

## МОНГОЛ ОРНЫ ЗАРИМ ЭМИЙН УРГАМЛЫН АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗА ФЕРМЕНТИЙН ИДЭВХИЙГ ДАРАНГУЙЛАХ ҮЙЛЧЛЭЛИЙГ СУДАЛСАН НЬ

Ц.Жаал1, Б.Мөнгөнцэцэг1, Ж.Батхүү1\*

1МУИС-ийн Биологийн факультет, Биохими-биоорганик химийн тэнхим, Фармакогнозийн лаборатори

\*холбоо барих e-mail: batkhuu@biology.num.edu.mn

### ANTI-ACETHYLCHOLINESTERASE ACTIVITY OF SOME MONGOLIAN MEDICINAL PLANTS

Ts. Jaal1, B. Munguntsetseg1, J. Batkhuu1\*

1Laboratory of Pharmacognosy, Department of Biochemistry and Bioorganic chemistry, Faculty of Biology, National University of Mongolia

\*Contact address: batkhuu@biology.num.edu.mn

Acetylcholinesterase (AChE) inhibitors have been used in the treatment of *Alzheimer's* disease (AD). Currently, the only effective treatment for AD disease targets the cholinergic system using anti-cholinesterase compounds. AD is progressive, degenerative disease characterized by memory loss, language deterioration, poor judgment, impaired visuospatial skills etc.

There are a few synthetic medicines, e.g. tacrine, donepezil and the natural product-based rivastigmine and galantamine to treat cognitive dysfunction and memory loss associated with AD. These approved drugs are limited in use due to their adverse side effects such as gastrointestinal disturbance and bioavailability problems. There still is great interest in finding better AChE inhibitors.

We have screened in this study the anti-acetylcholinesterase effects of 87 samples, which prepared from different parts of 43 plant species. Methanolic extracts of nine plants, namely *Patrinia rupestris*, *Numpaea candida*, *Lespedeza hedysaroides*, *Pachyphurum alpinum*, *Leontopodium Leontopodioides*, *Nonea pulla*, *Leontopodium compestre*, *Gypsophilea patrinii* and *Abies sibirica* showed potent effect, their inhibition ratios were 39.65%, 42.22%, 38.06%, 40.55%, 38.82%, 35.1%, 35.85%, 35.3 % and 53.01%, respectively.

Our research shows that some Mongolian medicinal plants have anti-acetylcholinesterase activity, furthermore investigations needed to isolate pure bio-active compounds from these active plants and determine their chemical structures.

**Keywords:** Acetylcholinesterase inhibitor, *Alzheimer's* disease, medicinal plants

Pp. 26-28, Table 1, References 10

#### Оршил

Организмд холинэргийн системийн гажуудлын үед *Alzheimer*-ийн өвчин үүсдэг (1) ба нас ахисан хүн амын дунд ихэвчлэн тохиолддог. Энэ өвчин ой санамжаа алдах анхны шинж тэмдгээр илэрч (2) улмаар хэл яриа, сэтгэх чадвар муудах, орон зайг баримжаалах чадвараа алдах зэрэгээр оюун ухааны хомсдолд хүргэдэг (3). Ацетилхолинэстераза ферментийн идэвхийг дарангуйлах үйлчлэлтэй эмийн бэлдмэлийг *Alzheimer*-ийн өвчний эмчилгээнд хэрэглэж байна. Такрин (tacrine), Донепезил (donepezil) зэрэг цөөн тооны синтетик эм, байгалийн гаралтай Ривастигмин (rivastigmine), Галантамин (galanthamine) зэрэг эмийг *Alzheimer*-ийн өвчинтэй холбоотойгоор ой санамжаа алдах зэрэг мэдрэлийн эсийн хэвийн үйл ажиллагааны алдагдлыг эмчлэхэд хэрэглэж байна. Гэвч эдгээр эмүүд гаж нөлөө ихтэй тул хэрэглээ нь хязгаарлагдмал байдаг (4). Физостигмин (physostigmine), такрин зэрэг ацетилхолинэстераза ферментийн ингибиторууд элэг хордуулах гаж нөлөөтэй болох нь тогтоогдсон (5). Харин галантамин илүү сонгомол үйлчилгээтэй бөгөөд одоогийн байдлаар Австри улсад эмчилгээнд хэрэглэхийг зөвшөөрсөн эм юм (6).

