Саримсны ханд болон саримсны ханд агуулсан желатинан нанопартиклийн бактерийн эсрэг болон цус задлах идэвхийн судалгаа

Б.Намуунзул[1], Б.Цэрэндолгор[2], Ж.Сарантуяа[3], Ц.Алтансүх[3]

[1]Гялс анагаах ухааны төв
[2]Эм зүйн шинжлэх ухааны их сургууль
[3]АШУҮИС, Молекул биологи-Удамзүйн тэнхим

Түлхүүр үг:
Саримс
бактерийн эсрэг идэвх
цус задлах идэвх

Товч утга: Саримс нь бактерийн эсрэг болон хавдрын эсрэг өндөр идэвхтэй болох нь олон судалгаагаар тогтоогдсон байдаг. **Зорилго:** Бид энэхүү судалгаагаар Монгол болон Хятад саримснаас спиртэн болон усан ханд бэлтгэн, ханд тус бүрээс желатинан нанопартикль гарган авч, бактерийн эсрэг болон цусны улаан эс задлах идэвхийг үнэлэхийг зорилоо. **Судалгааны хэрэглэгдэхүүн ба арга зүй:** Бактерийн эсрэг идэвхийг дискийн нэвчилтийн болон шингэрүүлэлтийн аргаар тодорхойлсон бол, цусны улаан эс задлах идэвхийг спектрофотометрээр тодорхойллоо. **Үр дүн:** Монгол спиртэн ханд болон Хятад спиртэн ханд нь бактерийн эсрэг идэвхтэй буюу 15 мм өсөлт дарангуйлагдсан бүс үүсгэсэн байна. Харин шөлөнд шингэрүүлэх аргаар бактерийн өсөлтийг дарангуйлах идэвхийг үнэлэхэд хятад спиртэн ханд нь илүү идэвхтэй буюу 16 мг/мл тун нь өсөлтийг дарангуйлах хамгийн бага тун байсан. Цусны улаан эс задлах идэвхийг үнэлэхэд саримсны ханд болон саримсны ханд агуулсан нанопартикль цусны улаан эс задлах идэвхгүй болох болох нь тогтооглоо. **Дүгнэлт:** Энэ бүгдээс дүгнэхэд саримсны ханд нь бактерийн эсрэг идэвхтэй, цусны улаан эс задлах идэвхгүй болох нь харагдаж байна.

ӨГҮҮЛЭЛ

Үндэслэл: Сүүлийн жилүүдэд байгалийн гаралтай буюу эмчилгээний идэвх өндөртэй нь тогтоогдсон эмийн ургамлаас эмчилгээний бэлдмэл гарган авах судалгаа эрчимтэй хийгдэж, гарган авсан эмийн бэлдмэлийг хэрэглэх боломжийг илүү сайжруулах тал дээр эрдэмтэд анхаарч байна.[1] Эмийн инженерчлэлийн салбар буюу эм зөөвөрлөх бүрдэл гарган авах чиглэлийн судалгааг дэлхий дахинд эрчимжүүлснээр эмийн бодисын эмчилгээний идэвхийг нэмэгдүүлэх, эмээс үүдэлтэй гаж нөлөөг бууруулах, эмийн тогтворжилтыг хангах, эрхтэн, эд, эсэд чиглэсэн эмчилгээний бэлдмэлүүдийг зохион бүтээх боломжийг бий болгоод байгаа билээ.[2-6]

Энэхүү судалгаагаар бид саримснаас хэд хэдэн ханд бэлтгэн, саримсны ханд агуулсан нанопартикль гарган авч, тэдгээрийн бактерийн эсрэг болон цус задлах идэвхийг үнэллээ.

Зорилго: Бид энэхүү судалгаагаар Монгол болон Хятад саримснаас спиртэн болон усан ханд бэлтгэн, ханд тус бүрээс желатинан нанопартикль гарган авч, бактерийн эсрэг болон цусны улаан эс задлах идэвхийг үнэлэх.

