

С. І. Степанова¹, С. Ю. Штриголь¹, О. О. Коцар¹, О. А. Беда^{2, 3},
І. І. Конвалюк², Т. В. Пилаєва², Л. П. Можилевська²,
С. М. Ярмолук², В. А. Кунах²

Хімічний склад і вплив екстракту культури тканин унгернії Віктора на поведінкові реакції, координацію рухів і больову чутливість мишей

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків

²Інститут молекулярної біології та генетики
Національної академії наук України, м. Київ

³Товариство з обмеженою відповідальністю «Науково-сервісна фірма «ОТАВА»,
м. Київ

Ключові слова: унгернія Віктора, екстракт культури тканин, хімічний склад, поведінкові реакції, координація рухів, больова чутливість

Лікарські рослини, що тисячоліттями застосовувалися в народній медицині, не втратили свого значення для охорони здоров'я й нині. До таких видів належить середньоазійська рослина родини амарилісових (Amaryllidaceae) унгернія Віктора (*Ungernia victoris* Vved. ex Artjush.). Це ендемічний вид, що зустрічається лише в горах Узбекистану та Таджикистану: на Гісарському хребті та його південних відрогах на висоті 800–2700 м над рівнем моря, і культивується в межах природного ареалу.

Уперше унгернію Віктора (*U. victoris*) описав у 1970 році ботанік, дослідник флори Середньої Азії О. І. Введенський, який знайшов її в горах Чульбаїр, що в Узбекистані. Хоча згадки про «холодну зірку гір» (так називали рослину в давнину) трапляються в стародавніх медичних трактатах, зокрема й авторства Абу Алі Ібн Сіні (Авіценни), який визнавав *U. victoris* ефективним засобом у

відновленні організму після тяжких хвороб [1–5].

Нині ця лікарська рослина є одним з небагатьох джерел важливих для медицини алкалоїдів галантаміну та лікорину, що мають значний потенціал у лікуванні багатьох захворювань. Проблемою є не лише недостатність природної сировинної бази *U. victoris* для отримання біологічно активних речовин (БАР), а й збереження генофонду цього рідкісного виду [6, 7].

З-поміж вторинних метаболітів *U. victoris* найціннішими є азотовмісні сполуки, ізохінолінові алкалоїди – галантамін, лікорин, нарведин, унгерин, унгеридин, гіпеастрин, гемантидин, тазетин, нортазетин, горденін. Усі частини *U. victoris* містять алкалоїди: листя (0,33–1 %), цибулини (0,8–0,9 %), корені (2,25 %). У листі переважає галантамін (0,13–1,15 %) [3, 4, 6, 7]. Медичне значення мають галантамін і лікорин.

Галантамін застосовують для лікування низки неврологічних захворювань, за яких погіршується нервово-м'язова передача: міастенії, прогресивної м'язової дистрофії (міопатії), радикулопатії. За залишкових явищ

поліомієліту, дитячого церебрального паралічу під впливом галантаміну відновлюються рухові процеси, поліпшується загальний стан хворих. Цей засіб показаний також для лікування глаукоми, атонії матки, органів травлення і сечових шляхів, як антидот за отруєння антихолінергічними засобами. Завдяки здатності проникати крізь гематоенцефалічний бар'єр галантамін підвищує вміст ацетилхоліну в центральній нервовій системі (ЦНС), полегшує проведення імпульсів і стимулює процеси збудження, що поліпшує когнітивні функції або уповільнює прогресування зниження розумових здібностей за хвороби Альцгеймера. Галантамін є унікальним серед інгібіторів ацетилхолінестерази тим, що має ще один механізм дії як алостеричний модулятор нікотинових холінорецепторів. Цей механізм безпосередньо сприяє посиленому вивільненню ацетилхоліну й активації постсинаптичних нікотинових рецепторів. Тому галантамін має порівняно вищу ефективність у лікуванні психічних розладів, а побічні явища, що спостерігаються за його застосування, як правило, мають легкий або помірний характер [8, 9].

Подібно до галантаміну, лікорин має антихолінестеразну активність, а також чинить бронхолітичну, відхаркувальну, протизапальну, протигрибкову, противірусну, протималарійну та протипухлинну дію. Показано, що лікорин активний у низькій концентрації та з високою специфічністю проти низки видів злоякісних пухлин як *in vivo*, так і *in vitro*, а також проти різних пухлин, які стійкі до ліків. Крім того, лікорин показав багатообіцяючі перспективи щодо органопротекторної дії [6, 10, 11].

U. victoris також містить вуглеводи, а саме: пектини – 4,9 %, слиз –

7,0 %, цукри – 6,1 %; органічні кислоти – 8,91 %; кумарини – 0,09 %, ефірні олії – 0,12 %, смоли – 6 %, лектини [7, 12].

Зважаючи на те, що природний ареал *U. victoris* обмежений, а її культивування має певні труднощі, виникає потреба в пошуку альтернативних способів отримання БАР, одним з яких є метод культури тканин. Розроблено технології отримання цінних рослинних метаболітів *in vitro*, головним чином з використанням недиференційованих калюсних або суспензійних клітинних культур. Цей біотехнологічний метод має низку переваг перед традиційною заготівлею лікарської рослинної сировини від дикорослих або культивованих рослин завдяки можливості одержання біомаси в умовах екологічно чистого виробництва незалежно від сезону, кліматичних і ґрунтових впливів [6, 12, 13]. Проте хімічний склад культури рослинних тканин і рослини, що розвивається в природних умовах, може суттєво відрізнятися.

Раніше встановлено лектинову активність водно-сольових екстрактів біомаси культури тканин *U. victoris*, надано загальну характеристику лектиноподібної речовини та виявлено її вуглеводну специфічність. Виявлено, що лектини характеризувалися виразною видоспецифічністю щодо еритроцитів у порядку спадання (миші > людини > курки). Показано вуглеводну специфічність для складних полімерних молекул (гіалуронова кислота > гепарин > муцин) [12]. Показано, що екстракти, які отримані з клітинної біомаси *U. victoris*, чинять антимуtagenну, радіопротекторну, антиканцерогенну, гепатопротекторну дію [13].

Мета дослідження – визначити хімічний склад і з'ясувати вплив екстракту культури тканин *U. victoris*

на функціональний стан ЦНС, м'язовий тонус і больову чутливість в експерименті на мишах.