Зүүн өмнөд азийн орнуудад олон мянган жилийн өмнөөс ой санамж сайжруулах зорилгоор эмийн ургамлыг хэрэглэсээр иржээ. Зарим фармакологийн

судалгаагаар ургамлаас ацетилхолинэстераза ферментийн идэвхийг дарангуйлах үйлчилгээтэй шинэ бодисыг нээж илрүүлэх судалгааны ажил хийгдсээр байна. Жишээлбэл: Солонгосын хүн орхоодой (*Panax ginseng*) нь ой ухаан сайжруулах үйлчлэлтэй, *Hyperzia serrata* -аас ялгасан гиперзин А (hyperzinA) (7), *Riniera saria*-аас ялгасан зарим алкилпиридиний полимерууд (alkylpyridinium polymers), *Eudia rutaecarpa*-аас ялгасан дегидроэводиамин (dehydroevodiamin) болон *Corydalis ternate*-аас гаргасан протопин (protopin) (8) зэрэг ацетилхолинэстераза ферментийн ингибиторуудыг судалгаагаар илрүүлсэн боловч эдгээр нь биозохицол бага, гаж нөлөө ихтэй (9) тул хэрэглээнд өргөн нэвтрэхгүй байна. Иймд эдгээрээс илүү сайн үйлчлэлтэй ацетилхолинэстераза ферментийн ингибиторыг байгалийн гаралтай түүхий эд, ялангуяа ургамлаас илрүүлэх чиглэлийн судалгаа нэлээд сонирхол татах боллоо. Бид энэ скрининг судалгаагаар манай оронд ургадаг зарим эмийн ургамлын ацетилхолинэстераза ферментийн идэвхийг дарангуйлах үйлчилгээг судаллаа.

#### Материал, арга зүй

##### Бодис урвалж:

Тризма буфер, ацетилхолинэстераза фермент

- AChE, ацетилхолин иодид-Ach, DTNB (5.5'- Dithiobis-

(2- nitrobenzoic acid)) зэргийг Sigma-Aldrich Chemie GmbH, анализын цэвэр метанол болон бусад урвалжийг дотоодын ханган нийлүүлэгч компаниудаас тус тус худалдан авсан болно.

Багаж, шил сав: Гэрлийн шингээлтийг UV-VIS Spectrometer-160 ( Shimadzu, Japan) багажаар хэмжив.

Эмийн ургамлыг түүж, бэлтгэх: Судалгаанд авсан ургамлуудыг хангай, хээр, говийн бүслүүрээс 2008 онд түүж сүүдэр газар агаарт хатааж бэлтгэсэн. Ургамлыг ШУА-ийн Ботаникийн хүрээлэнгийн эрдэм шинжилгээний ахлах ажилтан Ч.Санчир тодорхойлсон.

Ургамлын ханд бэлтгэх:

Ургамлыг эрхтэн бүрээр нь ялгаж жижиглэн метанолоор 1:10 (гр/мл) гурван удаа, хандлах бүрдээ 4 хоног тавьж хандлан нийлбэр хандыг вакум нэрэгчээр 42-45°C-д нэрж хуурай өтгөн ханд гарган авсан.

Ацетилхолинэстераза ферментийн эсрэг идэвхийг тодорхойлох.

Эллманы боловсруулсан колориметрийн аргаар тодорхойлсон (10). 0.0020гр ургамлын дээжийг 2мл DMSO-д уусгаж 1000мкг/мл концентрацитай дээж уусмал бэлтгэнэ. 1.9мл буфер уусмал руу дээж уусмалаас 20 мкл, AChE 40мкл-ийг авч нэмнэ. 30 минутын турш хөргөгчинд (4°C) урьдчилсан өсгөвөрлөлт хийнсний дараа DTNB 20мкл, ACh 20мкл –ийг нэмсэнээр фермент субстратыг задлах урвал эхэлнэ. Субстратын задралаар үүссэн бүтээгдэхүүн нь DTNB-тэй өнгөт нэгдэл үүсгэнэ. Шинжилж байгаа дээж Ацетилхолинэстеразийг дарангуйлах идэвхитэй бол субстратын задрал бага байх ба тэр хэмжээгээр өнгөт нэгдэл бага үүснэ. Дээжийн гэрлийн шингээлтийг 412нм-ийн долгионы уртад 0, 5, 10 дахь минутад хэмжинэ. Ацетилхолинэстераза ферментийг дарангуйлах идэвхийг дараах томъёогоор тооцож гаргана.

Үр дүнг тооцоолох:

Дарангуйлах % =  $100 \times (A_{10\text{хяналт}} - \Delta A_{\text{дээж}}) / A_{10\text{хяналт}}$

$\Delta A = A_{10\text{хяналт}} - A_{00\text{мин}}$

#### Судалгааны үр дүн, хэлцэмж

Бид энэхүү судалгаагаар 15 овгийн 43 зүйл ургамлын 87 дээжинд Ацетилхолинэстераза ферментийг дарангуйлах идэвхийг шалгасан. Үр дүнг Хүснэгт 1-д үзүүлэв.

