ДЭРЭВГЭР ЖИРГЭРҮҮ *(SAPOSHNIKOVIA DIVARICATA (TURCZ) SCHISCHK)* УРГАМЛЫН ВИРҮСИЙН ЭСРЭГ ҮЙЛДЛИЙН СУДАЛГАА

Ц.Гүндэгмаа[1], Д.Эрдэнэчимэг[1], Б.Болдбаатар[1], Г.Чойжамц[2]

[1]АШУҮИС, [1]Мал Эмнэлгийн Хүрээлэн

Түлхүүр үг:
Энцефалит үүсгэгч вирүс,
ВНК-21 эсийн өсгөвөр,
Дэрэвгэр жиргэрүү

Товч утга: Манай орны Хэнтий, Хангай, Дорнод Монголын нутгаар ургадаг Дэрэвгэр жиргэрүү *(Saposhnikovia divaricata) /Turcz/ Schischk)* нь үйлдвэрлэлийн өндөр ач холбогдолтой, ховордож буй ургамлаар бүртгэгдсэн эмийн ургамал юм. Иймд Монгол эх орныхоо байгалийн баялаг болон уламжлалт анагаах ухааны арвин баялаг сан хөмрөгт тулгуурлан эмийн ургамлын биологи, фармакологийн үйлдлийг тэдгээрт агуулагддаг гол ба дагалдах нэгдлүүдтэй холбон судалж шинжилсний үндсэн дээр фармакологийн идэвхтэй, ургамлын гаралтай шинэ эмийн бэлдмэл буй болгох нь эмчилгээний төдийгүй эдийн засгийн ач холбогдолтой. Бидний сонгон судалж буй Дэрэвгэр жиргэрүү ургамлыг Дорно дахины анагаах ухаанд халуун бууруулах, өвчин намдаах, үрэвслийн эсрэг болон хавдрын эсрэг үйлдлийг нь өргөн ашиглаж байгаа үнэ цэнэтэй эмийн ургамал бөгөөд ургамлын химийн бүтэц болон фармакологийн үйлдлийг Монголд судалсан шинжлэх ухааны баримт нотолгоо бидний хайлтаар мэдээлэл эх сурвалжийн хүрээнд хомс байгаа нь уг ургамлын химийн бүтэц, геномын болон фармакологийн судалгааг хийх шаардлагатайг харуулж байна.

Зорилго, зорилт: Монгол оронд ургадаг Дэрэвгэр жиргэрүү *(Saposhnicovia divaricata /Turcz/ Schischk)* ургамлын вирүсийн эсрэг үйлдлийг тогтоох

Хэрэглэгдэхүүн, арга зүй: Хүнд тархи нугасны үрэвсэл үүсгэдэг хачигт энцефалит өвчний хоруу чанар өндөртэй вирус, мөн үүсгэгчид мэдрэг ВНК-21 (Baby Hamster Kidney буюу үхэр зусагны бөөр) эсийн өсгөвөр ашигласан болно. Эсийн өсгөвөрийн Игла тэжээлт орчныг зохих орцын дагуу бэлтгэсний дараа эсийн өсгөвөрт нэмж инкубаторт 37^0С-д 3-4 өдөр тавьж ургуулсан. Эсийн ургалтыг өдөр бүр гэрлийн микроскопоор шалгасан.

Үр дүн: ДЖ-ийн бэлдмэл in vitro нөхцөлд эсэд гэмтэл үүсгэхгүй байгаа нь бэлдмэлийн найрлагад вирүсийн эсрэг үйлчилгээ бүхий бодис агуулагдаж байгааг харуулж байна.

Дүгнэлт: in vitro нөхцөлд вирүсийн эсрэг үйлдэл үзүүлж байв.

Удиртгал: Манай орны Хэнтий, Хангай, Дорнод Монголын нутгаар ургадаг Дэрэвгэр жиргэрүү *(Saposhnikovia divaricata (Turcz) Schischk)* нь үйлдвэрлэлийн өндөр ач холбогдолтой, ховордож буй ургамлаар бүртгэгдсэн эмийн ургамал юм. Иймд Монгол эх орныхоо байгалийн баялаг болон уламжлалт анагаах ухааны арвин баялаг сан хөмрөгт тулгуурлан эмийн ургамлын биологи, фармакологийн үйлдлийг тэдгээрт агуулагддаг гол ба дагалдах нэгдлүүдтэй холбон судалж шинжилсний үндсэн дээр фармакологийн идэвхтэй, ургамлын гаралтай шинэ эмийн бэлдмэл буй болгох нь эмчилгээний төдийгүй эдийн засгийн ач холбогдолтой. Бидний сонгон судалж буй Дэрэвгэр жиргэрүү ургамлыг Дорно дахины анагаах ухаанд халуун бууруулах, өвчин намдаах, үрэвслийн эсрэг болон хавдрын эсрэг үйлдлийг нь өргөн ашиглаж байгаа үнэ цэнэтэй эмийн ургамал бөгөөд ургамлын химийн бүтэц болон фармакологийн үйлдлийг Монголд судалсан шинжлэх ухааны баримт нотолгоо бидний хайлтаар мэдээлэл эх сурвалжийн хүрээнд хомс байгаа нь уг ургамлын химийн бүтэц, геномын болон фармакологийн судалгааг хийх шаардлагатайг харуулж байна.

