

Липополисахаридаар үүсгэсэн үрэвслийн загварт чихэр өвс, өндөр зоосон цэцгийн хандны азотын ислийн гарцад үзүүлэх нөлөөг тодорхойлсон дүн

А.Ананд¹, Л.Ариунзаяа^{2,3}, М.Ариунзаяа³, Л.Энхсайхан³, Б.Золзаяа⁴, Ц.Сарнай⁵, А.Шийрэвнямба⁵, Б.Ариунзаяа³

¹АШУҮИС, Эрдмийн сургууль, Эрүүл Мэндийн Судалгааны тэнхим

²АШУҮИС, Эм зүйн сургууль

³АШУҮИС, Био-Анагаахын сургууль, Дархлаа судлалын тэнхим

⁴АШУҮИС, Био-Анагаахын сургууль, Молекул биологи-Удамзүйн тэнхим

⁵АШУҮИС, Эрдмийн сургууль

Цахим шуудан: smakeranand@gmail.com, Утас: 88043970

Түлхүүр үг:

Чихэр өвс
Өндөр зоосон
цэцэг
Макрофаг
Үрэвсэл

Товч утга:

Үндэслэл: Азотын исэл (NO) нь биологийн мессенжер молекул бөгөөд үрэвслийн эмгэг жамд чухал үүрэг гүйцэтгэдэг. Энэ нь физиологийн нөхцөлд үрэвслийн эсрэг нөлөө үзүүлдэг байна. Нөгөө талаас NO нь хэвийн бус нөхцөлд хэт их үйлдвэрлэгдэх үед үрэвслийг өдөөдөг зуучлагчийн үүрэгтэй. NO нь үе мөч, гэдэс болон уушгины үрэвсэлт өвчний эмгэгжамд оролцдог ажээ. Чихэр өвс (*Glycyrrhiza Uralensis*) нь буурцагтны (Fabaceae) овогт багтах олон наст өвслөг ургамал үрэвслийн эсрэг, вирусний эсрэг, элэг хамгаалах шинж чанартай тул уламжлалт анагаах ухаанд өргөн хэрэглэгддэг. Сүүлийн үеийн судалгаанд чихэр өвсөнд глициризин, liquiritigenin, isoliquiritigenin зэрэг биондэвхт нэгдэл агуулагддаг нь тодорхойлогдсон ба липополисахаридаар өдөөгдсөн макрофагийн үрэвслийн эсрэг цитокины нийлэгжилтийг дарангуйлснаар үрэвслийн эсрэг чухал үүрэгтэй хэмээн тэмдэглэжээ. Мана-Өндөр зоосон цэцэг (*Inula helenium* L.) нь олон наст өвслөг ургамал бөгөөд амьсгалын замын төрөл бүрийн өвчний үед цэр ховхлох, халдварын эсрэг, үрэвслийн эсрэг, цагаан хорхойн эсрэг бэлдмэл байдлаар хэрэглэдэг талаар дурджээ. Чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг нь Монгол уламжлалт анагаах ухаанд эмийн жорын найрлаганд ордог ч үрэвслийн эсрэг нөлөөг тодорхойлоогүй байгаа нь бидний судалгааны ажлын үндэслэл боллоо. **Зорилго:** Липополисахаридаар өдөөгдсөн RAW 264.7

макрофаг шугаман эсэд чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны үрэвслийн эцсийн бүтээгдэхүүн NO-гийн үүсэлтэнд үзүүлэх нөлөөг судлах. **Арга, аргачлал:** Судалгааг туршилт судалгааны загвараар АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэнг түшиглэн хийж гүйцэтгэлээ. Хулганын макрофаг төст RAW264.7 эсийн шугаман өсгөөрт ургамлын хандны хоргүй тунг МТТ аргаар, липополисахаридаар өдөөн үрэвслийн загвар үүсгэсэн RAW264.7 эсийн шугаман өсгөөрт азотын ислийн гарцыг Грейссийн аргаар тодорхойлсон. Үр дүнгийн статистик боловсруулалтыг SPSS-25.0 программыг ашиглан Oneway Anova аргаар р утгыг тооцоолон бүлэг хоорондын ялгаатай байдлыг үнэлсэн. **Үр дүн:** RAW 264.7 эсийн өсгөөрт чихэр өвс болон өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны 1-25 мкг/мл хүртэлх тун эсэд хоргүй, ургалтыг нь нэмэгдүүлж байсан бол 50 мкг/мл тун эсийг хордуулж ургалтыг дарангуйлах нөлөө үзүүлэв ($p < 0.01$). Харин ургамлын хандны хосолсон байдлаар эсэд үйлчлэхэд 1-100 мкг/мл хүртэлх тун эсэд хоргүй, эсийн ургалтыг нэмэгдүүлж байсан бол 500 мкг/мл тунгаас эхлэн эсийг хордуулж ургалтыг дарангуйлсан ($p < 0.001$). Чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны азотын ислийн гарцад үзүүлэх нөлөөг тодорхойлоход хяналт буюу PBS-ээр үйлчилсэн бүлэгтэй харьцуулахад чихэр өвс ургамлын ханд нь тун болон хугацаа хамааралтайгаар NO-гийн гарцыг ихэсгэж байна. Харин өндөр зоосон цэцэг ургамлын ханд нь азотын ислийн гарцанд тун болон хугацаа хамааралтай нөлөө үзүүлээгүй. Липополисахаридаар өдөөгдсөн үрэвслийн загварт чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны азотын ислийн гарцад үзүүлэх нөлөөг тодорхойлоход чихэр өвс ургамлын хандны 12 цагийн өсгөөрт 30 мкг/мл тунгаар дарангуйлж байсан бол 48 цагийн дараа тун болон хугацаа хамааралтай азотын ислийн гарцыг бууруулж байгаа нь тогтоогдлоо. Харин өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандаар үйлчилсэн бүлэгт 12 болон 24 цагийн өсгөөрт өөрчлөлт ажиглагдаагүй ч 48 цагийн өсгөөрт 25 мкг/мл тунгаар ЛПС-аар өдөөсөн азотын ислийн гарцыг дарангуйлсан. **Дүгнэлт:** Чихэр өвс ургамлын ханд дангаараа тун болон хугацаа хамааралтайгаар азотын ислийн гарцыг ихэсгэж байна. Липополисахаридаар өдөөсөн азотын ислийн гарцыг чихэр өвс ургамлын ханд тун болон хугацаа хамааралтайгаар бууруулж байсан бол өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандаар үйлчилсэн бүлэгт 48 цагийн өсгөөрт 25 мкг/мл тунгаар ЛПС-аар өдөөсөн азотын ислийн гарцыг дарангуйлсан.

