

ACHILLEA SALICIFOLIA ӨСІМДІК СЫҒЫНДЫЛАРДЫҢ МИКРОБҚА ҚАРСЫ БЕЛСЕНДІЛІГІ

Жанжаксина А.Ш.

zhanzhaxina@yandex.kz

Қолданбалы химия институтының кіші ғылыми қызметкері, Л.Н. Гумилев ат. ЕҰУ-і, Nur-Sultan, Қазақстан, 2 курс докторанты
Ғылыми жетекші – х.ғ.к., PhD, Е.М. Сүлеймен

Фитопрепараттар адам денсаулығын қорғау саласында маңызды рөл атқарады. Табиғи ресурстарға жататындықтан, олар дәстүрлі медицинаның негізгі ингредиенттері болып табылады [1]. *Achillea* өсімдік тегісі күрделігүлділер (*Compositae*) тұқымдасына жатады және 120 тарта түрі белгілі. Бұл өсімдіктер Батыс Азия мен Еуропаға тән, бірақ олар Солтүстік Америка, Австралия және Жаңа Зеландияда кездеседі [2]. Бұл өсімдік тегінің әртүрлі биологиялық белсенділіктері белгілі. Бұл өсімдік тегінің белгілі өкілі *Achillea millefolium*, басқаша атауы - кәдімгі мыңжапырақ, бактерияға қарсы, ісінуге қарсы, ішек құрттарына қарсы және қақырық түсіретін құрал ретінде фитотерапияда қолданылады. Бұл түрдің басқа да белгілі өкілі - *Achillea ptarmica*, ауруды басу, гемостатикалық және тұтқырлықты тудыратын құрал ретінде пайдаланылады [3]. *Achillea*-нің көптеген түрлерінің жерүсті бөліктері халық медицинасында ісінуге қарсы, спазмолитикалық белсенді емдік шөп-шайларын дайындау үшін, сонымен қатар, ревматикалық қызба ауруларды емдеу үшін ісінуге қарсы қолданылады [4]. Сонымен бірге, спазмолитикалық, диабетке қарсы, антиоксиданттық және иммуносупрессивті белсенділіктері туралы ақпараттар белгілі [5].

Осы зерттеудің мақсаты - *Achillea salicifolia* Besser өсімдік сығындылардың микробқа қарсы белсенділігін анықтау және де жоғары белсенділік көрсеткен жағдайда, белсенділікке жауапты таза заттарды бөліп алу.

Әдіс-тәсілдер мен құралдар:

1. **Экстракция:** Өсімдік шикізаты 2017 жылдың тамыз айында жиналды және бөлме температурасында кептірілді. Кептірілген және ұсақталған шикізатты метанолмен бөлме температурасында экстракцияланды. Осыдан кейін фильтр қағазы арқылы сүзіп, ротор буландырғыш көмегімен еріткіштен құрғатылды. Алынған сығындыны ары қарай әртүрлі еріткіштермен сұйықтық-сұйықтық экстракция тәсілімен фракционирлеу жүргізілді: гексанмен, дихлорметанмен және қалдығында - метанол/су болды. Нәтижесінде метанол сығындысынан 3 түрлі сығынды алынды: гексан, дихлорметан және метанол сығындылары. Микробқа қарсы биоанализ үшін сығындылардан белгілі мөлшері алынып, тұрақты массаға дейін құрғатылып, 20 мг/мл концентрациялы ДМСО-дағы ерітінділері дайындалды.