Зорилго, зорилт: Монгол оронд ургадаг Дэрэвгэр жиргэрүү *(Saposhnicovia divaricata (Turcz) Schischk)* ургамлын вирүсийн эсрэг үйлдлийг тогтоох

Судалгааны хэрэглэгдэхүүн, арга зүй:

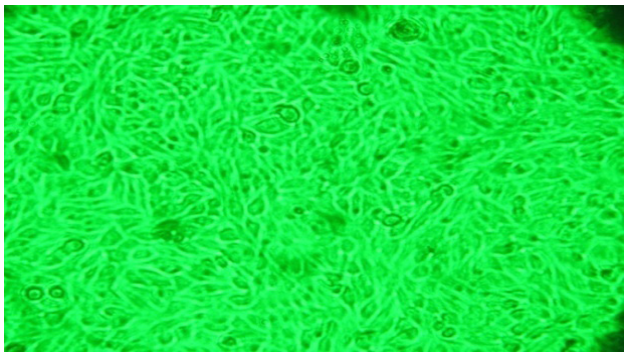
Судалгааны ажлыг Мал эмнэлгийн хүрээлэнгийн вирүс судлалын лабораторт ажиллах халдвар хамгаалал, аюулгүй ажиллагааны журмыг мөрдлөг болгон, био-анагаахын ёс зүйн удирдамжийн дагуу ёс зүйн хэм хэмжээг баримтлан гүйцэтгэсэн болно.

Дэрэвгэр жиргэрүүгийн дээж бэлтгэл, бэлдмэл: Дэрэвгэр жиргэрүүгийн үндэснээс хуурайшуулж хатаах (лиофолизацийн) аргаар ханд бэлтгэж судалгааны объект болгон ашигласан. Дэрэвгэр жиргэрүүгийн бэлдмэлийн вирүсийн эсрэг идэвхийг in vitro нөхцөлд дараах арга зүйн дагуу тодорхойлов.

Вирүс, эсийн өсгөвөр: Хүнд тархи нугасны үрэвсэл үүсгэдэг хачигт энцефалит өвчний хоруу чанар өндөртэй вирус, мөн үүсгэгчид мэдрэг ВНК-21 (Baby Hamster Kidney буюу үхэр зусагны бөөр) эсийн өсгөвөр ашигласан болно. Эсийн өсгөврийн Игла тэжээлт орчныг зохих орцын дагуу бэлтгэсний дараа эсийн өсгөвөрт нэмж инкубаторт 37^0С-д 3-4 өдөр тавьж ургуулсан. Эсийн ургалтыг өдөр бүр гэрлийн микроскопоор шалгах бөгөөд эсийн ургалт эс өсгөврийн савны ханын 90%-г бүрхэж ургасны дараа эсийг трипсин, ЭДТА-гаар үйлчлүүлэн салган авч, 1500 эрг/мин-аар тохируулан центрифугдэн эсийг суулгасны дараа эсийг шинэ тэжээлт орчноор цийдүүлэн авч 96 үүр бүхий эсийн өсгөвөрийн хавтанд өсгөвөрлөсөн.
Эмийн бэлдмэлийн тунг тохируулах: Эмийн бэлдмэлээс 100мг тунг ариун фосфатын буферт уусган 220нм-ийн хэмжээтэй шүүрээр шүүж бэлтгэсэн. Шүүж бэлтгэсний дараа дан цэврээр, үүний дараа ½-ийн зэрэгтээс 1/512 хүртэл шингэлж бэлтгэсэн.

