

RBL-2H3 эсэд зарим ургамлын хандны хоргүй тунг тодорхойлсон дүн

Ц.Баасандаш^{1,4}, Г.Халиун¹, С.Нурбек^{1,2}, Б.Уранбилэг^{2,3}, Ц.Анужин^{1,2}, Б.Хонгорзул^{1,2},
Д.Энхмаа^{2,3}, Ч.Баттогтох^{2,3}, Л.Энхсайхан^{2,4}, Н.Цэвэлмаа^{1,2}

¹АШУУИС, Ахисан түвшний сургууль

²АШУУИС, Био-Анагаахын хүрээлэн

³АШУУИС, Био-Анагаахын сургууль

⁴АШУУИС, Био-Анагаахын сургууль, Дархлаа судлалын тэнхим

⁵АШУУИС, Био-Анагаахын сургууль, Анагаахын химийн тэнхим

Цахим шуудан: fbm26e012@gt.mnms.edu.mn, Утас: 88687414

Түлхүүр үг:

Усан ханд
Этилийн спиртэн
ханд
МТТ
Эсийн амьдрах
чадвар

Товч утга:

Үндэслэл: Судлаачид дэлхий даяар ургамалд агуулагдах биологийн идэвхт нэгдлийг илрүүлэх болон *in vitro*, *in vivo* орчинд үзүүлэх биологийн үйлдлийг тодорхойлох чиглэлийн судалгааг эрчимтэй хийж байна. Манай орны ургамал нь байгаль цаг уурын өвөрмөц нөхцөлд дасан зохицож ургадаг бөгөөд Монголчууд эрт дээр үеэс ардын эмчилгээ, уламжлалт анагаах ухаан, хүнсэндээ түгээмэл хэрэглэж ирсэн уламжлалтай. Иймд зэрлэг болон таримал зүйл ургамлыг эсийн түвшинд *in vitro* орчинд олон улсад харшил, үрэвслийн судалгаанд ашигладаг стандарт RBL-2H3 шугаман эсэд үйлчилж, хоруу чанарыг тодорхойлж, эсэд харьцангуй хоруу чанар багатай зааг тунг тодорхойлох нь цаашдын нарийвчилсан буюу эсэд үүсгэсэн харшлын загвар судалгаа, амьтны туршилт, эмийн үйлдлийн үйлчлэл болон биологийн идэвхийг молекул механизмын түшинд судлахад шинжлэх ухааны үндэслэл болохуйц чухал ач холбогдолтой байна. **Зорилго:** Монгол оронд ургадаг зэрлэг болон таримал 4 зүйл ургамлын хандны эс хордуулах тунг RBL-2H3 эсэд тодорхойлох. **Арга, аргачлал:** Судалгаанд аньс (*Vaccinium vitis-idaea*), гүзээлзгэнэ (*Fragaria orientalis*), хар манжин (*Raphanus sativus*), болон зэрлэг хөх далан хальс (*Lonicera caerulea* L.) ургамлыг стандартын дагуу түүж, гербар бэлтгэн ШУА-н Ботаникийн цэцэрлэгт хүрээлэнд илгээн ангилал зүйн тодорхойлолтыг хийлгэж баталгаажуулав. Ургамлын иш, навч, жимс гэсэн бүрэлдэхүүн хэсгүүдийг ус, этилийн спиртээр хандалж, вакум эргэлтэт ууршуулагч болон хөлдөөн хатаах төхөөрөмжийн аргаар өтгөрүүлэн хуурайшуулж, нийт 12 төрлийн хандыг бэлтгэв. Туршилтад хархны базопил лейкокийн RBL-2H3 (Rat Basophilic Leukemia) эсийн шугамыг ЕМЕМ тэжээлт орчинд өсгөвөрлөж, тогтворжуулан

