

Bashar Jabbar Ali Sahlane, I. V. Senyuk

Investigation of membrane stabilizing action of extracts from *Prunus domestica* fruits

National University of Pharmacy, Kharkiv

Key words: Prunus domestica, red blood cells membranes, spontaneous hemolysis, membrane stabilizing activity

Prunus domestica (family *Rosaceae*) is widespread horticultural crops in Ukraine. It has a lot breeds and takes one of the first places in quantity after apples, pears and cherries. In our previous research the qualitative and quantitative chemical composition of the *Prunus domestica* were determined. It was shown the presence of organic acids in the raw material (malate, citrate, chlorogenic, neochlorogenic and caffeic acids), anthocyanins, rutin, gallic acid, sugars and dietary fibers [1]. It is known, that plum fruits contain 6–17 % of sugars, up to 8 % of pectin substances, organic acids (malate, citrate, oxaloacetate, succinate, quinic acid) to 1,6 %, flavonoids, tannins, vitamins [2, 3] and fruits are widely used in alternative medicine for the treatment of gastrointestinal tract diseases (constipation and intestinal atony, bile stains, liver disease) [2]. Therefore, preliminary experimental studies were aimed to identify and confirm the laxative and hepatoprotective properties of four extracts from *Prunus domestica* fruits [4, 5]. The hepatoprotective effect was proved for two extracts: extract from *Prunus domestica* fruits, containing fibers (PE + Fibers), and extract from *Prunus domestica* fruits, containing polysaccharides (PE + Polysaccharides) [5]. The most evident hepatoprotective effect was detected at a dose of 200 mg/kg for both extracts.

The aim of this study was to investigate membrane stabilizing activity of two extracts from *Prunus domestica* fruits by their influence on spontaneous lysis of red blood cells (RBCs) membrane.

Materials and methods. The experiments were conducted on white nonlinear rats in accordance with the provisions of the «European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes» (Strasbourg, 1986) and national ethical requirements (Kyiv, 2001) The study protocol was approved by Bioethics Commission of the National University of Pharmacy.

The rats were kept under standard vivarium conditions with natural light and diet recommended for this type of animal.

Twenty experimental animals were divided into four groups five rats each: 1 – intact control (IC); 2 – animals, treated (*per os*) with extract from *Prunus domestica* fruits, containing fibers (PE + Fibers) at a dose of 200 mg/kg during 3 days; 3 – animals, treated (*per os*) with extract from *Prunus domestica* fruits, containing polysaccharides (PE + Polysaccharides) at a dose of 200 mg/kg during 3 days; 4 – animals, treated with reference drug Silybor at a dose of 25 mg/kg for 3 days [6, 7].

On the fourth day of the experiment blood was collected from the tail vein of experimental animals. The membrane stabilizing activity of the extracts was studied using the F. C. Jager [7] method, which is based on the determination of the extinction of ectoglobular hemoglobin, entering the blood due to spontaneous lysis of red blood cells (RBCs) membrane caused by peroxidation of lipids with oxygen. The inhibition of RBCs hemolysis by investigated extracts was determined as described in [7, 8].

The blood was centrifuged and then cells were washed three times with 154 mM NaCl in 10 mM sodium phosphate buffer (pH 7,4) by centrifugation (10 min at 3000 g). Finally, RBCs were resuspended

Membrane stabilizing effect of the extracts from Prunus domestica fruits on the model of spontaneous RBCs hemolysis (n = 5)

Group of animals	Hemolysis inhibition, %	Membrane stabilizing activity, %
Intact control	10,59 ± 1,50	-
Silybor, 25 mg/kg	4,10 ± 0,75*	61,3
PE + Fibers, 200 mg/kg	4,65 ± 0,64*	56,1
PE + Polysaccharides, 200 mg/kg	7,75 ± 0,95*	26,8

Note. * $p \leq 0,05$ compared to intact control.

in the equal volume of this isotonic buffer solution. Samples, containing 0,5 ml of RBCs, were mixed with hypotonic-buffered saline alone. The mixture was incubated for 10 min at room temperature, centrifuged for 10 min at 3000 g and the optical density (OD) of the supernatant was measured ($\lambda = 540$ nm) using Lab Analyt SP-V1000 (China).