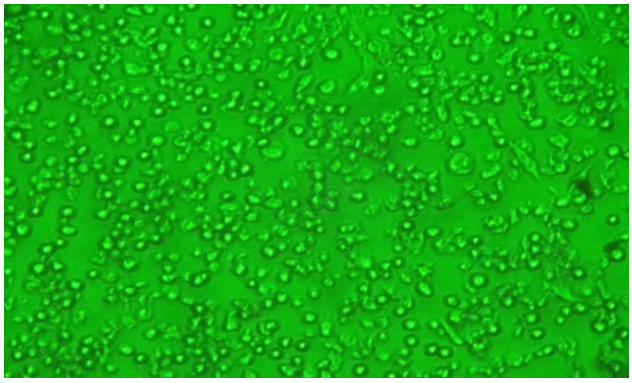
Иммуногистохимийн арга: Эсийн гэмтлийг иммуногистохимийн аргаар шалгасан болно. Өсгөвөрлөсөн эсэд вирүс халдааж 3 хонуулсны дараа эмийн бэлдмэлийг нэмнэ. Дахин 3 хонуулсны дараа эсийг хүйтэн метанолоор 1 цаг бэхжүүлнэ. Дараа нь фосфатын буферээр 3 удаа угаагаад глициний 0.2М буферыг үүр бүрт 100мкл хэмжээгээр нэмээд 2 минут тасалгааны температурт байлгаад 0.2%-ийн тритон х-100-аар үйлчлүүлж 2 минут болгосны дараа 2%-ийн үхрийн ийлдэсний альбуминыг 200мкл хэмжээгээр үүр бүрт нэмээд тасалгааны температурт 15 минут тавина. 0.2%-ийн үхрийн ийлдэсний альбумин, 0.1%-ийн тритон х-100 бүхий буферт хачигт энцефалитад эерэг адууны ийлдэс 1:25 харьцаагаар шингэлж үүр бүрт 50 мкл хэмжээгээр нэмж тасалгааны температурт дахин 30 минут байлгаад Фосфатын буферээр 3 удаа угаасны дараа Protein-G коньюгатыг 1:1000 харьцаатай шингэлээд тасалгааны температурт 30 минут байлгана. Фосфатын буферээр 3 удаа угаасны дараа диаминобензидин (DAB) нэмж тасалгааны хэмд 30 минут байлгана. Энэ урвалыг нэрмэл ус нэмж зогсоон гэрлийн микроскопоор эсийн ургалтыг шалгасан.

Үр дүн:



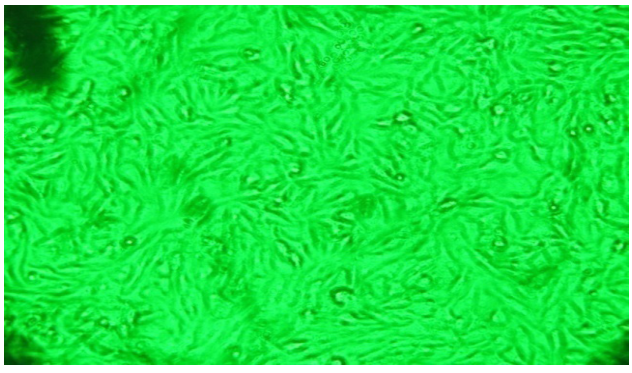
Зураг 1. Дан цэвэр эсийн өсгөвөр (сөрөг хяналт)

Зураг 1-т Сөрөг хяналт буюу цэвэр эсийн өсгөвөрийн зурагт эс хоорондын холбоос, эсийн бүтэц хэвийн байгаа нь харагдаж байна.



Зураг 2. Вирүс дангаар халдаасан эсийн өсгөвөр (эерэг хяналт)

Зураг 2-т Хачигт энцефалитийн $10^{5.4}$ – таньц бүхий вирүс халдаасан эсийн өсгөвөрийн зурагт эсийн эмгэгшил үүссэн, эс хоорондын холбоос тасарч зааглагдсан, эсүүд тус тусдаа болж ховхорсон нь харагдаж байна.



Зураг 3. ДЖ-ийн бэлдмэл, ХЭ-ийн вирүсийг ижил тунгаар нэмсэн эсийн өсгөвөр

Зураг 3-т Дэрэвгэр жиргэрүүгийн бэлдмэлийг шингэлээгүй, ½ шингэрүүлэлтээр бэлтгэсэн бэлдмэл, хачигт энцефалитийн $10^{5.4}$ – таньц бүхий вирүсийг ижил тунгаар хольж эсийн өсгөвөрт нэмэхэд эсийн эмгэгшил үүсээгүй, хэвийн байгаа нь вирүсийн эсрэг нөлөө үзүүлж байгааг харуулж байна.
Уг бэлдмэл in Vitro нөхцөлд эсэд гэмтэл үүсгэхгүй байгаа нь энэ бэлдмэлийн найрлагад вирусын эсрэг

үйлчилгээ бүхий бодис агуулагдаж байгааг харуулж байна.