Үндэслэл: Азотын исэл (NO) нь биологийн мессенжер молекул бөгөөд үрэвслийн эмгэг жамд чухал үүрэг гүйцэтгэдэг. Энэ нь физиологийн нөхцөлд үрэвслийн эсрэг нөлөө үзүүлдэг байна. Нөгөө талаас NO нь хэвийн бус нөхцөлд хэт их үйлдвэрлэгдэх үед үрэвслийг өдөөдөг зуучлагчийн үүрэгтэй. NO нь аргининийг цитруллин болгон хувиргах замаар NO үүсгэдэг NOS ферментийн тусламжтайгаар эндотелийн эсэд нийлэгшиж, ялгардаг. NO нь үе мөч, гэдэс болон уушгины үрэвсэлт өвчний эмгэгжамд оролцдог ажээ. Тиймээс NO-ийг дарангуйлагч нэгдлийг үрэвсэлт өвчний эмчилгээнд чухал дэвшилд тооцон эмнэлзүйд ашигладаг.¹

Үрэвслийн урвалын үед макрофаг эс залгилт хийх, антиген илчлэх, цитокин болон медиатор ялгаруулах замаар дархлааны хариу урвалыг зохицуулдаг.² Макрофаг эсэд илрэх PRRs (Pattern recognition receptors) хүлээн авуурын тусламжтай эмгэгтөрөгчийн PAMPs, DAMPs-ийг таньж холбогдоноор макрофаг эс идэвхжиж, цитокин, медиаторыг нийлэгшүүлдэг.³ Хөхтөн амьтдын эсэд TLRs, RLRs, NLRs, CLRs зэрэг PRRs байх бөгөөд TLR4 нь липополисахаридтай өвөрмөцөөр холбогдож, MYD88, TRIF замаар NF- κ B, MAPK транскрипцийн хүчин зүйлсийг идэвхжүүлдэг. Үүний үр дүнд iNOS нь NO-ийн ялгарлыг нэмэгдүүлж, эдийн гэмтэл болон үрэвслийн цитокины нийлэгжилтийг өдөөдөг.⁴ iNOS-оор нөхцөлдсөн NO нь нянгийн бүтээгдэхүүн болон TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-12 зэрэг цитокины үйлчлэлээр үүсдэг. Үрэвслийн үед NF- κ B зам идэвхжихэд NO ялгаралт эрс нэмэгдэж, бага агууламжтай үед судас тэлэх, лейкоцитийг дайчлах үүрэг гүйцэтгэдэг бол өндөр агууламжтай үед эсийн адгези молекулын ялгарлыг дарангуйлж, эсийн апоптозыг дэмждэг.⁵

RAW 264.7 хулганын макрофаг төст эсийн шугаман өсгөвөр нь үрэвслийн судалгаанд өргөн ашиглагддаг загвар юм.⁶ ЛПС нь грам сөрөг бактерийн гадна мембраны бүрэлдэхүүн хэсэг бөгөөд RAW 264.7 эсийг идэвхжүүлж, үрэвслийн загвар үүсгэхэд хэрэглэгддэг.⁷ RAW 264.7 шугаман эсийг ЛПС-аар өдөөснөөр TNF- α , IL-1 β , IL-6 зэрэг цитокин болон NO нийлэгждэг. NO нь эсийн физиологийн үйлажиллагаанд чухал боловч iNOS-ийн хяналтгүй идэвхжил нь NO-гийн хэт их үүсэлтийг өдөөж, физиологийн тэнцвэрт байдлыг алдагдуулна.⁸

Чихэр өвс (*Glycyrrhiza Uralensis*) нь буурцагтны (Fabaceae) овогт багтах олон наст өвслөг ургамал ба дэлхийн бөмбөрцгийн сэрүүн, хуурай бүс нутагт өргөн тархсан байдаг. Монгол орны хувьд, чихэр өвс нь хуурай хээрийн болон говийн бүс нутагт түгээмэл ургадаг.⁹ Чихэр өвсний үндэс, үндэслэг иш нь биологийн идэвхт олон төрлийн бодис агуулдаг. Үндсэн найрлагад сапонин, флавоноид, полисахарид, кумарин, эфирийн тос, органик хүчил, амин хүчил, макро болон микро элементүүд багтдаг.¹⁰ Чихэр өвс нь үрэвслийн эсрэг, вирусний эсрэг, элэг хамгаалах шинж чанартай тул уламжлалт анагаах ухаанд өргөн хэрэглэгддэг.¹¹ Сүүлийн үеийн судалгаанд чихэр өвсөнд глициризин, liquiritigenin, isoliquiritigenin зэрэг биоидэвхт нэгдэл агуулагддаг нь тодорхойлогдсон ба липополисахаридаар өдөөгдсөн макрофагийн