Хүснэгт 1. Ацетилхолинэстераза ферментийг дарангуйлсан идэвхийн үр дүн

Овог	Зүйл	Эрхтэн	Дарангуйлах идэвхи(%)
Boraginaceae	<i>Cynoglossum divaricatum</i> Steph.	иш	16.66
		үр	27.7
	<i>Lappula consanguinea</i> (Fisch.et Mex). Gurke.	иш	-
		навч	24.16
	<i>Nonea pulla</i> L. DC.	иш	35.01
Chenopodiaceae	<i>Axyris prostrata</i> L.	иш	-
		цэцэг, навч	-
		үндэс	-
			-

Compositae	<i>Cirsium esculentum</i> L.	навч	-
	<i>Cirsium incanum</i>	цэцэг	-
		иш	-
	<i>Erigeron acer</i> L.	навч	23.0
		үр	-
		үндэс	-
	<i>Galatella dahurica</i> (DC).	навч, цэцэг	25.26
		иш	-
			-
	<i>Leontopodium campestre</i> (Ldb).	навч	15.5
		цэцэг	35.85
		иш	11.9
		үндэс	35.09
	<i>Leontopodium leontopodioides</i> (Willd). Beauvd.	цэцэг, үр	38.82
		иш	-
	<i>Senecio ambraceus</i> (Takcz).	иш	-
		үндэс	-
	<i>Senecio nemorensis</i> L.	иш	-
	<i>Solidago dahurica</i> Kitag.	иш	21.0
цэцэг		22.2	
<i>Sonchus arvensis</i> L.	навч	-	
	цэцэг	28.7	
	иш	-	
	үндэс	29.2	
<i>Thanaetum vulgare</i> L.	цэцэг	27.3	
	иш	-	
	навч	-	
Cruciferae	<i>Arabis pendula</i> L.	иш	-
		навч	-
	<i>Ptilotrichum tenuifolium</i> (Steph) C.A.Meg.	үндэс	-
		навч, цэцэг	-
	<i>Sisymbrium loeselii</i> L.	цэцэг	22.5
иш		-	
навч		25.3	
Gramineae	<i>Achnatherum splendens</i> (Trin) Nevski.	навч	-
		иш	-
	<i>Gypsophylla patrinii</i> Ser.	үндэс	35.3
		иш	-
<i>Elymus chinensis</i> (Trin) Keng.	навч	-	
		-	
Labiatae	<i>Stachys palustris</i> L.	иш, үндэс	-
		навч	-
	<i>Dracocephalum ruyschiana</i> L.	цэцэг, навч	28.24
		иш	-
	<i>Lagopsis supina</i> (Steph) ik-Gal.	үндэс	-
		иш	-
		навч, цэцэг	-
	<i>Leonurus deminutus</i> Krecz.	иш	-
		навч, цэцэг	-
	<i>Mentha arvensis</i> L.	навч, цэцэг	-
		иш	-
	<i>Amethystea coerulea</i> L.	иш	-
цэцэг		-	
үндэс		-	
<i>Galeopsis bifida</i> L.	иш	-	
	навч, цэцэг	-	

Legumibasae	<i>Lespedeza hedysaroides</i> (Pall) Kitag.	навч	-
		иш	-
		үндэс	38.06
Nymphaeaceae	<i>Nymphaea candida</i>	газрын дээд хэсэг	42.22
Papaveraceae	<i>Corydalis sibirica</i> (L.F) Pers.	газрын дээд хэсэг	22.6
Pinaceae	<i>Abies sibirica</i>	газрын дээд хэсэг	53.01
Ranunculaceae	<i>Leptopyrum fumaroides</i> L.	навч	31.1
Rosaceae	<i>Agrimonia pilosa</i> (Ldb.)	үндэс	19
		цэцэг, навч	23.94
		иш	14.49
	<i>Cotoneaster melanocarpa</i> Lodd.	иш	-
	<i>Filipendula ulmaria</i> (L) Maxim.	иш	-
		навч, цэцэг	-
	<i>Potentilla astragalifolia</i> Bge.	газрын дээд хэсэг	28.57
Rubiaceae	<i>Rubia cordifolia</i> L.	навч	17.1
Umbeliferae	<i>Angelica decurrens</i> (Ldb) B. Fedtsch.	навч	18.75
		үр	21.9
		иш	-
	<i>Carum buriaticum</i> Turc.	иш	-
	<i>Heracleum dissectum</i> (Ldb).	цэцэг, навч	16.66
		иш	28.31
<i>Pachypleurum alpinum</i> (Ldb).	үндэс	40.55	
	иш, навч	-	
Valerianaceae	<i>Patrinia rupestris</i> (Pall).	иш, үндэс	39.65
		навч	32.41