2. **Микробқа қарсы белсенділікті анықтау:** Микробқа қарсы анализ микросұйылту тәсілімен бес бактериалды штаммдарға қарсы жүргізілді: грамм-оң - *Staphylococcus aureus* 6532, *Bacillus cereus*, грамм-теріс - *Salmonella enteridis*, *Escherichia coli* және зеңдік штамм - *Candida albicans* SC5314. Сығындылардың концентрациясы бактерияларға қарсы 1000 мкг/мл-ден 250 мкг/мл дейін, ал *Candida albicans* үшін – 500 мкг/мл-ден 125 мкг/мл дейін концентрацияларда сыналды. Бактериялар үшін колонияларды Петри ыдысында Mueller-Hinton агарында, ал *Candida* үшін YPD агарында өсірді. Бір түндік өсуден кейін Петри ыдыстарын парафинмен орап, салқындатқышта (4°C) сақталды. Бактериялардың бір колониясын 5 мл МН ортасы бар, ал *C. albicans* бір колониясын 5 мл YPD ортасы бар ыдыстарға салынып, бір түнге қозғалғыш инкубаторға (37°C) өсу үшін қойылды. Келесі күні бұл инокулянттың 620 нм толқын ұзындығында оптикалық тығыздығы өлшеніп, 0,003 мәнге дейін жеткізілді. Осыдан кейін 96-шұңқырлы планшеттің әрбір шұңқырына 190 мкл

дайындалған инокулянтты және 10 мкл сыналатын сығындының ерітіндісін (ДМСО-дағы) құйылды. Бактериялардың сезімталдығын сынау үшін оң бақылау ретінде стандартты антибиотик ампициллин (бактериялар үшін) және флуказанол (*C. albicans* үшін), ал теріс бақылау ретінде 10 мкл таза ДМСО қолданылды. Планшеттер қозғалғыш инкубаторға бір түнге 37°C қалдырылды. Келесі күні Mithras LB 940 (Berthold Technologies GmbH & Co. KG, Германия) көмегімен планшеттердің 620 нм толқын ұзындығында оптикалық тығыздығы өлшенді. Бактериялар өсуінің салыстырмалы тоқтауы келесі формула арқылы есептелінді:

$$\%_{\text{ин}} = 100 - \left(\frac{A - B}{C} * 100 \right)$$

Мұндағы:

А –микробтық культура мен өсімдік сығындысы бар шұңқырлардың оптикалық тығыздығының мәні;

В – МН/YPD ортасы (микробтық культурасыз) және сығынды ерітіндісі бар шұңқырлардың оптикалық тығыздығы (сығындылардың түсін ескеру мақсатында);

С – микробтық культура мен еріткіш ДМСО бар шұңқырлардың орташа оптикалық тығыздығы.

3. Биопленкадағы микробқа қарсы белсенділікті анықтау: Биоанализ үшін биопленка түзетін штаммдар қолданылды: *Staphylococcus aureus* USA 300 және *Staphylococcus epidermidis* 1457. Қатып қалған шикізаттан материалды петри ыдысына TSB агарында жайылып, түнге 37°C инкубаторда өсу үшін қалдырылды. Бірнеше колониялар алынып TSB ортасына салынып, қозғалмалы никубаторға (37°C) түнгіге қалдырылды. Келесі күні суспензияның оптикалық тығыздығы 600 нм толқын ұзындығында өлшеніп, 0.1 мәнге дейін жеткізілді. Дайындалған бактериялық суспензиядан 100 мкл алынып, 96-шұңқырлы планшеттің әрбір шұңқырына құйылды, одан кейін планшеттерді стационарлы инкубаторға (37°C) 90 минутқа қалдырылды. Уақыт өткеннен кейін биопленканы бұзып алмайтындай етіп сұйықтықты алып тасталынды және 100мкл PBS буферімен шайылды. Осыны аяқтаған соң әрбір шұңқырға 190 мкл TSB ортасы құйылып оған 10 мкл сығынды ерітіндісін қосылды. Планшеттерді 24 сағатқа стационарлы инкубаторға (37°C) қалдырылды. Инкубациялық периодтан кейін суспензияны алып тастап, 200 мкл PBS буферімен шайып, одан кейін 100 мкл резазурин бояғышын (0,01% мас/V) қосып, тағы 1 сағатқа стационарлы инкубаторға қойылды. Осыдан кейін бояғышы бар планшеттерді Flexstation II спектрофлуориметр көмегімен флуоресценциясын өлшеді (λex 535 нм және λem590 нм). Биопленканың тірі қалған жасушалардың процентік үлесін анықтау үшін өсу бақылауымен салыстыру арқылы жүргізді (жоғарыда келтірілген формула). Оң бақылау ретінде ванкомицин антибиотигі қолданылды. Сығындылардың концентрациясы 1000 мкг/мл-ден 31,25 мкг/мл дейін концентрацияларда сыналды.