үрэвслийн эсрэг цитокины нийлэгжилтийг дарангуйлснаар үрэвслийн эсрэг чухал үүрэгтэй хэмээн тэмдэглэжээ.¹²

Мана-Өндөр зоосон цэцэг (*Inula helenium L.*) нь нийлмэл цэцэгтэний овог (*Asteraceae*) олон наст өвслөг ургамал бөгөөд манай оронд энэ ургамлыг 1993 оноос одоог хүртэл Булган аймгийн Дашигчилэн сумын нутагт тарьж туршин 10-аад жилийн судалгааны үр дүнд нутагшуулаад байна. Өндөр зоосон цэцэг Төвөд, Монголын уламжлалт анагаах ухаанд “Ману” нэрийн дор 256 жоронд орж, жорын найрлаганд орох давтамжаараа 21-р байранд, Монгол орны эмийн ургамлаас жоронд орох давтамжаараа 5-р байранд эрэмблэгддэг.^{13,14} Ургамлын бэлдмэлийг амьсгалын замын төрөл бүрийн өвчний үед цэр ховхдох, халдварын эсрэг, үрэвслийн эсрэг, цагаан хорхойн эсрэг бэлдмэл байдлаар хэрэглэдэг талаар дурджээ.¹⁵

Чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг нь Монгол уламжлалт анагаах ухаанд эмийн жорын найрлаганд ордог ч үрэвслийн эсрэг нөлөөг тодорхойлоогүй байгаа нь бидний судалгааны ажлын үндэслэл боллоо.

Зорилго: Липополисахаридаар өдөөгдсөн RAW 264.7 макрофаг шугаман эсэд чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны үрэвслийн эцсийн бүтээгдэхүүн NO-гийн үүсэлтэнд үзүүлэх нөлөөг судлах.

Зорилт:

1. RAW 264.7 эсэд чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны хоргүй тунг тодорхойлох.
2. Липополисахаридаар өдөөгдсөн үрэвслийн загварт чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны азотын ислийн гарцад үзүүлэх нөлөөг тодорхойлох.

Арга, аргачлал: Судалгааг туршилт судалгааны загвараар АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэнг түшиглэн хийж гүйцэтгэлээ. АШУҮИС-ийн Судалгааны Ёс Зүйн Хяналтын хорооны 2024 оны 12-р сарын 20-ны өдрийн хурлаар судалгааны арга аргачлалыг хэлэлцүүлж, судалгааг эхлүүлэх зөвшөөрөл авсан /24-25/03-02/.

RAW 264.7 шугаман эсийн өсгөвөр: RAW264.7 шугаман эс нь хулганын макрофаг эс бөгөөд RAW264.7 шугаман эсийг идэвхгүйжүүлсэн 10%-ийн үхрийн хээлийн ийлдэс (FBS), антибиотикийн холимог (стрептомицин, пенициллин G) агуулсан эсийн Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) орчинд 5% CO₂-ийн чийгшилтэй 37°C хэмд өсгөвөрлөв. Өдөр бүр эсийн ургалтыг микроскопоор харж дүгнэн, микроскопийн харагдах талбайд 85-90% хүртэл эсийг ургууллаа. Өсгөвөрийг эсийн хусуур (cell scrub) ашиглан эсийн хөвмөг бэлтгэсэн.

Эсэд хоргүй тунг тогтоох MTT арга: Нэг нүдэнд 100 мкл 3x10⁴ RAW264.7 эсийн шугам байхаар тооцож 96 үүр бүхий бичил хавтанд сэлгүүлэн, 5% CO₂ бүхий нүүрсхүчлийн инкубаторт 37°C-т 24 цаг инкубаци хийсний дараа ургамлын хандны 1-100 мкг/мл хүртэл 6 тунг тус тус 2 мкл-ийг үүрэнд нэмж дахин 5% CO₂ бүхий 37°C-т 24 цаг инкубаци хийсэн. Дараа нь 5

мкл МТТ урвалж нэмж 4 цаг инкубаци хийж эсийн өсгөврийн орчинг соруулж асган, 50 мкл DMSO хийж, 630 нм-т гэрлийн шингээлтийг хэмжсэн. Шинжилгээг нэг дор 3 удаа хийн, хяналтын бүлгийг эсийг 100% амьд хэмээн тооцож эсэд хортой тунг харьцуулав.

Үрэвслийн загвар үүсгэх: RAW 264.7 шугаман эсийн өсгөвөрт 100 нг/мл ЛПС хийж, 37°C, 5% CO₂-т инкубаци хийж, үрэвслийн загвар үүсгэсэн.