Матеріали та методи. Вихідним матеріалом був високопродуктивний штам UV-15 культури тканин *U. victoris*, яка отримана та понад 20 років пасивована у відділі генетики клітинних популяцій Інституту молекулярної біології і генетики Національної академії наук України (м. Київ) [14]. Калюс вирощували на спеціально розробленому агаризованому безгормональному середовищі 5С у темряві за 23–24 °С у скляних банках об'ємом 210 мл, заповнених 50 мл середовища. Тривалість пасажу культури тканин до знімання врожаю становила 55–65 днів, для пересадки на свіже живильне середовище використовували тканину віком 45–50 днів. Висушували клітинну біомасу з використанням інфрачервоної сушильної шафи (ТОВ «Авангард СВМ Сервіс», Україна) протягом доби за температури 55 °С і вологості 56 % з продувкою повітря протягом 4 хв через кожні 15 хв. Для отримання густого екстракту суху клітинну біомасу *U. victoris* екстрагували 70 % розчином етанолу (10 мл екстрагенту до 1 г біомаси). Екстракт фільтрували за допомогою водоструменевого насоса та концентрували на роторному упарювачі. Із 40 г сухої біомаси отримали 9,6 г густого екстракту угерній Віктора (ГЕУВ), що свідчить про концентрування в 4,2 разу.

ГЕУВ досліджували на вміст водорозчинних моно- та полісахаридів (метод за [15]), вміст фенолів у перерахунку на рутин за взаємодією з реактивом Фоліна-Чокалтеу (метод за [16]), а також проводили хроматомас-спектрометричний скринінг на потенційний вміст речовин, що описані як алкалоїди *U. victoris* [3, 4, 6,

7] і як алкалоїди гемантамінового та галантамінового типів [17].

Для визначення водорозчинних сахаридів ГЕУВ проводили реакцію з надлишком реактиву Бенедикта. Залишок реагенту, що не прореагував з моносахаридами, визначали йодометрично. Кількість водорозчинних сахаридів визначали в перерахунку на глюкозу за таблицями [15]. Окрему порцію екстракту піддавали швидкому гідролізу кислотою за нагрівання, після чого аналізували повторно. Приріст моносахаридів щодо попереднього аналізу відповідав (за вирахуванням води, що приєдналася за гідролізу) вмісту водорозчинних полісахаридів, здатних до інверсії (швидкого гідролізу).

Кількісний вміст суми поліфенолів визначали спектрофотометрично за реакцією з реактивом Фоліна-Чокалтеу за відомою методикою [16]. Вимірювали оптичну густину розчинів ГЕУВ після 30 хв стабілізації забарвлення за довжини хвилі 750 нм. Розраховували кількісний вміст поліфенолів за калібрувальним графіком у перерахунку на рутин.

Хроматографічний скринінг ГЕУВ проводили за допомогою системи ВЕРХ-МС Agilent 1260 Infinity II, яка оснащена мас-спектрометричним детектором LC/MSD iQ (електроспрей-іонізація). Упарений екстракт попередньо розчинили у воді з використанням ультразвукової бані. Для розділення використали хроматографічну колонку ZORBAX Eclipse Plus C18 (150 мм x 4,6 мм, зерно 5 мкм), Agilent Technologies, США. Як елюенти застосовували розчин мурашиної кислоти у воді 1 % (фаза А) та ацетонітрил (фаза В). Швидкість потоку становила 0,5 мл/хв, тривалість одного аналізу – 11 хв. Програма елюювання: градієнт від 10 % В до 95 % В за 8 хв, далі 95 % В до 11 хв.

Температура колонки – 40 °С. Мас-спектри позитивних іонів реєстрували в області m/z 140–700 відповідно до молекулярних мас очікуваних сполук. Усі хроматограми одержано з такими об'ємами інжекцій, розчинів екстрактів, що відповідають однако-вій кількості вихідної біомаси в пере-рахунку на інжекцію (таким чином, різні інтенсивності піків можуть свід-чити про неоднаковий уміст речовин у досліджуваному екстракті).

Фармакологічні дослідження про-водили на базі навчально-наукового інституту прикладної фармації Націо-нального фармацевтичного універси-тету (НФаУ). Умови проведення експериментів на тваринах відповідали положенням Гельсінської декларації щодо гуманного поводження з твари-нами (2000 р.) та Директиви Ради Європейського Союзу із захисту тва-рин, які використовуються для нау-кових цілей (2010 р.) [18]. Дослі-дження схвалено комісією з питань біоетики НФаУ (протокол від 13.03.2024 № 13).

Досліди виконано на дорослих білих безпородних мишах самцях масою 35–45 г. Експериментальних тварин утримували у віварії за постій-ної вологості та температури 21–23 °С на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до води. Розчине-ний у воді ГЕУВ вводили за 30–40 хв до початку тестування в дозі 5 г/кг в об'ємі 0,1 мл/10 г внутрішньошлун-ково (в/ш). Контрольні тварини отри-мували в/ш еквівалентну кількість води.

Вплив ГЕУВ на орієнтовно-дослід-ницьку поведінку, локомоторну активність, емоційні реакції й їхній вегетативний супровід оцінювали в тесті «Відкрите поле». Пристрій являє собою освітлену платформу білого кольору з бортами 15 см заввишки. Підлога платформи

(20 x 20 см) поділена на 16 квадратів 5 x 5 см з отворами діаметром 1,5 см у центрі кожного з них [19]. Мишу поміщали в центр платформи та реє-стрували кількість перетнутих ква-дратів, обстежених отворів, верти-кальних стійок, активів грумінгу, фекальних болюсів та уринацій про-тягом 3 хв.

Вплив ГЕУВ на м'язовий тонус і координацію рухів визначали в рота-род-тесті, використовуючи пристрій зі стрижнем діаметром 2 см, що обер-тається зі швидкістю 10 обертів/хв [19, 20]. Реєстрували час утримання мишей на стрижні, що обертається, протягом 3 хв.

Рівень тривожності мишей вивча-ли в тесті «Світло-темна камера» [21], що ґрунтується на інстинктив-ному прагненні гризунів уникати яскравого освітлення та ховатися в затемненому місці. Пристрій являє собою прямокутну камеру, яка розді-лена перегородкою на два рівні відсі-ки: затемнений та освітлений. Темна камера зверху закривається криш-кою, що знімається. Світла камера без кришки має стінки білого кольо-ру, освітлюється джерелом штучного денного світла. У перегородці є отвір, через який миша може вільно пере-ходити з однієї камери до іншої. Тва-рину поміщали в яскраво освітлену камеру, де вона опинялася в умовах помірного стресу. Реєстрували латентний період входження миші в темний відсік.