- идэвхийг

Хүснэгтээс харахад *Patrinia rupestris* –ийн навч 32.41%, иш үндэс 39.65%, *Nymphaea Candida*-ийн газрын дээд хэсэг 42.22%, *Lespedeza hedysaroides* –ийн үндэс 38.06%, *Pachypleurum alpinum*-ийн үндэс 40.55%, *Leontopodium Leontopodioides*–ийн цэцэг-үр 38.82 %, *Nonea pulla*-ийн иш 35.1%, *Leontopodium compestre*-ийн цэцэг 35.85%, үндэс 35.05%, *Gypsophilea patrinii*-ийн үндэс 35.3%, *Abies sibirica*-ийн газрын дээд хэсэг 53.01%-ийн идэвхтэй байгаа нь сонирхол татаж байна. Мөн *Tanacetum vulgare* – ийн цэцэг 27.3%, *Galatella dagurica*-ийн цэцэг-навч 25.26%, *Sonchus arvensis*-ийн цэцэг 28.7%, *Dracocephalum ruischiana*-ийн цэцэг-навч 28.24%, *Heracleum dissectum*-ийн иш 28.31%, *Gynoglossum divaricatum*-ийн үр 27.7%, *Leptopyrum fumaroides*-ийн навч 31.1%-иар тус тус ацетилхолинэстераза ферментийн идэвхийг

дарангуйлж байлаа. 11 дээжинд идэвхи сул илэрсэн ба бусад дээжинд огт илрээгүй.

Монгол орны зарим эмийн ургамлын Ацетилхолинэстераза ферментийн идэвхийг дарангуйлах үйлчилгээг судалсан дүнгээр 35%-иас дээш идэвхитэй 9 ургамал байгааг тогтоосон бөгөөд цаашид эдгээр ургамлуудаас идэвхтэй нэгдлийг цэврээр ялган авч химийн бүтцийг тогтоох, улмаар хэрэглээнд нэвтрүүлэх боломжийг эрэлхийлэх судалгааг үргэлжлүүлэн хийж байна.

#### Талархал:

Уг судалгааг явуулахад үнэтэй зөвлөгөө өгч зарим урвалж бодисоор тусалсан Австри Улсын Грацын Их Сургуулийн профессор А.Н.Врантнер-т талархал илэрхийлж байна. Судалгааны ажлын зарим хэсгийг Японы Хонда Сан (Honda foundation)-аас санхүүжүүлсэн болно.

#### Ном зүй

1. Oh.M.H., Houghton.P.J., Wang.W.K., Cho.J.H. Screening of Korean herbal medicine used to improve cognitive function for anticholinesterase activity. *Phytomedicine*.11 (2004) 544-548
2. Gummings.B.J., Pike.C.J., Shankle.R., Cotman.C.W.  $\beta$ -Amyloid deposition and other measures of neuropathology predict cognitive status in AD. *Neurobiol.Aging*. 17 (1996) 921-933.
3. Vinutha.B., Prashanth.D., Salma.K., Sreeja.S.L., Pratiti. D., Padmaja.R., Radhika.S., Amit.A., Venkateshwarlu. K., Deepak.M. Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 109 (2007) 359-363
4. Shulz. V., Ginkgo extract or cholinesterase inhibitors in dementia: what trials and fail to consider *Phytomedicine*. 10(2003) 74-79
5. Adem.A., *Acta neurol.scand*.149(suppl) (1993) 10
6. Bores.G.M., Huger.F.P., Petro.W., Matlib.A.E., Camacho. f., Rush.D.K., Selk.D.E., Wolf.V., Koslea.R.W., Davis.Jr.L., Vargas.H.M., *Jour. pharmacol. Exp. Ther*. 277 (1996) 728
7. Ma.T.C., Yu., Pharmacological studies on the effect of Panax gensing in learning and memory. *Clin. Tradit. Herbal Drugs* 21 (1990) 38-40
8. Sepcic.K., Marcel.V., Rleabe.A., Turk.T., Suput,D. Fournier. D. Inhibition of acetylcholinesterase by an alkyipyridinium polymer from the marine sponge Riniera *Biochim. Biophys Acta* 1387 (1998) 217-225
9. In Kyung Rhee, Michiel van de Meent, Komkanok Ingkaninan, Robert verpoorte. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. *Journal of Chromatography A*, 915(2001) 217-223
10. Perry.N.S.L., Houghton.P.J., Theolad.A., Jenner.P., Perry.E., In vitro inhibition of human erythrocyte acetylcholinesterase by *Salvia lavandulaefolia* essential oil and constituent terpenes. *J.Pharm. Pharmacol.* 52(2000) 895-902

Танилцаж, нийтлэх санал өгсөн:

Анагаах ухааны доктор, профессор Г.Чойжамц