Судалгааны хэрэглэгдэхүүн ба арга зүй: Бактерийн эсрэг идэвхийг тодорхойлох: Гялс анагаах ухааны төвийн цэвэр өсгөврийн санд хадгалагдаж буй Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Enterococcus faecalis, Steptococcus pyogenes гэсэн 4 төрлийн цэвэр өсгөврүүдийг тус тус ашиглав. Бактерийн эсрэг идэвхийг шалгахадаа эерэг хяналт ампициллиний стандарт диск (susceptibility test disc 30 µg/disc, Hi Media)-ийг ашигласан бол, сөрөг хяналт болгож ариутгасан нэрмэл ус хэрэглэв.

Диск нэвчилтийн арга: Бактерийн эсрэг идэвхийг тодорхойлохдоо саримсны ханд болон нанопартиклийг 100 мг/мл концентрациар нэрмэл усанд уусган бэлтгэлээ. Цэвэр өсгөвөрүүдийг цустай агар (Biomerieux) болон хромагар (CHROMagar) тэжээлт орчинд сэргээн өсгөвөрлөв. Өсгөврөөс авч Мак форландын 0.5 нэгж (1.5x108 колони үүсгэх нэгж) булингатай харьцуулан булинга бэлтгэж, ариун бамбараар Мюллер-Хинтоны агарын гадаргууд зайгүй хөндлөн зурааслаж тарив. Эерэг хяналт болох ампициллины дискийг тарилга хийсэн петрийн аяганд байрлуулж, цэвэр 8 мм–ийн хэмжээтэй /Антибиотик шингээгүй/ дискэнд (1 дискэнд 75 мкл дээж), сөрөг хяналт нэрмэл ус, туршилтын дээжийг тус бүр 50 мкл шингээж 37°C инкубаторт 24 цагийн турш өсгөвөрлөлөө. Үр дүнг дискний эргэн тойронд үүссэн ариун бүсийг хэмжиж (мм) тооцоолов.

ӨГҮҮЛЭЛ

Шөлөнд шингэрүүлэх арга: Үндсэн болон ажлын уусмалыг нэг өсгөвөрт 128 мг/мл саримсны ханд байхаар тооцож нэрмэл усаар найруулав. Шар буурцагны шөлийг 1 мл-ээр савласан тус бүр 9 хуруу шилийг хаяглаж бэлтгэв. Саримсны хандны үндсэн уусмалаас 1 мл-ийг авч эхний шөлөнд хийж холиод, I шөлнөөс 1 мл-ийг II шөлөнд гэх мэтээр туршилтын сүүлчийн хуруу шил хүртэл 2 дахинаар шаталсан шингэрүүлэлтийг хийж, сүүлийн шөлнөөс илүүдэл 1 мл-ийг асгав. 18-24 цаг өсгөвөрлөсөн Staphylococcus aureus-ын өсгөвөрөөс Мак-Фарландын 0.5 нэгж (1.5x108)-тэй тэнцэх булинга бэлтгэж, 150 дахин шингэрүүлэн 1x106 н.э/мл агууламжтай болгоод бүх шөлнүүдэд 1 мл-ийг хийлээ. Бүх өсгөвөрүүдийг 370С-д 24 цаг өсгөвөрлөсний дараа нүдэнд харагдахуйц ургалтгүй, антибиотикийн хамгийн бага тунг өсөлт дарангуйлах хамгийн бага тун (ӨДХБТ) гэж үзлээ.

Цусны улаан эс задлах идэвх: Цусны дээжийг эрүүл С57BL6 үүлдрийн хулганаас гепаринжуулсан хуруу шилэнд авлаа. Цусны улаан эсийг ялгахын тулд эхлээд цусны ийлдэс болон эсүүдийг центрифугдэн ялгав. Тунасан эсүүдийн доод хэсгээс цусны улаан эсийг соруулж авав. Эцэст нь цусны улаан эсийг хүйтэн 0.85%-ын натрийн уусмалаар угааж, центрифугдсэний дараа шингэн хэсгийг асгаж, цусны улаан эсийг бэлтгэлээ. Туршилтанд саримсны ханд болон саримсны ханд агуулсан нанопартиклийг 0.1мг/1мл болон 0.5 мг/1мл байхаар тооцов.