Дүгнэлт: *in vitro* нөхцөлд вирүсийн эсрэг үйлдэл үзүүлж байв.

Хэлцэмж: Хүний тархи нугасны үрэвсэл үүсгэдэг Хачигт энцефалит өвчний вирүс хоруу чанар өндөртэй бөгөөд судалгааны объект болгон ашиглах боломж байсан учир Дэрэвгэр жиргэрүүгийн вирүсийн эсрэг нөлөөг бид судаллаа. Иммуногистохимийн судалгаагаар Хачигт энцефалитийн $10^{5.4}$ – таньц бүхий вирүс халдварлуулсан эсийн өсгөвөрт эсийн эмгэгшил үүссэн, эс хоорондын холбоос тасарч зааглагдсан, эсүүд тус тусдаа болж ховхорсон байв.

Хачигт энцефалитийн $10^{5.4}$–таньц бүхий вирүсийг эсийн өсгөвөрт халдварлуулсаны дараах эхний 1, 2, 3 дах хоногт Дэрэвгэр жиргэрүүг шингэрүүлээгүй, ½ шингэрүүлэлтээр бэлтгэсэн бэлдмэлээр үйлчлэхэд эсийн эмгэгшил үүссэн, эс хоорондын холбоос тасарч зааглагдсан, эсүүд тус тусдаа болж ховхорсон зэрэг вирүсийн эсрэг нөлөөний, бидний судалж байгаа Дэрэвгэр жиргэрүүгийн бэлдмэл in vitro нөхцөлд вирүсийн эсрэг үйлдэл үзүүлж, харин эзэн эсэд гэмтэл үүсгэхгүй байгаа нь энэ бэлдмэлийн найрлагад вирүсийн эсрэг үйлчилгээ бүхий бодис агуулагдаж байгааг харуулахын зэрэгцээ хүний вирүсийн эсрэг эмийн эх сурвалж байх боломжтойг харуулж, полисахарид, хромон, флавонойд агуулсан ургамал вирүсийн эсрэг нөлөө үзүүлдэг[5-15] тухай хэвлэлийн материалыг баталгаажуулах бас нэг баримт нь бидний судалгаа болж байна.

Канадын эрдэмтэн Shahriar Khadem, Robin J. Marles (2012) нар Хромон, флавоноид, алкалоид зэрэг биологийн идэвхт бодис нь хавдрын болон вирүсийн эсрэг, үрэвслийн эсрэг, дархлаа дарангуйлах, мэдрэлийн болон сэтгэцийн эмгэг, чихрийн шижин зэрэг өвчний үед эмчилгээний үр нөлөө үзүүлдэг болохыг тодорхойлсон байна. Эдгээр бодис нь циклин хамааралт киназа1,2-ыг дарангуйлах замаар нөлөөлдөг байна.[13-15]

Биофлавоноид нь ихэнх ургамалд агуулагддаг, фенолт нэгдэл юм. Флавоноид нь хүний эрүүл мэндэд ашигтай эмчилгээний үр нөлөөтэй төдийгүй вирүсийн эсрэг үйлдэл үзүүлдэг болохыг тогтоосон[8-15] судалгааны дүнтэй бидний судалгааны үр дүн дүйж байна.

Ном зүй:

1. *Sivaperumal R, Jayakumararaj R. Ethnopharmacological studies on the Medicinal Plants used by Tribal Inhabitants of Kottur Hills, Dharmapuri, Tamilnadu, India. Environ. We Int. J. Sci. Tech. 2010;5: 57-64.*
2. *МУ-ын засгийн газрын тогтоол 165. 2004 оны 8-р сарын 5-ны жагсаалт батлах тухай №350 Дэрэвгэр жиргэрүү (Saposhnikovia divaricata) (Turcz) Schischk). Төрийн мэдээлэл №39(372). 2004; 724.*
3. *Zhao B, Yang X, Zhang L. Sapodivarin a new coumarin from roots of Saposhnikovia divaricata. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2010; jun. 35(11): 1418-1420.*
4. *Emi Okuyama, Tetsuya Hasegawa, Takamitsu Matsushita, Haruhiro Fujimoto, Masami Ishibashi, Mikio Yamazaki. Analgesic components of Saposhnikovia Root (Saposhnokovia divaricata). Chem. Pharm. Bull. 2001; 49 (2): 154-160*
5. *Ching-Chiung Wang, Lih-Geeng Chen, Ling-Ling Yang. Inducible nitric oxide synthase inhibitor of the Chinese herb I. Saposhnikovia divaricata (Turcz) Schischk. Cancer Letters 1999; 145: 151-157*
6. *Kuo YC, Lin YL, Hyang CP, Shu JW, Tsai WJ. A tumor cell growth inhibitor from Saposhnikovia divaricata. Cancer Invest 2002; 20(7-8): 955-964.*
7. *Jie Kang, Lei Zhou, Jing-Hao Sun, Min Ye, Jian Han, Bao-Rong Wang, De-An Guo."Three new compounds from the roots of Saposhnikovia divaricata"Journal of Asian Natural Products Research. 2008; 10(10): p. 971-976*
8. *Jing-Bo Sun, Yu-Gang Gao, Pu Zhang, He Yang, Lian-Xue Zhang. Mineral Elements in Root of Wild Saposhnikovia Divaricata and Its Rhizosphere Soil. Biological Trace Element Research. June 2013; 153(1-3): 363-370*
9. *TaiJoseph, Cheung Susan. Anti-proliferative and antioxidant activities of Saposhnikovia divaricata. Oncol Rep. 2007; 18(1): 227-234.*
10. *Young-Won Chin, Yoo Hyun Jung, Hee-Sung Chae, Kee Dong Yoon, Jinwoong Kim. Anti-inflammatory Constituents from the Roots of Saposhnikovia divaricata. Bull.Korean Chem. Soc. 2011; No.6(32): 2132*
11. *Xu G, Dou L, Guo Q, Zhou C. Inhibitory effects of baicalein on the influenza virus in vivo is determined by baicalein in the serum. Biol. Pharm. Bull. 2010; 33(2): 238-243*
12. *Chiang L.C, Chiang W, Liu M.C, Lin C.C. In vitro antiviral activities of Caesalpinia pulcherrima and its related flavonoids. Jou. Antimicrob. Chemother. 2003; 52: 194-198*
13. *Zandi K, Teoh B.T, Sam S.S, Wong P.F, Mustafa M.R, Abubakar S. Antiviral activity of four types of bioflavonoid against dengue virus type-2. Virol. Jou. 2011; 8(1): 560 p. 1-11*
14. *Jefree Johari, Aynaz Kianmehr, Mohd Rais Mustafa, Sazaly Abubakar, Keivan Zandi. Antiviral activity of Baicalein and Quercetin against the Japanese Encephalitis virus. Int. J. Mol. Sci. 2012; 13: 16785-16795*
15. *Florian Herrmann, Marta R.Romero, Alba G.Blazquez, Dorothea Kaufmann, Mohamed L.Ashour, Stefan Kahl, Jose J.G.Marin, Thomas Efferth and Michael Wink. Diversity of Pharmacological properties in Chinese and European medicinal plants: cytotoxicity, antiviral and antitrypanosomal screening of 82 herbal drugs. Diversity. 2011; 3: 547-580 www. mdpi.com/journal/diversity*

RESULT STUDY OF ANTI-VIRAL EFFECTS OF *SAPOSHNIKOVIA DIVARICATA (TURCZ) SCHISCHK*

Gundegmaa TS[1], Erdenechimeg D[1], Boldbaatar B[1], Choijamts G[2]

Mongolian National University of Medical Science[1], Institute of Veterinari Medicine[1]

Background: Saposhnikovia divaricata was registered as a destroyed plant and it has high significance of productivity. Therefore on the base of natural resources and abundant fund of traditional medicine, it is important to study of biological and pharmacological action of medicinal plant. In connection with main and side compounds, which are contained in them and to produce new medicinal plant. It is important for treatment and economy. The plant which we are studying is a valuable plant its action is widely used in decreasing temperature, relieving pain, anti-inflammation and cancer. Its chemical structure and pharmacological action have not been studied in Mongolia. This became the basis of studying this plant.

Aim: To determine antiviral effects of the *Saposhnikovia divaricata (Turcz) Schischk (SDS)* in BHK-21 cell culture infected by the encephalitis virus.

Materials and Method: Sensitive to encephalitis virus cell line BHK-21 were contaminated with specimen from experimental animals infected with encephalitis viruses. The cell culture was incubated at 37^0 C during 3-4 days in EAGLE cell culture medium. Cytopathic effect (CPE) was evaluated under invert microscopy.

Result: The cell culture treated with Saposhnikovia divaricata has not demonstrated CPE. However, cells treated with SDS has shown a notable CPE.

Conclusion: The *SDS* is antiviral effective in vitro.

Key words: Encephalitis virus, BHK-21 cell line, *Saposhnikovia divaricata*