Нәтижелер және қорытынды:

Achillea salicifolia өсімдік сығындылардың микробқа қарсы және биопленкадағы микробқа қарсы белсенділіктердің нәтижелері 1,2- кесте келтірілген.

Кесте 1 - *Achillea salicifolia* сығындылардың микробқа қарсы белсенділігі

Штаммдар	МИК (мкг/мл)		
	Гексан сығ.	CH ₂ Cl ₂ сығ.	MeOH сығ.
<i>Staphylococcus aureus</i> 6532	1000 мкг/мл	1000мкг/мл	белсенді емес
<i>Bacillus cereus</i>	500 мкг/мл	1000мкг/мл	белсенді емес
<i>Salmonella enteritidis</i>	белсенді емес	белсенді емес	белсенді емес
<i>Escherichia coli</i>	белсенді емес	белсенді емес	белсенді емес
<i>Candida albicans</i> SC 5314	белсенді емес	белсенді емес	белсенді емес

Кесте 2 - *Achillea salicifolia* биопенкадағы микробқа қарсы белсенділігі

Штаммдар	МИК (мкг/мл)		
	Гексан сығ.	CH ₂ Cl ₂ сығ.	MeOH сығ.
<i>Staphylococcus aureus</i> USA 300	белсенді емес	1000мкг/мл	белсенді емес
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 1457	125мкг/мл	белсенді емес	белсенді емес

Алынған нәтижелерге сәйкес, Ақмола облысында жиналған *Achillea salicifolia* Besser өсімдік сығындылардың айқын көрінетін микробқа қарсы белсенділікті көрсетпеді. Барлық сыналған концентрацияларда сығындылар грамм-теріс бактерияларға қарсы белсенділік байқалмады. Грамм-оң бактерияларға - *Staphylococcus aureus* 6532 қарсы гексан және дихлорметан сығындылары тек 1000 мкг/мл концентрацияда және *Bacillus cereus* қарсы гексан сығындысы - 500 мкг/мл, ал дихлорметан сығындысы – 1000 мкг/мл концентрацияда белсенділік көрсетті. Бұл нәтижелер сығындылардың әлсіз микробқа қарсы белсенділікке ие екендігін сипаттайды.

Биопенкадағы микробқа қарсы белсенділік нәтижелері талдайтын болсақ, гексан сығындысы *Staphylococcus epidermidis* 1457 штаммына қарсы 125 мкг/мл концентрацияда белсенді екен көрсетті, бұл гексан сығындысының орташа белсенділікке ие сипаттайды.

Алғыс: Барлық биоанализдер профессор Уолтер Луйтен зертханасында, Леувен қаласының Католик университетінде (Леувен қ., Бельгия), Erasmus+ бағдарламасының академиялық ұтқырлықты өту кезінде орындалды. Автор биоанализді жүргізуге көмек көрсеткен үшін профессор Уолтер Луйтенге алығысын білдіреді.

Пайдаланған әдебиеттер тізімі

- Noori, A., Amjad, L. & Yazdani, F. (2014). The effects of *Artemisia deserti* ethanolic extract on pathology and function of rat kidney. *Avicenna. J. Phytomed.*, 4 (6). 371-376.
- Ali, N., Ali Shah, SW., Shah, I., Ahmed, G., Ghias, M. & Khan, I. (2011). Cytotoxic and anthelmintic potential of crude saponins isolated from *Achillea wilhelmsii* C. Koch and *Teucriumstocksianum* Boiss. *BMC. Complement. Altern. Med.*, 11(106). 1-7.
- Ghasemi, Y., Khalaj, A., Mohaghezadeh, A., Khosravi, A. (2008). Composition and *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea eriophora*. *Chem. Nat. Comp.*, 44 (5). 663-665.
- Wichtl, M. (2004). *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*, Medpharm, 3rded, 708.
- Tuberoso, C., Montoro, P., Piacente, S., Corona, G., Deiana, M., Dessi, M.A., Pizza, C., Cabras, P. (2009). Flavonoid characterization and antioxidant activity of hydroalcoholic extracts from *Achillea ligustica*All. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 50. 440-448.