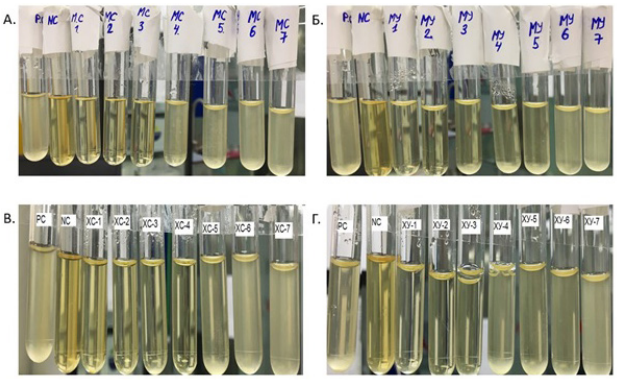
Үр дүн:

Диск нэвчилтийн арга: Саримсны ханд болон саримсны ханд агуулсан нанопартиклийн бактерийн эсрэг идэвхийг 8 төрлийн дээжинд тодорхойлоход грам эерэг бактери болох Staphylococcus aureus-ийн эсрэг идэвхтэй буюу Монгол саримсны спиртэн ханд 14 мм, Хятад саримсны спиртэн ханд 15 мм хэмжээтэй өсөлт дарангуйлагдсан бүс үүссэн байна. Мөн түүнчлэн саримсны ханд болон саримсны ханд агуулсан нанопартиклийн бактерийн эсрэг идэвхийг Streptococcus pyogenes, Enterococcus faecalis, Escherichia coli зэрэг бактериудад үнэллээ. Ийнхүү үнэлэхэд Streptococcus pyogenes-ийн эсрэг Монгол болон Хятад саримсны спиртэн ханд илүү идэвхтэй буюу 15 мм өсөлт дарангуйлагдсан бүс үүссэн байлаа. Харин Enterococcus faecalis, Escherichia coli-ийн эсрэг өсөлт дарангуйлах идэвх ажиглагдсангүй.

Хүснэгт 1. Саримсны ханд болон саримсны ханд агуулсан нанопартикльд дискдиффүзийн аргаар антибиотик мэдрэг чанар тодорхойлсон дүн

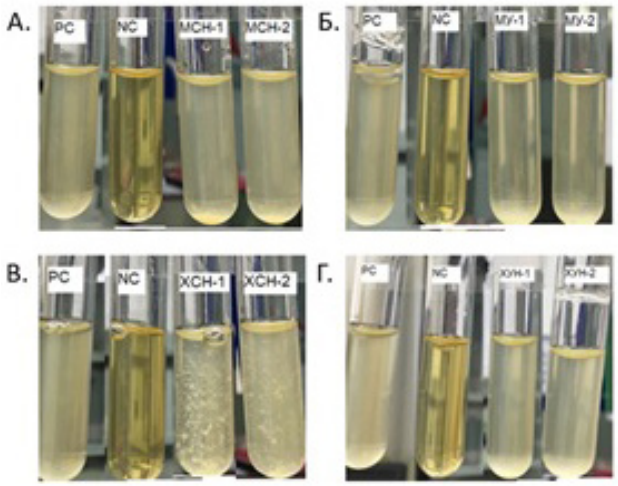
	Дээж	Өсөлт дарангуйлагдсан бүс			
		S.aureus	S.pyogenes	E.faecalis	E.Coli
	Positive control	17мм	30мм	27мм	19мм
	Negative control	0 мм	0ммм	0 мм	0 мм
Ханд	Монгол саримсны спиртэн ханд	14 мм	15 мм	0 мм	0 мм
Ханд	Монгол саримсны усан ханд	8 мм	-	-	-
Ханд	Хятад саримсны спиртэн ханд	15 мм	15 мм	0 мм	0 мм
Ханд	Хятад саримсны усан ханд	12 мм	-	-	-
Нанопартикль	Монгол саримсны спиртэн хандны нанопартикль	0 мм	-	-	-
Нанопартикль	Монгол саримсны усан хандны нанопартикль	0мм	-	-	-
Нанопартикль	Хятад саримсны спиртэн хандны нанопартикль	0 мм	-	-	-
Нанопартикль	Хятад саримсны усан хандны нанопартикль	0мм	-	-	-