Вплив ГЕУВ на формування та від-творення пам'ятного сліду досліджу-вали в тесті умовного рефлексу пасив-ного уникнення (УРПУ) [22]. Використовували той самий прилад, що й у тесті «Світла-темна камера». Затем-нений відсік має електродну підлогу, через яку пропускається електрич-ний струм. Експеримент тривав два дні. Першого дня тваринам вводили

ГЕУВ і формували УРПУ: після переходу до темної камери отвір зачиняли, а миша зазнавала електробольового подразнення (струм 0,6 мА). Наступного дня перевіряли наявність УРПУ, реєструючи латентний період входження в темний відсік і кількість тварин зі сформованим рефлексом. Якщо тварина не переходила з освітленої камери до темної протягом 3 хв, то вважали, що вона досягла критерію навченості. Визначали поведінкові реакції за перебування мишей в освітленому відсіку: кількість незавершених спроб входу в темну камеру, орієнтовно-дослідницьку активність за кількістю стоїлок, емоційні реакції за кількістю болюсів та актив грумінгу.

Вплив ГЕУВ на центральну ланку соматичної больової чутливості вивчали в тесті «Гаряча пластина» [23]. У цій поведінковій моделі ноцицепції термічний подразник активує терморекцептори, больові та «парадоксальні холодкові» рецептори. Прозористінки пристрою внеможливають втечу тварини з гарячої пластини, температура якої становила 54,0 °C. Больову чутливість оцінювали за латентним часом від потрапляння тварини на пластину до першого облизування задньої лапи. Цей поведінковий патерн є надійним критерієм, інші (облизування передньої лапи, стрибки тощо) – менш показові [23]. За наявності знеболювальної дії латентний період збільшується. Час перебування миші на гарячій пластині не перевищував 30 с, щоб запобігти опікам.

Результати дослідів обробляли статистично за допомогою програми Statistica 12. Результати наведено як $M \pm m$, Me [Q25; Q75]. Статистичну значущість міжгрупових відмінностей оцінювали за параметричним t-критерієм Стюдента за нормально-

го розподілу та непараметричним критерієм Манна-Вітні за його відсутності, у випадку обліку результатів в альтернативній формі (ознака наявна / відсутня) – за кутовим перетворенням Фішера (ϕ). Відмінності вважали достовірними за $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення.

Встановлено, що вміст поліфенолів у екстракті, який отриманий із сухої клітинної біомаси *U. victoris* у перерахунку на рутин склав 0,031 % мас. Такий уміст поліфенолів можна охарактеризувати як низький. Для деяких видів рослин їхня кількість сягає 0,8–1 % у зелених тканинах, для ягід чорниці типовим є вміст близько 2 % у перерахунку на суху речовину [24].

Уміст моносахаридів у ГЕУВ становив 0,11 % мас. (на вихідну, вологу біомасу), а полісахаридів, які здатні до інверсії, – 0,47 % мас. Уміст водорозчинних полісахаридів у перерахунку на суху масу склав 4 %. Доцільно встановити тип цих полісахаридів у подальших дослідженнях.

Хромато-мас-спектрометричний скринінг проводили таким чином: зареєстровані хроматограми упорядкованого екстракту за повним іонним струмом (рис. 1) відбудовували за окремими іонами, m/z яких відповідали очікуванім масам іонів $[M+H]^+$ відповідних алкалоїдів із переліку описаних у літературі. Для багатьох m/z на отриманих хроматограмах спостерігали піки різної інтенсивності; за площею піків їхня інтенсивність відрізнялася на 2–3 порядки. Найінтенсивніші піки відповідали m/z 288 (іон $[M+H]^+$ галантаміну, лікорину або їхніх ізомерів), 183 (іон $[M+H]^+$ гарману або ізомерів), 166 (іон $[M+H]^+$ горденіну або ізомерів).

Хроматограму, яка відбудована за m/z 288, наведено на рисунку 2. На

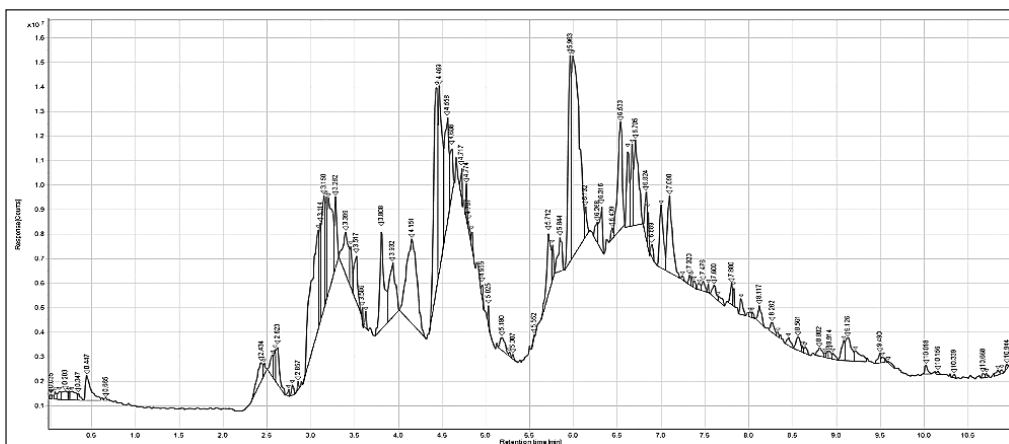


Рис. 1. Хроматограма густого екстракту унгерії Віктора за повним іонним струмом позитивно заряджених іонів m/z 140–700

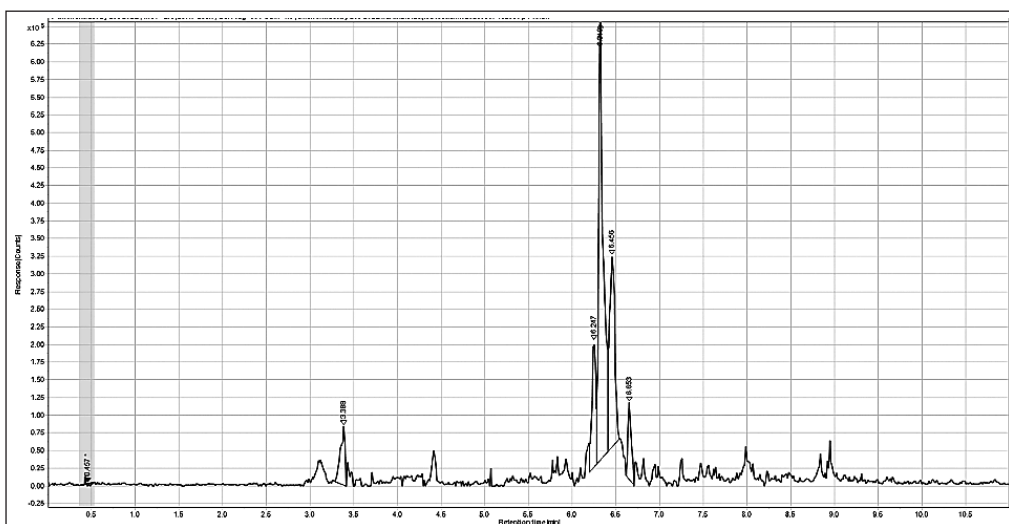


Рис. 2. Хроматограма густого екстракту унгернії Віктора за струмом іона m/z 288 (припускається, що галантамін, лікорин або їхні ізомери)