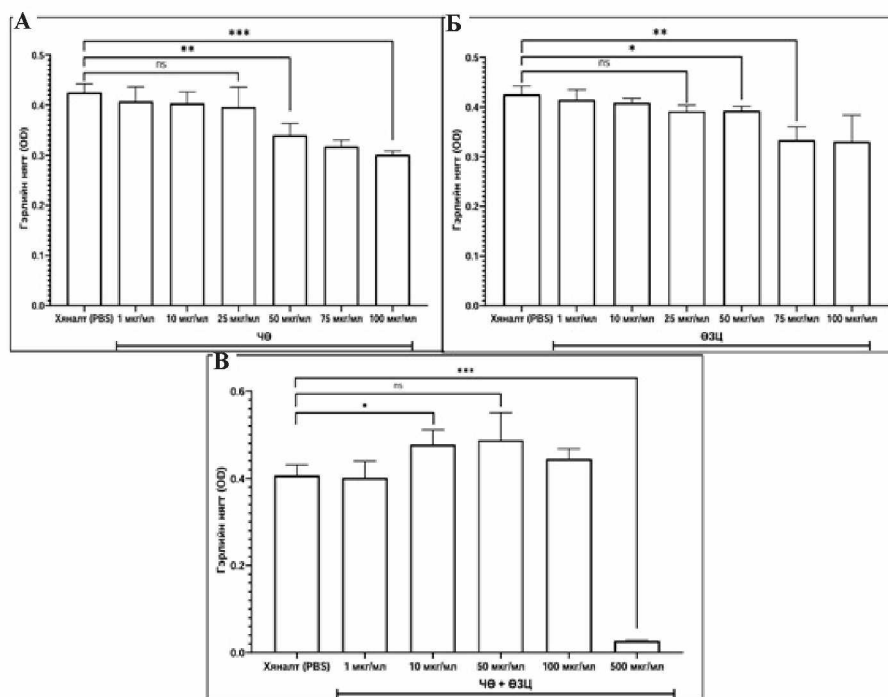
Грейссийн арга: 0.1 М нитритийн стандартыг шингэлэн 100 мкМ бүхий 1 мл уусмал болгож, 96 бичил үүр бүхий хавтангийн эхний багананд 50 мкл эсийн өсгөврийн орчин хийв. Эхний үүрэнд 100 мкМ нитритийн стандартаас 100 мкл-г хийж, дараа нь эхний үүрнээс 50 мкл-г авч дараагийн үүрэнд хийж холиод дахин 50 мкл авч гурав дахь үүрэнд хийх маягаар шингэлэн доод талын үүрэнд нэмэхгүй орхив. Азотын исэл хэмжихдээ сульфаниламид болон NED уусмалыг тасалгааны хэмд 15-30 минут байлгаж, эсийн супернатантаас 50 мкл-г авч шинэ бичил хавтангийн үүрэнд хийсэн. Нитритийн стандарт болон шинжлэгдэхүүн тус бүр дээр 25 мкл сульфаниламидын уусмал нэмж, харанхуй орчинд 5-10 минут инкубаци хийж, үүр тус бүрт 25 мкл NED уусмалаас хийж дахин 5-10 минут инкубацилсан. 30 минутын дотор 520-550 нм-т гэрлийн шингээлтийг хэмжив. Үр дүнг азотын давхар ислийн стандарт муруй байгуулан, гэрлийн шингээлтийг харьцуулж баганан график гаргасан.

Статистик боловсруулалт: туршилт бүрийг нэг дор 3 удаа хийн, үр дүнг SPSS 25.0 програм ашиглан One-way Anova аргаар р утгыг тооцоолон бүлэг хоорондын ялгаатай байдлыг үнэлсэн.

Үр дүн:

RAW 264.7 шугаман эсийн өсгөвөрт чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандаар үйлчилсэн дүн: Чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандыг RAW 264.7 шугаман эсийн өсгөвөрт үйлчилж эсэд хоргүй тунг тодорхойллоо. Эсэд хортой тунг тодорхойлохдоо чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны 1-100 мкг/мл хүртэлх 6 тунгаар болон чихэр өвс + өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны хослолыг 5 тунгаар, хяналтын бүлэгт физиологийн уусмал (PBS)-аар 24 цаг үйлчилсний дараа МТТ аргаар эсийн амьдрах чадварыг үнэлэв.

RAW 264.7 эсийн өсгөвөрт чихэр өвс болон өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны 1-25 мкг/мл хүртэлх тун эсэд хоргүй, ургалтыг нь нэмэгдүүлж байсан бол 50 мкг/мл тун эсийг хордуулж ургалтыг дарангуйлах нөлөө үзүүлэв ($p < 0.01$) (Зураг 1А, Б). Харин ургамлын хандны хосолсон байдлаар эсэд үйлчлэхэд 1-100 мкг/мл хүртэлх тун эсэд хоргүй, эсийн ургалтыг нэмэгдүүлж байсан бол 500 мкг/мл тунгаас эхлэн эсийг хордуулж ургалтыг дарангуйлсан ($p < 0.001$) (Зураг 1В).



Зураг 1. МТТ аргаар RAW 264.7 эсийн өсгөвөрт чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны хоргүй тунг тодорхойлсон дүн

Тайлбар: RAW 264.7 эсэд үйлчилсэн чихэр өвс (А), өндөр зоосон цэцэг (Б), ЧӨ + ӨЗЦ хосолмол (В) ургамлын хандны тунг хэвтээ тэнхлэгийн дагуу харуулав. ЧӨ-чихэр өвс, ӨЗЦ- өндөр зоосон цэцэг. Туршилтийг хамгийн багадаа 3 удаа давтсан ба төлөөлүүлэх утгыг харуулж байна. Статистик үнэн магадлал $p < 0.001$ ***, $p < 0.01$ **, $p < 0.05$ *.