The percentage of hemolysis inhibition was calculated using the following formula:

$$\% \text{ of hemolysis inhibition} = \frac{\text{OD control} - \text{OD test samples}}{\text{OD control}} \cdot 100$$

Membrane stabilizing activity (MSA) was calculated using indicators of % hemolysis inhibition (% IH):

$$\% \text{ MSA} = \frac{\% \text{ IH control} - \% \text{ IH test samples}}{\% \text{ IH control}} \cdot 100$$

The data were analyzed using Fisher's tested least significant difference (Fisher PLSD) test. Results present as the means \pm standart error of the mean and deemed statistically significant when $p \leq 0,05$.

Results and discussion. According to the analysis of experimental data, it was found that both extracts from *Prunus domestica* fruits reduced the degree of RBCs spontaneous hemolysis. Under administration of investigated extracts to animals membrane stabilizing activity was 56,1% and 26,8% for PE + Fibers and PE + Polysaccharides

respectively, compared with the control group (Table). The extract with fibers was most active in stabilizing of RBCs membranes, which exceeded the activity of the extract with polysaccharides. The membrane stabilizing effect of extract from *Prunus domestica* fruits PE + Fibers was comparable with such (61,3%) of the reference drug Silybor (Table). The results obtained demonstrate pronounced membrane stabilizing activity of the extract from *Prunus domestica* fruits, containing fibers, that on our opinion may be related with the presence of polyphenolic compounds in the chemical composition of this extract (sum of hydroxycinnamic acid).

Further research will be devoted to determining the mechanisms of laxative and hepatoprotective effects of the extract from *Prunus domestica* fruits, containing fibers.

Conclusions

It is shown, that administration to rats of both extracts from *Prunus domestica* fruits at a dose of 200 mg/kg led to a decrease the degree of RBCs spontaneous hemolysis. The results obtained demonstrate, that membrane stabilizing activity of the extract from *Prunus domestica* fruits, containing fibers, exceeded that of the extract with polysaccharides and was comparable with such of the reference drug Silybor.

1. Phytochemical and pharmacological study of polysaccharide complexes of prunus domestica fruit / T. Upyr, Shahm Basim Mohammed, Bashar Al-Jabbar Ali Sahlani [et al.] // Science Rise: Pharmaceutical Science. – 2018. – V. 3 (13). – P. 32–37.
2. Гроджинський А. М. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / А. М. Гроджинський. – Київ : «Українська енциклопедія», 1992. – 544 с.
3. Упир Л. В. Фармацевтична енциклопедія; голова ред. ради та автор передмови В. П. Черних / Л. В. Упир, В. К. Слива. – 2-ге вид., перероб. і доповн. – Київ : «MORION», 2010. – 1290 с.
4. Сенюк І. В. Вивчення послаблюючої активності різних субстанцій, одержаної з плодів сливи домашньої *Prunus domestica* / І. В. Сенюк, Башар Джабар Алі Сахлані, Л. В. Ленчик // Український біофармацевтичний журнал. – 2017. – № 5 (52). – С. 21–25.

5. Сенюк І. В. Вивчення гепатопротекторної дії екстрактів з плодів сливи домашньої / І. В. Сенюк, Башар Джабар Алі Сахлані, Мохамед Сахм Хасім // Фармацевтичний часопис. – 2018. – № 4. – С. 57–61.
6. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. реком.; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ : Авіцена, 2001. – 528 с.
7. Строев Е. А. Практикум по биологической химии / Е. А. Строев, В. Н. Макарова. – Москва : Высшая школа, 1986. – С. 208–211.
8. *In vitro* membrane stabilizing activity, total phenolic content, cytotoxic, thrombolytic and antimicrobial activities of *Callian drasurinamensis* (Wall.) / M. A. A. Sikder, M. A. Kaiser, M. A. Rashid [et al.] // Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. –2012. – № 1. – С. 45–50.