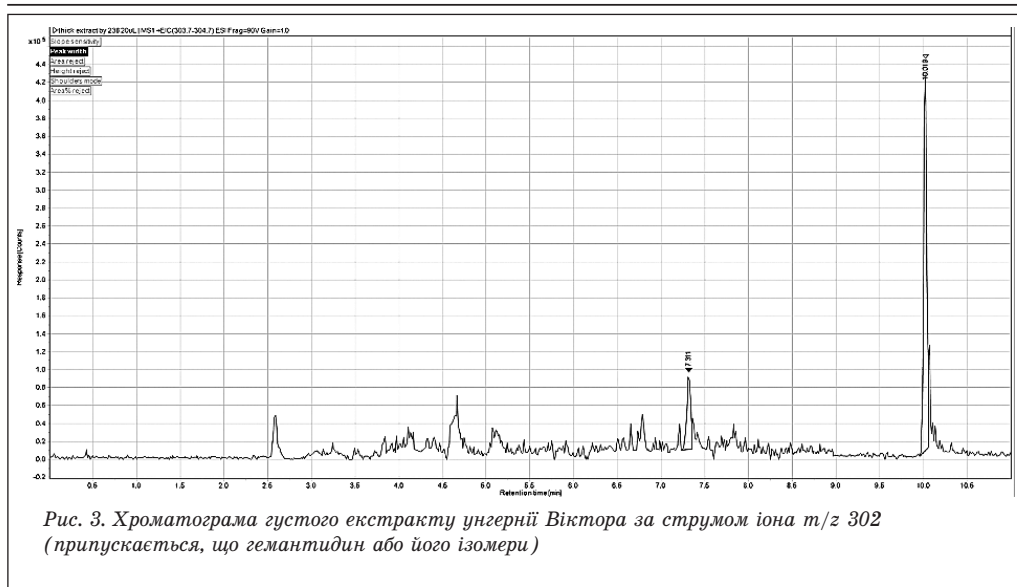
ній спостерігаються два піки з часом утримування близько 6,7 та 9,3 хв.

Для порівняння наведено хроматограму з малоінтенсивними піками (рис. 3).

Отже, за результатами фітохімічних досліджень встановлено, що в ГЕУВ міститься велика кількість сполук, що здатні до протонування, однак у суттєво різних кількостях. Можна вважати, що ці сполуки є алкалоїдами, зокрема галантаміном, і відповідають за біологічну

активність густого екстракту. Для однозначної відповіді необхідно продовжити дослідження з елюентами, що дозволить ідентифікувати сполуки за співпадінням часу виходу піка та подібністю мас-спектрів піків.

Результати тесту «Відкрите поле» (табл. 1), показали, що під дією ГЕУВ статистично значуще зростала кількість вертикальних стійок порівняно з контролем ($p < 0,05$). Це свідчить, що досліджуваний



Таблиця 1

Вплив густого екстракту унгернії Віктора на поведінкові реакції мишей у тесті «Відкрите поле»

Показник		Група, кількість тварин			
		Контроль		Густий екстракт унгернії Віктора	
		$M \pm m$	Me [Q25; Q75]	$M \pm m$	Me [Q25; Q75]
		n = 7		n = 7	
Кількість перетнутих квадратів		29,0 ± 4,46	30 [21; 37]	36,0 ± 2,05	36 [32; 38,5]
Орієнтовно-дослідницька активність	Стійки	2,86 ± 1,10	2 [1,5; 3]	6,86 ± 1,30	6 [5; 9]*
	Обстежені отвори	29,14 ± 3,31	27 [25; 31,5]	23,71 ± 1,67	23 [21; 24]
	Сума	32,0 ± 3,39	31 [28; 35]	36,0 ± 2,05	36 [32; 38,5]
Емоційні реакції та їх вегетативний супровід	Грумінг	1,14 ± 0,26	1 [1; 1,5]	1,29 ± 0,18	1 [1; 1,5]
	Болюси	0,29 ± 0,18	0 [0; 0,5]	0,43 ± 0,30	0 [0; 0,5]
	Уринації	0 ± 0	0 [0; 0]	0,29 ± 0,18	0 [0; 0,5]
	Сума	1,43 ± 0,30	2 [1; 2]	2,01 ± 0,44	2 [1; 2,5]
Сума всіх активностей		62,43 ± 7,36	62 [50,5; 71]	68,57 ± 3,92	65 [62,5; 72,5]

Примітка. Тут і в табл. 5: статистично значущі відмінності з показниками групи контролю: * $p < 0,05$ (за критерієм Манна-Вітні).

екстракт підвищував орієнтовно-дослідницьку активність. Кількість перетнутих квадратів була в групі ГЕУВ дещо більшою, ніж у контрольній, але ці відмінності не сягали достовірного рівня. Отже, ГЕУВ суттєво не змінював локомоторну активність. Також ГЕУВ не впливав на емоційні реакції, достовірно не змінював суму всіх активностей, що говорить про відсутність виразних стимулювальних або пригінчувальних властивостей.

Результати дослідження ефектів ГЕУВ у ротарод-тесті наведено в таблиці 2.

ГЕУВ подовжив час утримання тварин на стрижні, що обертається, у середньому в 3,4 разу щодо контролю. Під впливом екстракту достовірно зменшилася кількість мишей, що впали до 15 с ($p < 0,01$). У контрольній групі всі тварини впали до 30 с, а в групі ГЕУВ 2 миші з 7 (28,6 %) утрималися довше цього часу ($p < 0,05$). Це свідчить про статистично значуще поліпшення м'язового тону та координації рухів у мишей під дією ГЕУВ.