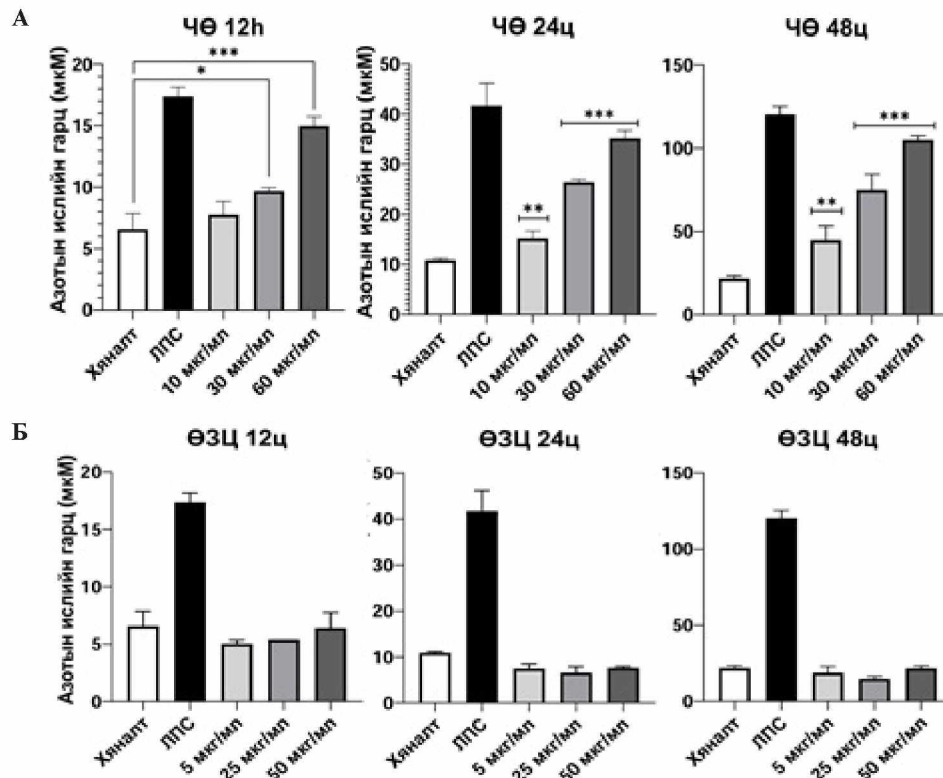
Чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны азотын ислийн гарцад үзүүлэх нөлөөг тодорхойлсон үр дүн: Өмнөх туршилтаар RAW 264.7 шугаман эсийн өсгөвөрт хоргүй нөлөө үзүүлсэн тунгуудыг сонгон азотын исэл (NO)-ийн гарцыг хэмжих Грейссийн

шинжилгээнд ашиглав. Туршилтыг хийхэд:

1. Хяналтын бүлэг (PBS)
2. Липополисахаридаар үйлчилсэн бүлэг
3. Ургамлын хандаар үйлчилсэн гэсэн 3 бүлэгт хувааж ургамлын хандаар 24 цагийн турш

үйлчлэн, эсийг өсгөвөрлөсөний дараа Грейсс шинжилгээний аргаар эсээс ялгарах NO-ийн

гарцыг хэмжлээ (Зураг 2А, Б).



Зураг 2. RAW 264.7 хулганын макрофаг төст эсээс ялгарах азотын ислийн гарцад чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны нөлөөг тодорхойлсон дүн

Тайлбар: Хэвтээ тэнхлэгийн дагуу эсийн өсгөвөрт үйлчилсэн бүлгүүдийг харуулав. чихэр өвс (А), өндөр зоосон цэцэг (Б). ЧӨ-чихэр өвс, ӨЗЦ-өндөр зоосон цэцэг, ЛПС-липолисахарид. Туршилтийг хамгийн багадаа 3 удаа давтсан ба төлөөлүүлэх утгыг харуулж байна. Статистик ач холбогдол $p < 0.001$ ***, $p < 0.01$ **, $p < 0.05$.*

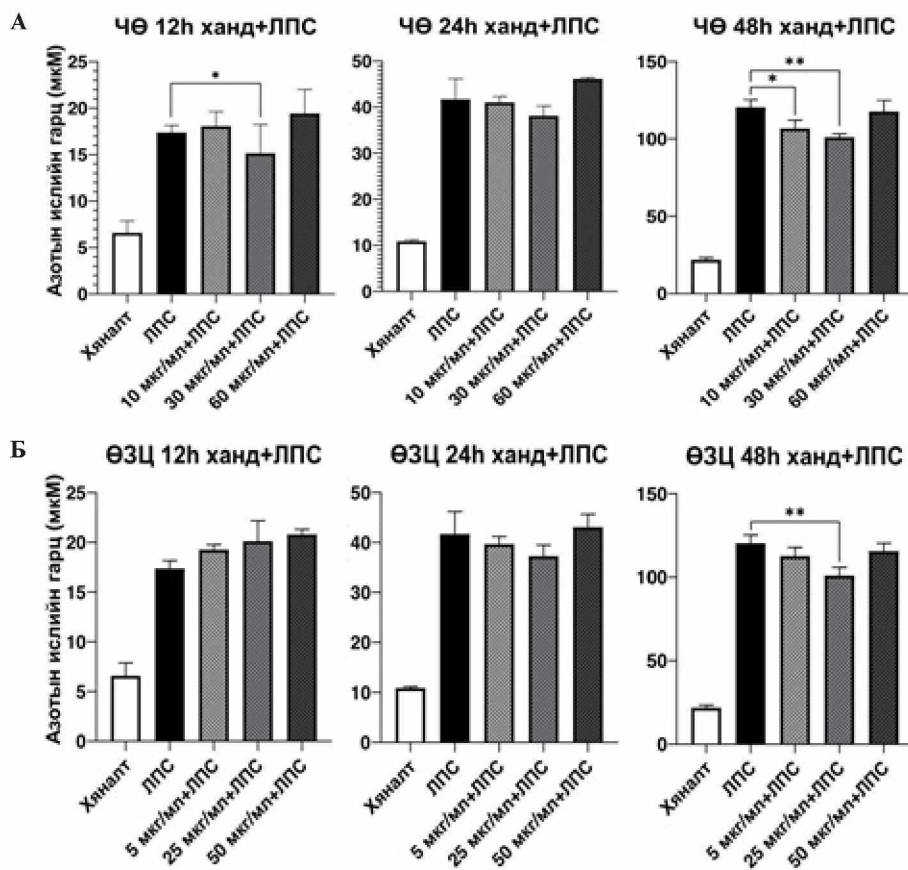
Хяналт буюу PBS-ээр үйлчилсэн бүлэгтэй харьцуулахад чихэр өвс ургамлын ханд нь тун болон хугацаа хамааралтайгаар NO-гийн гарцыг ихэсгэж байна. (Зураг 2А) Харин өндөр зоосон цэцэг ургамлын ханд нь азотын ислийн гарцанд тун болон хугацаа хамааралтай нөлөө үзүүлээгүй. (Зураг 2Б)