өсөлтийн үе шатанд нь ашиглав. Бэлтгэсэн 12 төрлийн хандны эсэд хоргүй тунг МТТ [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] шинжилгээний аргаар эсийн амьдрах чадварт нөлөөлөх хувиар үнэлэв. **Үр дүн:** Бидний судалгаагаар этилийн спиртээр хандалсан гүзээлзгэнийн навч, хар манжин, зэрлэг хөх далан хальсны навчинд ≥ 6.25 мкг/мл тун, харин усаар хандалсан хөх далан хальсны жимсэнд ≥ 6.25 мкг/мл, ишинд ≥ 25 мкг/мл тун нь тунгаас хамаарсан эс хордуулах үйлдэл үзүүлэв. Усаар хандалсан аньсны навчны ≤ 200 мкг/мл, гүзээлзгэнийн навчны ≥ 100 мкг/мл тун, хар манжингийн ≤ 200 мкг/мл тун, харин аньсны навчны этилийн спиртэн хандны ≥ 50 мкг/мл тунгаар үйлчлэхэд эсэд хоргүй байв. Мөн зэрлэг хөх далан хальсны этилийн спиртэн хандны ишинд ≤ 300 мкг/мл, жимсэнд ≥ 12.5 мкг/мл тун, усан хандны навчинд ≤ 50 мкг/мл тун нь RBL-2H3 эсийн амьдрах чадварыг нэмэгдүүлэх үр дүн үзүүлэв. **Дүгнэлт:** RBL-2H3 эсийн амьдрах чадварт ургамлууд уусгагчийн туйлшрал болон эрхтнээс хамаарсан харилцан адилгүй нөлөө үзүүллээ. Гүзээлзгэнийн навч, хар манжин, зэрлэг хөх далан хальсны навчны этилийн спиртэн ханд, мөн хөх далан хальсны жимс, ишний усан ханд нь 12.5, 25, 50 мкг/мл тунгаас эхлэн тун хамааралтай эсийн амьдрах чадварыг ойролцоогоор 40%-иас дээш бууруулсан нь хоруу чанар харьцангуй өндөр байгааг харууллаа. Харин гүзээлзгэнийн навч, хар манжингийн усан ханд болон аньсны навчны ус, этилийн спиртэн ханд нь 200 мкг/мл-ээс бага тунгийн хязгаарт эсэд үзүүлэх хоруу чанар харьцангуй бага байсан бол зэрлэг хөх далан хальсны иш, жимсний этилийн спиртэн хандны 12.5 мкг/мл-ээс их, навчны усан хандны 100 мкг/мл-ээс бага тун нь RBL-2H3 эсийн амьдрах чадварыг нэмэгдүүлж, эсийн пролиферацийг дэмжих идэвх үзүүлэв.

Үндэслэл: Орчин үеийн эм судлал болон анагаах ухааны салбарт байгалийн гаралтай, ялангуяа ургамлаас гарган авсан биологийн идэвхт нэгдлүүдийг илрүүлэх, тэдгээрийн эмийн үйлчлэл болон аюулгүй байдлыг судлах чиглэл олон улсын хэмжээнд эрчимтэй хөгжиж байна. Дэлхийн эрүүл мэндийн байгууллага (ДЭМБ)-ын мэдээлснээр дэлхийн хүн амын 80 орчим хувь нь анхан шатны эрүүл мэндийн тусламж үйлчилгээндээ уламжлалт болон ургамлын гаралтай бэлдмэлийг ашиглаж байна.^{1,2} Ургамалд агуулагдах полифенол, флавоноид, антоцианин, алкалоид зэрэг хоёрдогч метаболитууд нь исэлдэлт, үрэвсэл, харшил болон бактерийн эсрэг өндөр идэвх үзүүлж байгааг *in vitro* болон *in vivo* судалгаагаар баталсаар байна.³

Монгол орон нь эх газрын эрс тэс өвөрмөц цаг уурын нөхцөлтэй бөгөөд энэхүү байгалийн стресст хүчин зүйлсийн нөлөөгөөр Монгол оронд ургадаг зэрлэг болон таримал ургамлууд нь амьд үлдэх, дасан зохицох механизмынхаа хүрээнд биологийн өндөр идэвхт нэгдлүүд, ялангуяа фенол нэгдлүүдийг илүү их хэмжээгээр нийлэгжүүлэн хуримтлуулдаг онцлогтой.⁴ Аньс (*Vaccinium vitis-idaea*), гүзээлзгэнэ (*Fragaria vesca* L.), хар манжин (*Raphanus sativus* var. *niger*), болон зэрлэг хөх далан хальс (*Lonicera caerulea* L.) ургамал нь монголчуудын уламжлалт анагаах ухаан, ардын эмчилгээ, өдөр тутмын хүнсний хэрэглээнд өргөн ашиглагдаж ирсэн. Эдгээр ургамлууд нь витамин С, антоцианин, органик хүчлүүд болон полифенолоор баялаг тул дархлаа дэмжих, үрэвсэл ба харшлын урвалыг бууруулах нөлөөтэй байж болзошгүйг таамаглаж байна.⁵