Результати дослідження в тесті «Світло-темна камера» наведено в таблиці 3. У групі ГЕУВ спостерігали тенденційне подовження латентного періоду входження в темну камеру в

середньому в 3,3 разу щодо значення інтактних тварин. Це вказує на помірний анксиолітичний вплив ГЕУВ.

Результати дослідження впливу ГЕУВ на формування УРПУ наведено в таблиці 4. На другий день після електробольового подразнення збільшення латентного періоду входження в темну камеру та кількість тварин, що досягли критерію навченості, були на рівні контролю. Це свідчить, що ГЕУВ не вплинув на формування пам'ятного сліду.

Як демонструють дані таблиці 5, під дією ГЕУВ не зазнала статистично значущих змін кількість спроб входження до затемненої камери, що означає відсутність відмінностей вагань тварин обох груп. Це стосується й кількості вертикальних стійок, що є маркером орієнтовно-дослідницької активності. Мало місце лише тенденційне зменшення цих показників.

Проте спостерігали статистично значуще ($p < 0,05$) зменшення емоційних реакцій за редукцією грумінгу під час перебування в стартовому освітленому відсіку (табл. 5), що підтверджує анксиолітичні властивості ГЕУВ. Тенденційно зменшувалася також кількість болюсів – маркер вегетативного супроводу емоційних реакцій.

Таблиця 2

Вплив густого екстракту унгернії Віктора на м'язовий тонус і координацію рухів у ротарод-тесті

Група (кількість тварин)	Кількість мишей, що впали зі стрижня, абс./ %			
	до 15 с	до 30 с	до 1 хв	до 3 хв
Контроль (n = 7)	6/85,70	1/14,30	0/0	0/0
Густий екстракт унгернії Віктора (n = 7)	2/28,60**	3/42,90	1/14,30	1/14,30

Примітка. Статистично значущі відмінності: ** $p < 0,01$ (кутове перетворення Фішера).

Таблиця 3

Вплив густого екстракту унгернії Віктора на тривожність мишей у тесті «Світло-темна» камера

Група (кількість тварин)	Латентний період входження в темну камеру, $M \pm m$, Me [Q25; Q75], с	Кількість мишей, що зайшли до темного відсіку, абс./%			
		до 10 с	до 30 с	до 2 хв	до 3 хв
Контроль (n = 6)	16,67 $\pm$ 4,68 14,5 [8,25; 22,25]	3/50,0	2/33,30	1/16,70	0/0
Густий екстракт унгернії Віктора (n = 7)	55,43 $\pm$ 23,89 20 [11,5; 78,5]	1/14,30	3/42,90	2/28,60	1/14,30

Таблиця 4

Вплив густого екстракту унгернії Віктора на формування умовного рефлексу пасивного уникнення

Група (кількість тварин)	Латентний період входження до темної камери, $M \pm m$, Me [Q25; Q75], с		Кількість мишей, що через 24 год досягли критерію навченості, абс./%
	вихідний	через 24 год	
Контроль (n = 6)	16,67 $\pm$ 4,68 14,5 [8,25; 22,25]	153,17 $\pm$ 26,83 180 [180; 180]	5/83,3
Густий екстракт унгернії Віктора (n = 7)	55,43 $\pm$ 23,89 20 [11,5; 78,5]	140,29 $\pm$ 26,0 180 [120,5; 180]	5/71,4

Таблиця 5

Вплив густого екстракту унгернії Віктора на поведінкові реакції за тестування умовного рефлексу пасивного уникнення через 24 год після електробольового подразнення, $M \pm m$, Me [Q25; Q75]

Група (кількість тварин)	Спроби входження	Стійки	Грумінг	Болюси
Контроль (n = 6)	4,0 $\pm$ 1,41 3,5 [1; 6]	7,17 $\pm$ 2,70 6,0 [2,25; 11,25]	1,67 $\pm$ 0,30 1 [1; 1,75]	1,67 $\pm$ 0,76 1,0 [0,25; 3,25]
Густий екстракт унгернії Віктора (n = 7)	2,0 $\pm$ 0,93 1,0 [0,5; 2,5]	4,71 $\pm$ 2,23 3,0 [0; 8]	0,29 $\pm$ 0,29 0 [0; 0]*	1,14 $\pm$ 0,55 1,0 [0; 1,5]

Результати тесту «Гаряча пластина» наведено в таблиці 6. Значущих відмінностей латентного періоду та кількості мишей групи ГЕУВ, що перебували на гарячій пластині певний проміжок часу, від показників інтактного контролю не виявлено. Це свідчить про відсутність знеболювального ефекту ГЕУВ.

Відомо, що зазвичай калюсні та суспензійні культури *U. victoris* з низьким рівнем диференціації клітин накопичують алкалоїди в незначних кількостях або зовсім не накопичують їх. Порівняно більшу кількість вторинних метаболітів синтезують органогенна культура тканин або культура органів [14, 25]. Також відомо, що калюсні культури *Leucojum aestivum* (Amaryllidaceae) виробляють незначну кількість галантаміну й інших «амарилісових» алкалоїдів, на відміну від культури пагонів, профілі вмісту алкалоїдів якої подібні до таких інтактною рослини [26].

Умови культивування рослинних калюсних культур впливають на накопичення метаболітів. Тому, можливо стимулювати біосинтез

цільових БАР і підвищувати їхній вихід. У численних дослідженнях показано, що за певних умов культивування калюсні культури продукують значні кількості фенольних сполук, терпенів, алкалоїдів. Цього можна досягти шляхом зміни складу живильного середовища, умов освітлення, температури, додавання регуляторів росту рослин, еліситорів, речовин-попередників, що беруть участь у біосинтезі певних сполук [27–34].

У дослідженні [35] продемонстровано значну мінливість умісту галантаміну в рослинному матеріалі *U. victoris* за різних умов культивування та типів середовищ. Високий рівень галантаміну в калюсній культурі досягався за додавання до середовища 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти та кінетину. Нижчі рівні галантаміну були в рослинах природних популяцій і культивованих у ботанічному саду. Галантамін не був виявлений у *in vitro* регенерованих цибулинах рослин, але в меншій кількості містився у листках. Результати чисельних досліджень підкреслюють потенціал контрольованих умов у підвищенні продукції вторин-

Таблиця 6

Вплив густого екстракту унгернії Віктора на больову реакцію мишей у тесті «Гаряча пластина»

Група (кількість тварин)	Латентний період облизування задньої лапи, $M \pm m$, $Me [Q25; Q75]$, с	Кількість мишей, що виявили ноцицептивну реакцію, абс./%			
		до 10 с	до 15 с	до 20 с	до 30 с
Контроль (n = 8)	15,99 ± 1,84 14,8 [13,15; 20,45]	1/12,50	3/37,50	1/12,50	3/37,50
Густий екстракт унгернії Віктора (n = 7)	14,16 ± 1,57 15 [11,2; 16,05]	1/14,30	2/28,60	3/42,90	1/14,30

них метаболітів у калюсній культурі.