Липополисахаридаар өдөөгдсөн үрэвслийн загварт чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны азотын ислийн гарцад үзүүлэх нөлөөг тодорхойлсон үр дүн: Өмнөх туршилтаар RAW 264.7 шугаман эсийн өсгөвөрт хоргүй нөлөө үзүүлсэн тунгуудыг сонгон азотын исэл (NO)-ийн гарцыг хэмжих Грейссийн шинжилгээнд ашиглав.

Туршилтыг хийхэд:

1. Хяналтын бүлэг (PBS)
2. Липополисахаридаар үйлчилсэн бүлэг
3. Ургамлын ханд + липополисахарид гэсэн бүлгүүдэд хуваав. Ургамлын ханд нэмсэнээс 1 цагаан дараа липополисахаридаар үйлчилж 24 цаг эсийг өсгөвөрлөсөний дараа Грейсс шинжилгээний аргаар өдөөгдсөн эсээс ялгаруулах NO-ийн гарцыг тодорхойлов.

Липополисахаридаар өдөөсөн азотын ислийн гарцыг чихэр өвс ургамлын хандны 12 цагийн өсгөвөрт 30 мкг/мл тунгаар дарангуйлж байсан бол 48 цагийн дараа тун болон хугацаа хамааралтай азотын ислийн гарцыг бууруулж байгаа нь тогтоогдлоо. (Зураг 3А)



Зураг 3. Липополисахаридаар өдөөсөн RAW 264.7 хулганын макрофаг төст эсээс ялгарах азотын ислийн гарцад өндөрр зоосон цэцэг ургамлын хандны нөлөөг тодорхойлсон дүн

Тайлбар: Хэвтээ тэнхлэгийн дагуу эсийн өсгөвөрт үйлчилсэн бүлгүүдийг харуулав. чихэр өвс (А), өндөр зоосон цэцэг (Б). ЧӨ-чихэр өвс, ӨЗЦ-өндөр зоосон цэцэг, ЛПС-липолисахарид. Туршилтийг хамгийн багадаа 3 удаа давтсан ба төлөөлүүлэх утгыг харуулж байна. Статистик ач холбогдол $p < 0.01^{**}$, $p < 0.05^{*}$.

Харин өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандаар үйлчилсэн бүлэгт 12 болон 24 цагийн өсгөвөрт өөрчлөлт ажиглагдаагүй ч 48 цагийн өсгөвөрт 25 мкг/мл тунгаар ЛПС-аар өдөөсөн азотын ислийн гарцыг дарангуйлсан. (Зураг 3Б)

Хэлцэмж: Энэхүү судалгааны ажлаар Монгол орны нутагт ургадаг чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны RAW 264.7 шугаман эсийн өсгөвөрт үйлчилж эс хордуулах тунг MTT аргаар тодорхойлов. RAW 264.7 эсийн өсгөвөрт чихэр өвс болон өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандны 1-25 мкг/мл хүртэлх тун эсэд хоргүй, ургалтыг нь нэмэгдүүлж байсан бол 50 мкг/мл тун эсийг хордуулж ургалтыг дарангуйлах нөлөө үзүүлэв ($p < 0.01$). Харин ургамлын хандны хосолсон байдлаар эсэд үйлчлэхэд 1-100 мкг/мл хүртэлх тун эсэд хоргүй, эсийн ургалтыг нэмэгдүүлж байсан бол 500 мкг/мл тунгаас эхлэн эсийг хордуулж ургалтыг дарангуйлж байв.

Мөн RAW 264.7 хулганын макрофаг төст эсэд үрэвслийн загвар липополисахарид (ЛПС)-аар үүсгэж, чихэр өвс, өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандаар үйлчилсний дараа Грейсс шинжилгээний аргаар өдөөгдсөн эсээс ялгарах NO-ийн гарцыг хэмжлээ. Ингэхэд хяналт буюу PBS-ээр үйлчилсэн бүлэгтэй харьцуулахад чихэр өвс ургамлын ханд нь тун болон

хугацаа хамааралтайгаар NO-ийн гарцыг ихэсгэж байсан бол өндөр зоосон цэцэг ургамлын ханд нь азотын ислийн гарцанд тун болон хугацаа хамааралтай нөлөө үзүүлсэнгүй. Липополисахаридаар өдөөсөн азотын ислийн гарцыг чихэр өвс ургамлын хандны 12 цагийн өсгөвөрт 30 мкг/мл тунгаар дарангуйлж байсан бол 48 цагийн дараа тун болон хугацаа хамааралтай азотын ислийн гарцыг бууруулж байгаа нь тогтоогдсон. Харин өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандаар үйлчилсэн бүлэгт 12 болон 24 цагийн өсгөвөрт өөрчлөлт ажиглагдаагүй ч 48 цагийн өсгөвөрт 25 мкг/мл тунгаар ЛПС-аар өдөөсөн азотын ислийн гарцыг дарангуйлсан үр дүн гарлаа.