Хархны базофил эсийн лейкокийн хавдраас гарган авсан RBL-2H3 (Rat Basophilic Leukemia) эс нь шигүү мөхлөгт эс болон базофил эсийн физиологи, гистамин ялгаруулалт, болон хэт мэдрэгшлийн I урвалыг *in vitro* орчинд загварчлан судлахад олон улсад хүлээн зөвшөөрөгдсөн стандарт шугаман эс тул ургамлын ханд болон биологийн идэвхт нэгдлүүдийн биологийн идэвхийг метаболит ба молекул биологийн түвшинд үнэлэхэд тохиромжтой болохыг судлаачид онцлон тэмдэглэсэн байна.^{6,7}

Биологийн идэвхт нэгдлийн эмчилгээний нөлөө, фармакологийн идэвхийг судлахаас өмнө тухайн нэгдлийн эсийн бүтэц, амьдрах чадвар, метаболизмд үзүүлэх нөлөөг тодорхойлох нь эм судлалын хамгийн эхний бөгөөд чухал зарчмын нэг юм.⁸ Эсийн амьдрах чадварыг үнэлэх хамгийн түгээмэл, найдвартай аргачлалын нэг нь амьд эсийн митохондрийн НАДФН-аас хамааралт оксидоредуктаза ферментийн идэвхэд үндэслэдэг МТТ [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] шинжилгээ юм.⁹ Эсийн загварт хоргүй тунг тодорхойлсноор эмийн болон биологийн идэвхт нэгдлийн аюулгүй байдлын анхдагч үзүүлэлтийг тогтоох, цаашдын фармакологи, молекул механизмын судалгаанд хэрэглэх хамгийн тохиромжтой, эсэд хоргүй тунгийн хязгаарыг оновчтой сонгох, мөн хандлах уусгагчийн туйлшралын ялгаанаас шалтгаалан эсийн амьдрах чадварт үзүүлэх нөлөөг харьцуулан үнэлэх ач холбогдолтой.¹⁰

Монгол оронд ургадаг зэрлэг болон таримал 4 зүйл ургамлыг бүрэлдэхүүн хэсгээр тус тусад нь 2 өөр

уусгагчаар хандалсан хандны RBL-2H3 эсэд үзүүлэх хоруу чанарыг харьцуулан тодорхойлсон нэгдсэн судалгаа одоогоор хангалтгүй тул МТТ шинжилгээний аргаар тодорхойлох нь эдгээр ургамлыг цаашид харшил, үрэвслийн эсрэг эмийн болон биологийн идэвхт бүтээгдэхүүн хөгжүүлэх нарийвчилсан судалгааны ажилд онол, практикийн шинжлэх ухааны чухал үндэслэл болно гэж үзэж байна.

Зорилго: Зарим зүйл ургамлын хандны эс хордуулах тунг хархны RBL-2H3 харшлын загвар эсэд тодорхойлох.

Арга, аргачлал: Судалгаанд Монгол оронд ургадаг *Vaccinium vitis-idaea*, Аньс (навчны усан болон спиртэн ханд), *Fragaria orientalis*, Гүзээлзгэнэ (навчны усан болон спиртэн ханд), *Raphanus sativus*, Хар манжин (усан болон спиртэн ханд), *Lonicera caerulea* L., зэрлэг хөх далан хальс (иш, навч, жимсний усан болон спиртэн ханд)-ны 4 зүйл ургамлын 12 төрлийн хандыг АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэнгийн Биологийн химийн лабораторид нутагшсан арга зүйн дагуу бэлтгэж хэрэглэв.

Эс өсгөвөрлөсөн аргачлал: Хархны базофил эсийн лейкокийн хавдраас гарган авсан, харшлын загвар RBL-2H3 эсийг 10% үхрийн хээлийн ийлдэс (FBS-Fetal bovine serum), 1%-ийн антибиотикийн холимог (Penicillin, Streptomycin) агуулсан ЕМЕМ (Eagle's Minimum Essential Medium) тэжээлт орчинд 5%-ийн CO₂-ийн агууламжтай, 37°C-ийн инкубаторт өсгөвөрлөсөн. RBL-2H3 эсийг сэргээж, тогтворжуулаад, 2 удаа сэлгүүлсний дараа туршилт судалгаанд ашигласан.