Bashar Jabbar Ali Sahlane, I. V. Senyuk **Investigation of membrane stabilizing action of extracts from *Prunus domestica* fruits**

Prunus domestica is a horticultural crop widely distributed in Ukraine and its fruits are used in alternative medicine for the treatment of diseases of the gastrointestinal tract (constipation and intestinal atony, bile stains, liver disease). The determination of the qualitative and quantitative composition of the *Prunus domestica* fruits showed the presence of unique chemical compounds with probably laxative and hepatoprotective effects. Therefore, our preliminary experimental studies were aimed to identify and confirm the laxative and hepatoprotective properties of four extracts from *Prunus domestica* fruits. Hepatoprotective effect were proved for two extracts: extract from *Prunus domestica* fruits, containing fibers (PE + Fibers), and extract from *Prunus domestica* fruits, containing polysaccharides (PE + Polysaccharides).

The aim of this study was to investigate membrane stabilizing activity of two extracts from *Prunus domestica* fruits by their influence on spontaneous lysis of red blood cells (RBCs) membrane.

The experiments were conducted on white nonlinear rats, that were divided into four groups (intact control, PE + Fibers, 200 mg/kg during 3 days; PE + Polysaccharides 200 mg/kg during 3 days; reference drug Silybor, 25 mg/kg for 3 days).

Membrane stabilizing activity of extracts from *Prunus domestica* fruits was studied *in vitro* using the F. C. Jager method based on the determination of ectoglobular hemoglobin, entering the blood due to spontaneous lysis of red blood cells membrane caused by lipid peroxidation.

It was found, that both extracts from *Prunus domestica* fruits reduced the degree of RBCs spontaneous hemolysis. Under administration of investigated extracts to animals membrane stabilizing activity was 56,1 % and 26,8 % for PE + Fibers and PE + Polysaccharides respectively compared with the control group. The extract with fibers was most active in stabilizing of RBCs membranes, which exceeded the activity of the extract with polysaccharides. The membrane stabilizing effect of extract from *Prunus domestica* fruits PE + Fibers was comparable with such of the reference drug Silybor.

Thus, among two presented extracts the most active and prospective is extract from *Prunus domestica* fruits, containing fibers. It's membrane stabilizing activity may be related with the presence of polyphenolic compounds in the chemical composition of this extract (sum of hydroxycinnamic acid).

Key words: *Prunus domestica*, red blood cells membranes, spontaneous hemolysis, membrane stabilizing activity

БашарДжабар Аль Сахлані, І. В. Сенюк **Вивчення мембраностабілізуючої активності екстрактів з плодів *Prunus domestica***

Слива домашня (лат. *Prunus domestica*) – садова культура, яка широко розповсюджена на території України. Її плоди застосовують у народній медицині для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту та печінки. Згідно з попередніми дослідженнями щодо визначення якісного та кількісного складу плодів *Prunus domestica*, було встановлено наявність у сировині хімічних сполук, що ймовірно зумовлюють її послаблювальні та гепатопротекторні властивості. Тому метою наших попередніх досліджень було вивчення та підтвердження наявності гепатозахисної активності в екстрактах з плодів *Prunus domestica*. Серед чотирьох досліджених екстрактів різного складу було доведено наявність гепатопротекторної дії в двох з них: в екстракту, що містить волокна (ЕС + В), та в екстракту з полісахаридами (ЕС + П).

Мета дослідження – вивчення мембраностабілізуючої дії двох екстрактів з плодів *Prunus domestica* за їхнім впливом на спонтанний гемоліз еритроцитів.