Шөлөнд шингэрүүлэх арга: Зураг 1-ээс харахад Монгол спиртэн ханд, Монгол усан ханд, Хятад спиртэн ханд нь бактерийн эсрэг идэвхтэй буюу өсөлтийг дарангуйлах тун нь 3-р хуруу шил буюу 32 мг/1мл тун дээр тодорхойлогдлоо. Харин Хятад спиртэн хандны бактерийн эсрэг идэвх илүү өндөр буюу 16 мг/1 мл (4-р хуруу шил) тун дээр өсөлт дарангуйлах хамгийн бага тун тодорхойлогдлоо.



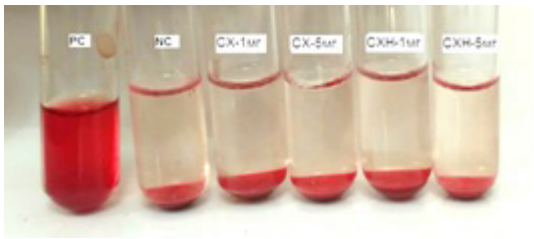
Зураг 1. Саримсны хандыг шөлөнд шингэрүүлэх аргаар антибиотик мэдрэг чанар тодорхойлсон дүн.
А.Монгол саримсны спиртэн ханд, Б. Монгол саримсны усан ханд, В. Хятад саримсныспиртэн ханд, Г. Хятад саримсны усан ханд

Бид саримсны ханд агуулсан желатинан нанопартиклийн бактерийн эсрэг идэвхийг шингэрүүлэлтийн аргаар мөн тодорхойлж үзлээ. Зураг 2-т харуулснаас дүгнэхэд саримсны ханд агуулсан нанопартикль нь бактерийн эсрэг идэвхгүй болох нь харагдаж байна.



Зураг 2. Саримсны ханд агуулсан нанопартиклыг шөлөнд шингэрүүлэх аргаар антибиотик мэдрэг чанар тодорхойлсон дүн.
А.Монгол саримсны спиртэн хандны нанопартикль, Б. Монгол саримсны усан хандны нанопартикль, В. Хятад саримсны спиртэн хандны нанопартикль, Г. Хятад саримсны усан хандны нанопартикль

Цус улаан эс задлах идэвх: Саримсны ханд болон саримсны ханд агуулсан нанопартиклийн биед үзүүлэх гаж нөлөөг үнэлэх зорилгоор цусны улаан эс задлах идэвхийг тодорхойллоо /Зураг 3/.



Зураг 3. Саримсны ханд болон саримсны ханд агуулсан нанопартиклийн цусны улаан эс задлах идэвх

Туршилтанд 1 бүлэгт 0.1 мг/1 мл, 0.5 мг/1 мл гэсэн 2 тунгаар нийт 8 бүлгийн 16 дээж бүрт цус задлах идэвхийг үнэллээ. Эерэг болон сөрөг хяналттай харьцуулахад бүх бүлэгт цусны улаан эс задлах идэвх илрээгүй.