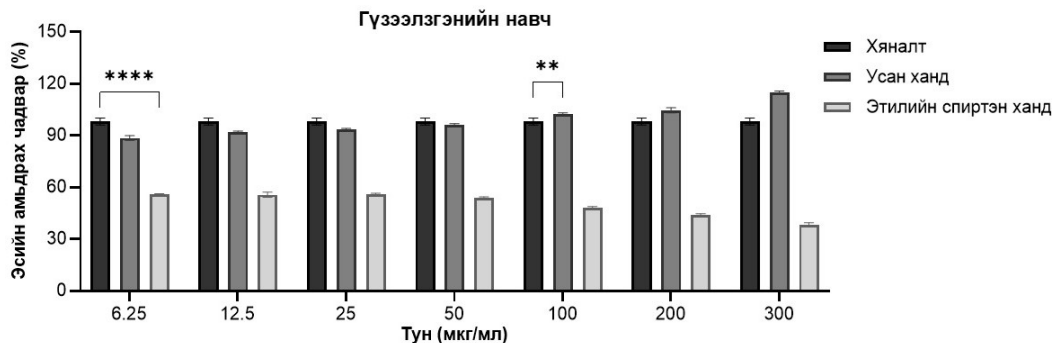
Ургамлын хандны эсэд хоргүй тунг тодорхойлсон аргачлал: Эсэд хоргүй тунг АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэнгийн Эсийн биологийн лабораторид нутагшсан арга зүйн дагуу хийж гүйцэтгэсэн.

Ханд тус бүрийн RBL-2H3 эсэд хоргүй тунг МТТ (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) шинжилгээний аргаар тодорхойлсон. RBL-2H3 эсийг эс тоолох тор ашиглан трипан хөх будгаар будаж тоолоод 96 үүр бүхий бичил хавтангийн нэг үүрэнд 100 мкл-т 2.5×10^4 эс хийж 5%-ийн CO₂-ийн агууламжтай, 37°C хэмтэй эс өсгөврийн инкубаторт 18 цаг өсгөвөрлөсөн. Ханд тус бүрээс 300, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 мкг/мл тунгаар бэлтгэж 100 мкл-г үүрэнд нэмж 5%-ийн CO₂-ийн агууламжтай, 37°C хэмтэй эс өсгөврийн инкубаторт 24 цаг өсгөвөрлөсөн. Үүний дараа МТТ урвалж 5 мкл-г нэмж 37°C хэмд 3 цаг өсгөвөрлөн, эс өсгөврийн тэжээлт орчныг соруулж асган 50 мкл диметилсульфоксид нэмж спектрофотометрийн аппаратад гэрлийн шингээлтийг 570 нм гэрлийн долгионы уртад хэмжсэн. Мөн этилийн спиртэн ханд тус бүрийг уусгаж эсийн туршилтад ашиглах органик уусгагч болох диметилсульфоксидын 0.2%-ийн агууламж нь RBL-2H3 эсэд харьцангуй хоруу чанар бага үзүүлсэн тул цаашид этилийн спиртэн хандыг уусгах органик уусгагчийг эсийн тэжээлт орчны агууламжийн 0.2%-иас хэтрүүлэхгүй байхаар тооцож хэрэглэв. Тоон үзүүлэлтийг хяналтын бүлэгтэй харьцуулж эсэд хоргүй тунг тодорхойлсон. Үр дүнг

GraphPad Prism 11 программ ашиглан Two-Way ANOVA тестээр боловсруулав. АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны хурлын тэмдэглэл (25-26/04-01)

Үр дүн: Ургамал тус бүрийн усан болон этилийн спиртэн хандыг 6.25–300 мкг/мл хүртэлх 7 тунгаар үйлчилж, RBL-2H3 эсийн амьдрах чадварт үзүүлэх

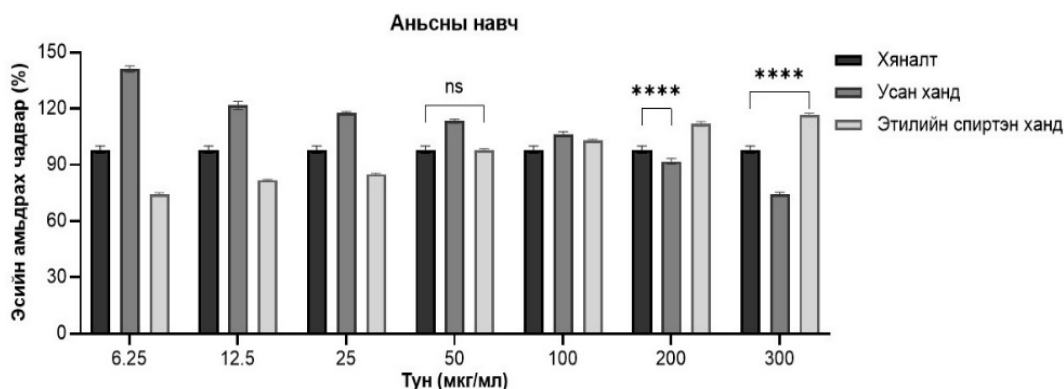
нөлөөг хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад хандалсан уусгагчийн төрлөөс хамаарч харилцан адилгүй байв. Тухайлбал, гүзээлзгэнийн навчны этилийн спиртэн ханд нь ≥ 6.25 мкг/мл тунгийн хязгаарт эсийн амьдрах чадварыг тун хамааралтайгаар бууруулж, хоруу чанар үзүүлсэн бол усан хандны ≥ 100 мкг/мл тун эсэд хоргүй ($***p < 0.001$) байв. (Зураг 1)