Водночас густий екстракт, який отриманий із штаму UV-15 культури тканин *U. victoris*, містить у своєму складі фенольні сполуки, моно- та полісахариди, а також широкий спектр сполук, що здатні до протонування, які, можливо, є алкалоїдами галантамінового ряду. Це в свою чергу робить культуру тканин *U. victoris* перспективним джерелом отримання БАР із різними видами біологічної активності.

Постає питання щодо БАР, з якими можна пов'язати протитривожний ефект ГЕУВ. Як показують експериментальні дослідження, галантамін, один з основних алкалоїдів *U. victoris*, не чинить анксиолітичну дію [36, 37]. Можна передбачити, що для фенольних сполук ГЕУВ є характерною така активність. Один з класів фенольних сполук, флавоноїди, застосовують для лікуванні тривожних станів через здатність модулювати ГАМК_A-рецептори [38]. Так, протитривожний ефект пасифлори інкарнатної (*Passiflora incarnata* L.) автори низки публікацій пов'язують з фенольними сполуками, насамперед флавоноїдами. Механізм дії, імовірно, обумовлений модуляцією ГАМК-ергічної системи, позаяк флавоноїди пасифлори є частковими агоністами рецепторів ГАМК_A та інгібують захоплення [³H]-ГАМК у кіркових синаптосомах щурів. Флавоноїди пасифлори, зокрема апігенін і хризин, описують як ліганди рецепторів ГАМК_A, що взаємодіють з ділянкою зв'язування бензодіазепіну та виявляють анксиолітичну активність без седативного та міорелаксувального ефектів. Також індольні алкалоїди пасифлори інкарнатної, похідні β-карболіну, показали спорідненість до рецепторів ГАМК_A й ГАМК_B та вплив на поглинання ГАМК. Але ці сполуки міс-

яться в рослинній сировині та препаратах у незначних кількостях і мають незначний внесок у виявлення ефектів [38–40]. Можна припустити, що полісахариди ГЕУВ також чинять протитривожну дію: така властивість є характерною для цього класу БАР. Сума полісахаридів із кореня реманії клейкої (*Rehmannia glutinosa*) за внутрішньошлункового введення щурам у дозі 200 та 400 мг/кг протягом 7 днів чинила анксиолітичну дію за тривожної поведінки, викликаной L-глутаматом натрію, у тестах «Піднесений лабіринт» і «Світло-темна камера». Механізми анксиолітичної дії пов'язують з інгібуванням індукованого L-глутаматом натрію пригнічення β-синуклеїну, білка DJ-1, пероксиредоксину-2, пероксиредоксину-6, диметиларгінін-диметиламіно-гідролази-1, залізо-сірчаних білків у гіпокампі щурів [41].

Отже, густий екстракт, який отриманий із сухої клітинної біомаси культури тканин *U. victoris* (штам UV-15), можна вважати перспективним для подальшого дослідження нейротропним засобом.

Висновки

1. Встановлено, що в густому екстракті з висушеної клітинної біомаси культури тканин *U. victoris* (штам UV-15) наявні поліфеноли, моно- та полісахариди. За даними хроматографічного скринінгу виявлено сполуки, які здатні до протонування, що за ESI-мас-спектрами не суперечать галантаміну та/або його ізомерам. Доцільно провести подальше дослідження зі стандартами зазначених сполук.
2. Доведено, що досліджуваний ГЕУВ у тесті «Відкрите поле» у дозі 5 г/кг (внутрішньошлунково) підвищує орієнтовно-дослідницьку

- активність тварин, проте суттєво не впливає на локомоторну активність та емоційні реакції, не має виразних стимулювальних або пригнічувальних властивостей.
3. Показано, що досліджуваний екстракт поліпшує координацію рухів у ротарод-тесті, а також чинить м'яку анксиолітичну дію в тесті «Світло-темна камера».
4. Вплив досліджуваного екстракту на пам'ять і больову чутливість інтактних тварин не виявлено.

1. Унгернія Віктора. URL: https://uk.wikipedia.org/wiki/Унгернія_Віктора.
2. Унгернія Віктора – унікальна лікарська рослина. URL: <https://igp.care/ua/ungerniya-viktora-unikalna-likarska-roslyna>.
3. Phytochemical and pharmacological properties of medicinal plants from Uzbekistan: a review. D. Egamberdieva, N. Mamedov, E. Ovidi, A. Tiezzi. *Journal of Medicinally Active Plants*. 2017. V. 5 (2). P. 59–75.
4. Ungernia victoris Vved. ex Artjusch. Унгернія Віктора. URL: <https://planta-medica.uz/ungernia-victoris-wed-ex-artjush-ungerniya-viktora/>.
5. Лікарські рослини. URL: http://vseslova.com.ua/word/Лікарські_рослини-56623u.
6. Mustafina F. U., Juraeva H. K., Jamalova D. N. Conservation potential trough in vitro regeneration of two threatened medicinal plants Ungernia sewertzowii and *U. victoris*. *Plants*. 2024. V. 13 (14). P. 1–2.
7. An overview of ethnomedicinal plants of Uzbekistan. O. K. Khojimatov et al. *Bussmann jornal of plants, people and applied research*. 2020. V. 20. P. 1–18.
8. Post-injury administration of galantamine reduces traumatic brain injury pathology and improves outcome. J. Zhao et al. *J. Neurotrauma*. 2018. V. 5, No. 2. P. 362–337.
9. Rathi V. Galantamine. Naturally occurring chemicals against Alzheimer's disease. *Academic press*. 2021. P. 83–92.
10. Lycorine and organ protection: review of its potential effects and molecular mechanisms. H. Xiao et al. *Phytomedicine*. V. 104. 2022. P. 154266.
11. Lycorine: a prospective natural lead for anticancer drug discovery. M. Roy et al. *Biomed. Pharmacother*. 2018. V. 107. P. 615–624.
12. Властивості лектину культури тканин унгернії Віктора (*Ungernia victoris*) та його ультразвукова екстракція. І. С. Карпова, І. І. Конвалюк, Л. П. Можилевська, В. В. Лило. *Вісн. Укр. товариства генетиків і селекціонерів*. 2023. Т. 21 (1–2). С. 15–20.
13. Вивчення біологічної активності рослинних екстрактів у системі трансформації *Escherichia coli* плазмідною ДНК. Г. Ю. Мирюта, А. С. Дворник, Л. П. Можилевська, Т. П. Перерва. *Біополімери і клітина*. 2003. Т. 19. № 6. С. 525–529.
14. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. Київ : Логос, 2005. 730 с.
15. ДСТУ 5059:2008. Вироби кондитерські. Методи визначання цукрів. Офіц. вид. Вперше (зі скасуванням ГОСТ 5903-89); чинний від 01.01.2010. Київ : Держспоживстандарт України, 2010. 36 с.
16. Method OIV-MA-AS2-10: Folin-Ciocalteu Index. (In: Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis, OIV). URL: <https://www.oiv.int/standards/compendium-of-international-methods-of-wine-and-must-analysis>.
17. The study of chemical composition and pharmacological action of the alkaloid from plants of Lycoris Herb. Ji et al. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci*. 2017. V. 100. P. 012045. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/100/1/012045>.
18. The protection of animals used for scientific purposes. Text with EEA relevance [Electronic resource]: Directive of 22.09.2010 No. 2010/63/EU: as of 26 June 2019. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj>.
19. Drug discovery and evaluation: pharmacological assays; ed. by F. J. Hock. Berlin : Springer Berlin Heidelberg, 2014. P. 2071.
20. Комісаров І. В., Тіхонов В. Н. Експериментальне (доклінічне) вивчення фармакологічних речовин, що пропонуються як транквілізатори та нейролептики. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації: за ред. О. В. Стефанова. Київ : ВД «Авіцена», 2001. С. 352–360.
21. Bourin M., Hascoe M. The mouse light/dark box test. *European Journal of Pharmacology*. 2003. V. 463. P. 55–65.