Хэлцэмж: Бидний өмнөх судалгаагаар саримсны гол биологийн идэвхит нэгдэл болох аллицинийг Монгол болон хятад саримсны ханданд харьцуулан тодорхойлоход Хятад саримсны спиртэн ханданд аллицины агууламж 215.5 мкг/мл буюу өндөр тодорхойлогдож байсан.[7] Үүнээс үндэслэж саримсны голлох нэгдэл болох аллицин нь хятад спиртэн ханданд илүү агууламжтай илэрч байсан нь бактерийн эсрэг идэвхит нөлөөлсан байж болох юм. Харин саримсны ханд агуулсан желатинан нанопартикль нь бактерийн өсөлтийг саатуулах үйлчлэл үзүүлсэнгүй. Энэ нь желатинан нанопартиклийн шинж чанартай холбоотой байж болох юм. Саримсны ханд болон саримсны ханд агуулсан нанопартиклийн цусны улаан эс задлах идэвхийг үнэлэхэд цусны улаан эс задлах идэвхгүй болох нь тогтоогдсон. Энэ нь саримсны ханд болон саримсны ханд агуулсан нанопартикль биед ямар нэгэн хоруу чанар үзүүлэхгүйг илтгэж байна.

Дүгнэлт: Бидний судалгаагаар саримсны ханд нь бактерийн эсрэг идэвхтэй, цусны улаан эс задлах идэвхгүй, харин саримсны ханд агуулсан желатинан нанопартикль нь бактерийн эсрэг болон цусны улаан эс задлах идэвхгүй болох нь тодохойлогдлоо.

Ном зүй:

1. *McGuire S. World Cancer Report 2014. Geneva, Switzerland: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, WHO Press, 2015. Advances in nutrition. Mar 2016;7(2):418-419.*
2. *World Health Organization, Global Battle against CancerWon't Be Won with Treatment Alone. Effective Prevention Measures Urgently Needed to Prevent Cancer Crisis, International Agency for Research on Cancer, London, UK, 2014*
3. *Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life sciences. Mar 12 2004;74(17):2157-2184.*
4. *Anselmo AC, Mitragotri S. An overview of clinical and commercial impact of drug delivery systems. Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society. Sep 28 2014;190:15-28.*
5. *Ragelle H, Danhier F, Preat V, Langer R, Anderson DG. Nanoparticle-based drug delivery systems: a commercial and regulatory outlook as the field matures. Expert opinion on drug delivery. Jul 2017;14(7):851-864.*
6. *Aglan HA, Ahmed HH, El-Toumy SA, Mahmoud NS. Gallic acid against hepatocellular carcinoma: An integrated scheme of the potential mechanisms of action from in vivo study. Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine. Jun 2017;39(6):1010428317699127.*
7. *Б.Намуунзул, Ж.Сарантуяа, Ц.Алтансүх. Саримсны ханд болон саримсны ханд агуулсан нанопартикль дахь аллициний агууламжийг үнэлсэн дүн. Эмзүй сэтгүүл, 2019, 153-158*

Antibacterial and hemolytic assay of garlic extract and garlic extract-loaded gelatin nanoparticles

Namuunzul B[1], Tserendolgor B[2], Sarantuya J[3], Altansukh Ts[3]

[1]Gyals medical center
[2]Mongolian University of Pharmaceutical Sciences
[3]Mongolian National University of Medical Sciences

Introduction: Garlic has been recognized as an effective agent against bacterial infection and cancer.
Purpose: In the current study, we obtained various extracts from Mongolian and Chinese garlic and then prepared garlic extract-loaded gelatin nanoparticles to investigate their antibacterial and hemolytic effect.
Materials and methods: The antibacterial effect was carried out by disc diffusion method and broth dilution method, and the hemolytic assay was performed by using UV-vis spectrophotometer
Results: According to the result, ethanol extracts from Mongolian and Chinese garlic had antibacterial effect with diameter of 15 mm by disc diffusion method. Interestingly, the ethanol extract of Chinese garlic also produced a relatively higher rate of antibacterial effect with minimal inhibitory concentration of 16 mg/ml. As for the hemolytic assay on the garlic extracts and nanoparticles, no hemolysis was observed in all groups.
Conclutson: hence, the results showed that the garlic extracts had antibacterial effects and produced no influence on red blood cells.

Keywords: garlic, antibacterial effect, hemolytic effect