Експеримент було проведено на білих нелінійних щурах, яких поділили на чотири групи (інтактний контроль, ЕС + В, 200 мг/кг 3 дні; ЕС + П, 200 мг/кг 3 дні, референтна – Силібор, 25 мг/кг 3 дні). Мембраностабілізуючу активність екстракту з плодів *Prunus domestica* вивчали за методом Ф. С. Ягер, який ґрунтується на визначенні позаеритроцитарного гемоглобіну, що надходить до крові внаслідок спонтанного лізису мембран еритроцитів, викликаного перекисним окисненням ліпідів.

Введення тваринам обох досліджуваних екстрактів призводило до зменшення ступеня спонтанного гемолізу еритроцитів. У разі застосування екстрактів мембраностабілізуюча активність складала

56,1 % (ЭС + В) і 26,8 % (ЭС + П) порівняно з інтактним контролем. Найактивнішим у стабілізації мембран еритроцитів був екстракт, що містить волокна, який перевищував активність екстракту з полісахаридами, та не поступався активності препарату порівняння (Силибору).

Таким чином, серед двох досліджених екстрактів було виявлено найактивніший і перспективний, а саме, екстракт з плодів *Prunus domestica*, що містить волокна. Його мембраностабілізуюча активність може бути пов'язана з наявністю у хімічному складі поліфенольних сполук (суми оксикоричних кислот).

Ключові слова: Prunus domestica, еритроцити, мембрани, спонтанний гемолиз, мембраностабілізуюча активність

Башар Джабар Аль Сахлани, И. В. Сенюк **Изучение мембраностабилизирующей активности экстрактов из плодов** ***Prunus domestica***

Слива домашняя (лат. *Prunus domestica*) – садовая культура, которая широко распространена на территории Украины. Ее плоды используются в народной медицине при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта и печени. Согласно предварительным исследованиям по определению качественного и количественного состава плодов *Prunus domestica* было установлено наличие в сырье химических соединений, которые, вероятно, обуславливают слабительные и гепатопротекторные свойства. Поэтому целью наших предыдущих исследований было изучение и подтверждение гепатопротекторных свойств экстрактов из плодов *Prunus domestica*. Среди четырех исследованных экстрактов различного состава было доказано наличие гепатопротекторного действия у двух из них: у экстракта, который содержит волокна (ЭС + В), и у экстракта с полисахаридами (ЭС + П).

Цель исследования – изучение мембраностабилизирующего действия двух наиболее активных экстрактов *Prunus domestica* по их влиянию на спонтанный гемолиз эритроцитов.

Эксперимент был проведен на белых нелинейных крысах, которых поделили на четыре группы (интактный контроль, ЭС + В, 200 мг/кг 3 дня; ЭС + П, 200 мг/кг 3 дня, референтная – Силибор, 25 мг/кг 3 дня). Мембраностабилизирующую активность экстрактов из плодов *Prunus domestica* изучали по методу F. C. Jager, который основан на определении внеэритроцитарного гемоглобина, который поступает в кровь в результате спонтанного лизиса мембран эритроцитов, вызванного перекисным окислением липидов.

Введение животным обоих исследуемых экстрактов приводило к уменьшению степени спонтанного гемолиза эритроцитов. При их применении мембраностабилизирующая активность составила 56,1 % (ЭС + В) и 26,8 % (ЭС + П) по сравнению с интактным контролем. Наиболее активным в стабилизации мембран эритроцитов был экстракт *Prunus domestica*, содержащий волокна, который превышал активность экстракта с полисахаридами и не уступал активности препарата сравнения (Силибора).

Таким образом, среди двух исследованных экстрактов был обнаружен наиболее активный и перспективный экстракт из плодов *Prunus domestica*, содержащий волокна. Его мембраностабилизирующая активность может быть связана с наличием в химическом составе полифенольных соединений (суммы оксикоричных кислот)

Ключевые слова: Prunus domestica, эритроциты, мембраны, спонтанный гемолиз, мембраностабилизирующая активность

Надійшла: 22 січня 2019 р.

Контактна особа: Сенюк Ігор Валерійович, кандидат фармацевтичних наук, доцент, кафедра біологічної хімії, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Куликівська, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 63 131 31 00. Електронна пошта: citochrom@gmail.com