн ханд уулгасан бүлгийн амьтдын тестостероны хэмжээг нэрмэл ус уулгасан хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад 12 ng/ml хэмжээгээр өссөн (21.1 ng/ml) байна [10]. Энэ нь Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлын гол үйлчлэгч бодис протодиосцин нь 70%-ийн спиртэнд илүү гарцтай байгаатай холбоотой юм. Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлын 70%-ийн спиртэн хандны тестостероны ялгаралтанд нөлөөлөх фармакологийн үйлдэл нь бидний хийсэн судалгааны үр дүнтэй адил байна. Энэтхэгийн судлаач Синх нь туршилтын амьтдад Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлыг 50 мг/кг, 100 мг/кг гэсэн 2 тунгаар уулгаад эмчилгээний 28 дах хоног дээр цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээг тодорхойлж харьцуулан судалсан. Судалгааны үр дүнгээр 50 мг/кг тунгаар уулгасан бүлгийн хархны цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээ 3.12 ± 0.06 ng/ml байсан. Харин Зэлэн зангуу (*Tribulus terrestris* L.) ургамлыг 100 мг/кг тунгаар уулгасан бүлгийн хархнуудын цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээ 3.76 ± 0.06 ng/ml байсан. Эдгээр бэлдмэлүүдийн үр дүнг нэрмэл ус уулгасан хяналтын бүлэг (2.40 ± 0.03)-тэй харьцуулахад цусны ийлдсэн дэх тестостероны хэмжээг 30-56.6% -р нэмэгдүүлсэн байна [11]. Энэ нь бидний судалгааны үр дүнтэй дүйж байна.

Дүгнэлт: Зэлэн зангуу (*Tribulus Terrestris* L.) агуулсан бэлдмэлийн фармакологийн үйлдлийг туршилтын хархны цусны ийлдсэн дэх тестостероны агууламжаар тодорхойлсон. Туршилтын хархны цусан дах тестостероны агууламжийг Зэлэн зангуу (*Tribulus Terrestris* L.) агуулсан бэлдмэл (Хувилбар 3) нь туршилтын хархны цусны ийлдсэн дэх тестостероны нийлэгжилтийг аажим өсгөж, цаашид тогтворжуулж байгааг тогтоолоо.

Ном зүй:

1. Оюунгэрэл Н., Ахмад настны амьдралын чанар, эрүүл мэндийн эрсдэл түүний нөхөн сэргэлт. Эмнэлгийн анхан шатны тусламжид хэрэглэх гарын авлага, 2005, х.3.
2. Yamada T.H et al., Association of bioavailable estradiol levels and testosterone levels with serum albumen levels in elderly. The Aging Male, June; 2008, 11(2), p.63-70.
3. Gray A.B.J., McKinlay J., Longcop C. An examination of research design effects on the association of testosterone and male aging: result of a meta-analysis. J Clin Epidemiol, (44), 1991, p.671-684.
4. Кухтевич А.В ба бусад. Терапевтический архива, 1984, №7.,х.139.
5. Janis Ott Joslin. Blood collection techniques in exotic small mammals. Journal of Exotic Pet Medicine, Vol 18, №2, 2009.p.117-139.
6. Duolao Wang. Clinical trials: A Practical Guide to Design, Analysis, and Reporting. R.:2006, p.197-215.
7. El-Tantawy W.H., El-Gindi O.D. Free serum testosterone level in male rats treated with *Tribulus alatus extracts*. Int. Braz. J. Urol, 2007; 33.p.554-558.
8. Mohammed Hassan Ghosian Moghaddam. The effect of oral feeding of *Tribulus terrestris* L. on sex hormone and gonadotropin levels in addicted male rats, International Journal of Fertility and Sterility, Vol7, 2013, p.57-62.
9. Mohaned Mohammed., Sania A.I.Shaddad. Effect of *Tribulus terrestris* ethanolic extract in male rats and cocks fertility. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences. J Pharm Biomed Sci; 30(30): 2013.p.S13-S18.
10. Ahmed A.Hussain. Study the biological activities of *Tribulus Terrestris* Extracts. International Scholarly and Scientific Research and Innovation. Vol3 (9); 2009.p.510-512.
11. Surender Singh., Vinod Nair., et al. Evaluation of the aphrodisiac activity of *Tribulus terrestris* L. in sexually sluggish male albino rats. J.Pharmacol Pharmacother, Vol 3(1):2012.p.43-47.

Танилцаж нийтлэх санал өгсөн:

ЭЗУ-ы доктор Т. Ахтолхын