Lei Yin нарын (2018) судалгаагаар хоёр төрлийн амьтны загвар ашиглан чихэр өвсний үрэвслийн эсрэг нөлөөг тодорхойлсон ба хулганад этиленээр чихэнд нь үйлчилж цочмог үрэвслийн загвар үүсгэж, чихэр өвс ургамлын хандмалаар 500, 250, 125 мкг/кг-ын тунгаар үйлчлэхэд үрэвслийн медиаторуудыг багасгаж байсан.¹⁶ Hyun Min Ko нар (2021) RAW 264.7 хулганы макрофаг төст эсэд ЛПС-аар үрэвслийг өдөөж, чихэр өвс ургамлын хандмалаар үйлчилж NO-ийн гарцыг хэмжиж үзэхэд чихэр өвс ургамлын хандмалын тунгаас хамааран NO-ийн гарц багасч байв. Мөн уг судалгаагаар RAW 264.7 эсийг ЛПС-аар өдөөсний дараа болон ургамлын хандаар үйлчилсний

дараа iNOS, COX-2-ийн уургийн түвшинг хэмжиж үзэхэд уургийн түвшин статистик ач холбогдол бүхий багасч байв.¹⁷ Энэ нь манай судалгааны үр дүнтэй дүйж байна.

Бидний судалгаа нь эсийн өсгөөрт эмийн ургамлын хандаар үйлчлэн эс хордуулах тун, эсийн азотын ислийн гарцад нөлөөлж буй эсэхийг тодорхойлсон нь цаашид эмийн ургамлын эмчилгээний эм бэлдмэл, хүнсний нэмэлт бүтээгдэхүүн гаргахад суурь судалгаа болох боломжтой юм.

Дүгнэлт: Чихэр өвс ургамлын ханд дангаараа тун болон хугацаа хамааралтайгаар азотын ислийн гарцыг ихэсгэж байна. Липополисахаридаар өдөөсөн азотын ислийн гарцыг чихэр өвс ургамлын ханд тун болон хугацаа хамааралтайгаар бууруулж байсан бол өндөр зоосон цэцэг ургамлын хандаар үйлчилсэн бүлэгт 48 цагийн өсгөөрт 25 мкг/мл тунгаар ЛПС-аар өдөөсөн азотын ислийн гарцыг дарангуйлсан.

Талархал: Энэхүү судалгааг АШУҮИС-ийн дотоод санхүүжилтээр хэрэгжиж буй “Монгол анагаах ухааны эмийн түүхий эдээс уушги хамгаалах үйлдэл бүхий биологийн идэвхит хүнсний нэмэлт бүтээгдэхүүн гарган авах фармакологийн болон технологийн зарим судалгаа” сэдэвт төслийн хүрээнд хийж гүйцэтгэв. Уг судалгааг гүйцэтгэхэд дэмжлэг, туслалцаа үзүүлсэн АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэнгийн хамт олонд болон тусалж дэмжсэн бүх хүмүүст талархал илэрхийлье.

Ном зүй:

- Sharma JN, Al-Omran A, Parvathy SS. Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacology*. 2007;12/01 2007;15(6):252-259. doi:10.1007/s10787-007-0013-x
- Fujiwara N, Kobayashi K. Macrophages in inflammation. *Current drug targets Inflammation and allergy*. Jun 2005;4(3):281-6. doi:10.2174/1568010054022024
- Tang D, Kang R, Coyne CB, Zeh HJ, Lotze MT. PAMPs and DAMPs: signal 0s that spur autophagy and immunity. *Immunological reviews*. Sep 2012;249(1):158-75. doi:10.1111/j.1600-065X.2012.01146.x
- Park BS, Lee JO. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes. *Experimental & molecular medicine*. Dec 6 2013;45(12):e66. doi:10.1038/emm.2013.97
- Abramson SB, Amin AR, Clancy RM, Attur M. The role of nitric oxide in tissue destruction. *Best practice & research Clinical rheumatology*. Dec 2001;15(5):831-45. doi:10.1053/berh.2001.0196
- Wang L, Zhang K, Han S, et al. Constituents Isolated from the Leaves of *Glycyrrhiza uralensis* and Their Anti-Inflammatory Activities on LPS-Induced RAW264.7 Cells. *Molecules (Basel, Switzerland)*. May 18 2019;24(10)doi:10.3390/molecules24101923
- Hosseinzadeh H, Nassiri-Asl M. Pharmacological Effects of *Glycyrrhiza* spp. and Its Bioactive Constituents: Update and Review. *Phytotherapy research : PTR*. Dec 2015;29(12):1868-86. doi:10.1002/ptr.5487
- Salvemini D, Misko TP, Masferrer JL, Seibert K, Currie MG, Needleman P. Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Aug 1 1993;90(15):7240-4. doi:10.1073/pnas.90.15.7240
- Meinardi H, Scott RA, Reis R, JW S. The treatment gap in epilepsy: the current situation and ways forward. *Epilepsia*. 2001;42:136-49.
- Mamedov NA, Egamberdieva D. Phytochemical Constituents and Pharmacological Effects of Licorice: A Review. *Plant and Human Health*. Feb 12 2019;12:1-21.
- Leite CdS, Bonafé GA, Carvalho Santos J, Martinez CAR, Ortega MM, Ribeiro ML. The Anti-Inflammatory Properties of Licorice (*Glycyrrhiza glabra*)-Derived Compounds in Intestinal Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(8):4121.
- Jiang L, Akram W, Luo B, et al. Metabolomic and Pharmacologic Insights of Aerial and Underground Parts of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. ex DC. for Maximum Utilization of Medicinal Resources. *Frontiers in pharmacology*. 2021;12:658670. doi:10.3389/fphar.2021.658670
- Fisher R, et al. ILAE Official Report: A Practical Clinical Definition of Epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(4):475-82.
- Sander JW, Shorvon SD, et al. Epidemiology of the epilepsies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1996; 61:433-43.
- Kenny CR, Stojakowska A, Furey A, Lucey B. From Monographs to Chromatograms: The Antimicrobial Potential of *Inula helenium* L. (Elecampane) Naturalised in Ireland. *Molecules (Basel, Switzerland)*. Feb 18 2022;27(4)doi:10.3390/molecules27041406
- Yin L, Guan E, Zhang Y, et al. Chemical Profile and Anti-inflammatory Activity of Total Flavonoids from *Glycyrrhiza Uralensis* Fisch. *Iran J Pharm Res*. Spring 2018;17(2):726-734.
- Ko HM, Lee SH, Jee W, et al. Gancanin N from *Glycyrrhiza uralensis* Attenuates the Inflammatory Response by Downregulating the NF-κB/MAPK Pathway on an Acute Pneumonia In Vitro Model. *Pharmaceutics*. Jul 6 2021;13(7)doi:10.3390/pharmaceutics13071028