22. Havrylov I., Shtrygol' S. Investigation of the effect of a modified fragment of neuropeptide Y on memory phases and extrapolation escape task of animals. *Česká a slovenská farmacie*. 2021. V. 70 (3). P. 91–99.
23. Ядловський О. Є., Суворова З. С., Науменко М. В. Особливості застосування методу «Гаряча пластина» у фармакологічних дослідженнях. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2020. Т. 14 (3). С. 177–184.
24. Rossi G., Woods F. M., Leisner C. P. Quantification of total phenolic, anthocyanin, and flavonoid content in a diverse panel of blueberry cultivars and ecotypes. *HortScience*. 2022. V. 57 (8). P. 901–909.
25. Мікрোকлональне розмноження унгернії Віктора (*Ungernia Victoris* Vved. ex Artjushenko). В. А. Кунах, Л. П. Можилевська, О. М. Бублик та ін. *Біотехнологія*. 2008. Т. 1, № 4. С. 57–63.
26. Alkaloid synthesis and accumulation in *Leucojum aestivum* in vitro cultures. S. Berkova et al. *Natural Product Communication*. 2009. V. 4 (3). P. 359–364.
27. Callus induction and secondary metabolite production studies in *Centaurea tchihatcheffii* Fisch. & C. A. Mey. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012. V. 37 (1). P. 9–15.
28. Factors affecting the growth, antioxidant potential, and secondary metabolites production in hazel callus cultures. R. Hazrati et al. *AMB Expr*. 2022. V. 12. P. 109. <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01449-z>.
29. Secondary metabolism of pharmaceuticals in the plant in vitro cultures: strategies, approaches, and limitations to achieving higher yield. T. Isah et al. *Plant Cell, Tissue and Organ Cult*. 2018. V. 132. P. 239–265.
30. Cardoso J. C., de Oliveira M. E. B. S., de Cardoso F. C. I. Advances and challenges on the in vitro production of secondary metabolites from medicinal plants. *Hortic. Bras*. 2019. V. 37. P. 124–132.
31. Production of plant secondary metabolites: examples, tips and suggestions for biotechnologists. G. Guerriero et al. *Genes*. 2018. V. 9. P. 309.
32. Production of the secondary metabolite catechin by in vitro cultures of *Camellia sinensis* L. W. Sutini et al. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol*. 2020. V. 31. P. 1–7.
33. Efferth T. Biotechnology applications of plant callus cultures. *Engineering*. 2019. V. 5. P. 50–59.
34. Alamgir A. N. M. Biotechnology, in vitro production of natural bioactive compounds, herbal preparation, and disease management (Treatment and prevention). *Therapeutic Use of Medicinal Plants and their Extracts*: V. 2. Springer : Berlin/Heidelberg, Germany, 2018. P. 585–664.
35. Tissue Culture of *Ungernia Victoris* Vved. ex Artjush. (Amaryllidaceae J. ST.-HIL.) and *Ptelea Trifoliata* L. (Rutaceae JUSS.) as the sources of acetylcholinesterase inhibitors. Y.-J. Oh et al. *The Journal of Medicinal Plants and By-Products*. 2023. V. 12 (1). <https://doi.org/10.22034/JMPB.2024.367088.1769>.
36. Effects of galantamine on social interaction impairments in cholecystokinin receptor-2 overexpression mice. S. Tanase et al. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2022. V. 148, Iss. 4. P. 364–368.
37. Comparison of galantamine and donepezil for effects on nerve growth factor, cholinergic markers, and memory performance in aged rats. C. M. Hernandez et al. *J. Pharmacol. Exp. Therapeut*. 2006. V. 316 (2). P. 679–694.
38. Wasowski C., Marder M. Flavonoids as GABAA receptor ligands: the whole story? *J. Exp. Pharmacol*. 2012. V. 4. P. 9–24.
39. Medicinal plants used for anxiety, depression, or stress treatment: an update. M. Kenda, N. Kočevár Glavač, M. Nagy, M. Sollner Dolenc. *Molecules*. 2022. V. 27 (18). P. 6021.
40. Herbal medicinal products from passiflora for anxiety: an unexploited potential. L. R. D. Fonseca et al. *Sci. World J*. 2020. V. 2020.
41. Mechanism-based anti-anxiety effects of polysaccharides extracted from Shudihuang (*Radix Rehmanniae Preparata*) by two-dimensional electrophoresis analysis in rat hippocampus proteins. Ying Cui et al. *Journal of Traditional Chinese Medicine*. 2013. V. 33, No. 4. P. 524–530.

**С. І. Степанова, С. Ю. Штриголь, О. О. Коцар, О. А. Беда, І. І. Конвалюк,
Т. В. Пилаєва, Л. П. Можилевська, С. М. Ярмолук, В. А. Кунах**
**Хімічний склад і вплив екстракту культури тканин унгернії Віктора на
поведінкові реакції, координацію рухів і больову чутливість мишей**

Нашу увагу привернула середньоазійська ендемічна рослина родини амарилісових (*Amaryllidaceae*) унгернія Віктора (*Ungernia victoris* Vved. ex Artjush.) – джерело алкалоїду галантаміну, що застосовується як антихолінестеразний засіб у лікуванні багатьох захворювань. Сировинна база цієї рослини недостатня, тому одним з альтернативних методів отримання її біологічно активної речовини є культура тканин.

Мета дослідження – визначити хімічний склад і з'ясувати вплив екстракту культури тканин унгернії Віктора (*U. victoris*) на функціональний стан центральної нервової системи, м'язовий тонус і больову чутливість в експерименті на мишах.

Вихідним матеріалом був високопродуктивний штам UV-15 культури тканин *U. victoris*, отриманий в Інституті молекулярної біології і генетики Національної академії наук України. З висушеної

клітинної біомаси з використанням як екстрагенту 70 % розчину етанолу отримали густий екстракт унгернії Віктора (ГЕУВ), в якому визначали йодометрично вміст водорозчинних моно- та полісахаридів, поліфенолів спектрофотометричним методом з реактивом Фоліна-Чокалтеу, а також проводили хромато-мас-спектрометричний скринінг на вміст речовин, які описані як алкалоїди гемантамінового та галантамінового типів.

Фармакологічні дослідження проводили на дорослих білих безпородних мишах самцях. ГЕУВ вводили за 30–40 хв до тестування в дозі 5 г/кг внутрішньошлунково, попередньо розчинивши у воді (0,1 мл/10 г). Контрольні тварини отримували еквівалентну кількість води. Вивчали вплив ГЕУВ на поведінку мишей у тесті «Відкрите поле», координацію рухів у ротарод-тесті, рівень тривожності в тесті «Світло-темна камера», формування та відтворення пам'ятного сліду в тесті умовного рефлексу пасивного уникнення, больову чутливість у тесті «Гаряча пластина».

Встановлено, що в ГЕУВ містяться моно- та полісахариди, поліфеноли. За даними хроматографічного скринінгу показано наявність сполук, які здатні до протонування, що за ESI-мас-спектрами не суперечать галантаміну та/або його ізомерам.

У тесті «Відкрите поле» ГЕУВ підвищував орієнтовно-дослідницьку активність тварин, проте суттєво не впливав на локомоторну активність та емоційні реакції, не мав виразних стимулювальних або пригінчувальних властивостей. ГЕУВ поліпшував координацію рухів у ротарод-тесті, а також чинив м'яку анксиолітичну дію в тесті «Світло-темна камера». Вплив ГЕУВ на пам'ять і больову чутливість інтактних тварин не виявлено.

Отже, густий екстракт, який отриманий із сухої клітинної біомаси культури тканин *U. victoris* (штам UV-15), можна вважати перспективним для подальшого дослідження нейротропним засобом.

Ключові слова: унгернія Віктора, екстракт культури тканин, хімічний склад, поведінкові реакції, координація рухів, больова чутливість

S. I. Stepanova, S. Yu. Strygol', O. O. Kotsar, O. A. Bieda, I. I. Konvalyuk, T. V. Pylaeva, L. P. Mozhylevska, S. M. Yarmoluk, V. A. Kunakh

Chemical composition and effect of *Ungernia victoris* tissue culture extract on behavioral responses, movement coordination, and pain sensitivity in mice

Our attention was drawn to the Central Asian endemic plant of the Amaryllis (Amaryllidaceae) family *Ungernia victoris* Vved. ex Artjush., a source of the alkaloid galantamine, which is used as an anticholinesterase agent in the treatment of many diseases. Currently, the key problem remains the lack of raw material base for this plant, so one of the alternative methods for obtaining its biologically active substances is tissue culture.

The aim of the study – to determine the chemical composition and investigate the effect of the *U. victoris* tissue culture extract on the functional state of the CNS, muscle tone, and pain sensitivity in an experiment on mice.

The highly productive UV-15 strain of *U. victoris* tissue culture obtained at the Institute of Molecular Biology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine was the starting material. A dense extract of *U. victoris* (DEUV) was obtained from dried cell biomass using 70% ethanol as an extractant. Chemical composition of DEUV has been investigated. The content of water-soluble mono- and polysaccharides was been determined via iodometric titration, total polyphenols was determined by the spectrophotometric method with the Folin-Ciocalteu reagent, and chromatographic-mass-spectrometric screening was performed for the content of substances described as hemanthamine and galanthamine type alkaloids.

Pharmacological studies were conducted on adult outbred albino male mice. DEUV was administered 30–40 min before testing at a dose of 5 g/kg intragastrically, previously dissolved in water (0.1 ml/10 g). Control animals received an equivalent amount of water. The effects of DEUV on the behavior of mice was assessed in the open field test, the coordination of movements was studied in the rotarod test, the level of anxiety was determined in the light-dark chamber test, the formation and reproduction of a memory trace – in the test of conditioned passive avoidance reflex, and the pain sensitivity – in the hot plate test.

It was found that DEUV contains mono- and polysaccharides, polyphenols. Chromatographic screening data showed the presence of compounds capable of protonation, which according to ESI mass spectra do not contradict galantamine and/or its isomers.

In the open field test DEUV increased the orientation and exploratory activity of animals, but did not significantly affect locomotor activity and emotional reactions, and did not have noticeable stimulating or depressing properties. DEUV improved the coordination of movements in the rotarod test, and also had a mild anxiolytic effect in the light-dark chamber test. The effect of DEUV on memory and pain sensitivity of intact animals was not detected.

Therefore, the dense extract obtained from the dry cell biomass of *U. victoris* tissue culture (strain UV-15) can be considered a promising neurotropic agent for further research.

Key words: Ungernia victoris, extract tissue culture, chemical composition, behavioral responses, coordination of movements, pain sensitivity

Надійшла: 15 березня 2025 р.

Прийнята до друку: 24 квітня 2025 р.

Контактна особа: Штриголь Сергій Юрійович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Григорія Сковороди, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 99 793 66 30.
Електронна пошта: shtrygol@ukr.net