Results of the Study on the Effect of *Glycyrrhiza uralensis* and *Inula helenium* L. Extracts on Nitric Oxide Production in a Lipopolysaccharide-Induced Inflammation Model

Anand A¹, Ariunzaya Lkh^{2,5}, Ariunzaya M³, Enkhsaikhan Lkh³, Zolzaya B⁴, Sarnai Ts⁵, Shiirevnyamba A⁵, Ariunzaya B³

¹Department of Health Research, Graduate School, MNUMS

²School of Pharmacy, MNUMS

³Department of Immunology, School of Bio-Medicine, MNUMS

⁴Department of Molecular Biology and Genetics, School of Bio-Medicine, MNUMS

⁵Graduate School, MNUMS

E-mail: smakeranand@gmail.com, Tel: +976-88043970

Background: Nitric oxide (NO) is a biological messenger molecule that plays a significant role in the pathogenesis of inflammation. It has anti-inflammatory effects under physiological conditions but can act as a pro-inflammatory mediator when produced excessively under abnormal conditions. NO is involved in the pathogenesis of inflammatory diseases affecting the joints, intestines, and lungs. Therefore, compounds that inhibit NO production are considered important for the treatment of inflammatory diseases and are used clinically. The RAW 264.7 mouse macrophage-like cell line is a widely used model for inflammation studies. Lipopolysaccharide (LPS), a component of the outer membrane of Gram-negative bacteria, is used to activate RAW 264.7 cells and create an inflammation model. *Glycyrrhiza uralensis*, also known as licorice, is a perennial herbaceous plant in the Fabaceae family. It has been widely used in traditional medicine due to its anti-inflammatory, antiviral, and hepatoprotective properties. Recent studies have shown that licorice contains bioactive compounds such as glycyrrhizin, liquiritigenin, and isoliquiritigenin, which play an important role in inhibiting the synthesis of pro-inflammatory cytokines in macrophages induced by LPS. *Inula helenium* L., also known as elecampane, is a perennial herbaceous plant used as an expectorant, anti-infective, anti-inflammatory, and anti-helminthic agent in various respiratory diseases. Licorice and *Inula helenium* are included in Mongolian traditional medicine prescriptions, but their anti-inflammatory effects have not been fully determined, which forms the basis for this research.

Aim: To study the effect of *Glycyrrhiza uralensis* and *Inula helenium* extracts on the production of NO, the end product of inflammation, in RAW 264.7 macrophage cell lines stimulated with lipopolysaccharide.

Materials and Methods: The non-toxic dose of the plant extracts was determined in RAW 264.7 mouse macrophage-like cell line cultures using the MTT assay. Nitric oxide production in RAW 264.7 cell line cultures stimulated with lipopolysaccharide was assessed using the Griess method. Statistical analysis of the results was performed using SPSS 25.0 software, with the p-value calculated by one-way ANOVA, and the differences between groups were evaluated.

Results: In RAW 264.7 cell cultures, *Glycyrrhiza uralensis* and *Inula helenium* extracts were non-toxic and promoted cell growth at doses ranging from 1 to 25 µg/ml, while a dose of 50 µg/ml was toxic and inhibited cell growth ($p < 0.01$). When the combined plant extracts were applied to cells at doses ranging from 1 to 100 µg/ml, they were also non-toxic and enhanced cell growth, while a dose of 500 µg/ml was toxic and inhibited growth ($p < 0.001$). In terms of nitric oxide production, *Glycyrrhiza uralensis* extract increased NO production in a dose- and time-dependent manner compared to the control or PBS-treated group. However, *Inula helenium* extract did not show a dose- or time-dependent effect on NO production. In the lipopolysaccharide-induced inflammation model, licorice extract inhibited NO production at a dose of 30 µg/ml after 12 hours, and further reduced NO production in a dose- and time-dependent manner after 48 hours. Conversely, no significant changes were observed in the *Inula helenium* extract group at a dose of 25 µg/ml after 48 hours, but a reduction in LPS-induced NO production was observed at a dose of 25 µg/ml after 48 hours.

Conclusion: *Glycyrrhiza uralensis* extract alone increased NO production in a dose- and time-dependent manner. It also reduced LPS-induced NO production in a dose- and time-dependent manner. In contrast, *Inula helenium* extract inhibited LPS-induced NO production at a dose of 25 µg/ml after 48 hours.

Keywords: *Glycyrrhiza uralensis*, *Inula helenium* L., Inflammation, Macrophage