Зураг 1. RBL-2H3 эсэд гүзээлзгэнийн навчны хоргүй тунг тодорхойлсон дүн

Аньсны навчны усан хандны ≤ 200 мкг/мл тун статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай ($***p < 0.0001$),

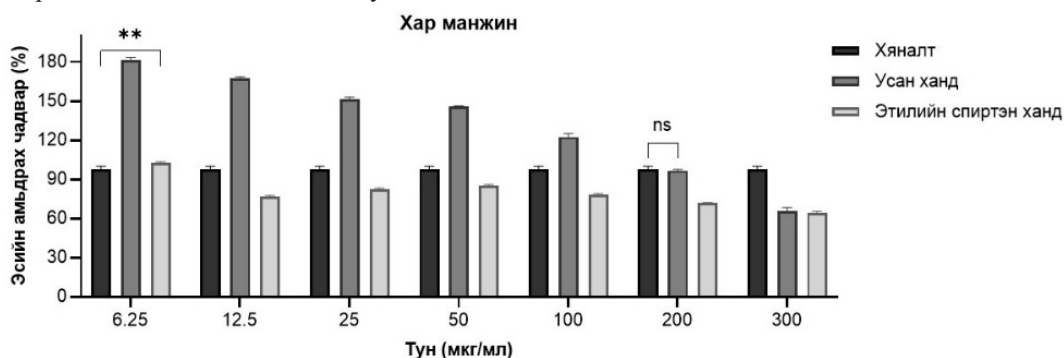
этилийн спиртэн хандны ≥ 50 мкг/мл тун эсэд хоруу чанаргүй байв. (Зураг 2)



Зураг 2. RBL-2H3 эсэд аньсны навчны хоргүй тунг тодорхойлсон дүн

Хар манжингийн усан ханд нь ≤ 200 мкг/мл тунгийн хязгаарт эс хордуулах нөлөөгүй, харин этилийн спиртэн хандны ≥ 6.25 мкг/мл тун нь эсийн

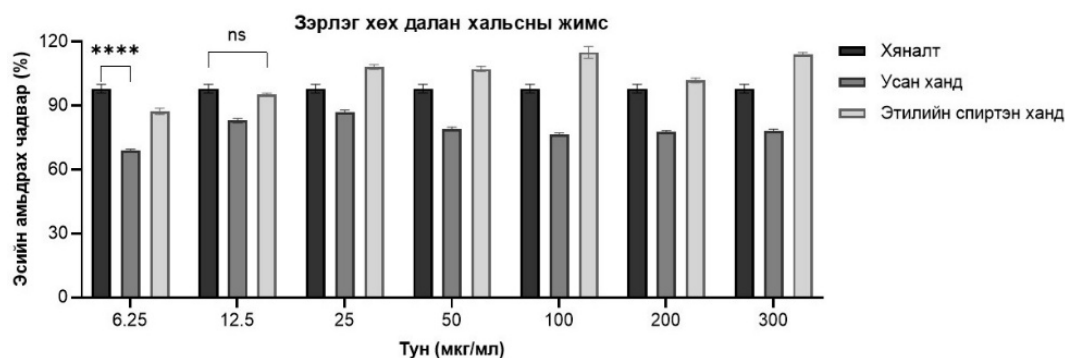
амьдрах чадварыг тун хамааралтайгаар бууруулав. (Зураг 3)



Зураг 3. RBL-2H3 эсэд хар манжингийн хоргүй тунг тодорхойлсон дүн

Зэрлэг хөх далан хальсны жимсний усан ханд нь ≥ 6.25 мкг/мл тунгийн хязгаарт эс хордуулах нөлөө үзүүлсэн бол этилийн спиртэн хандны ≥ 12.5 мкг/

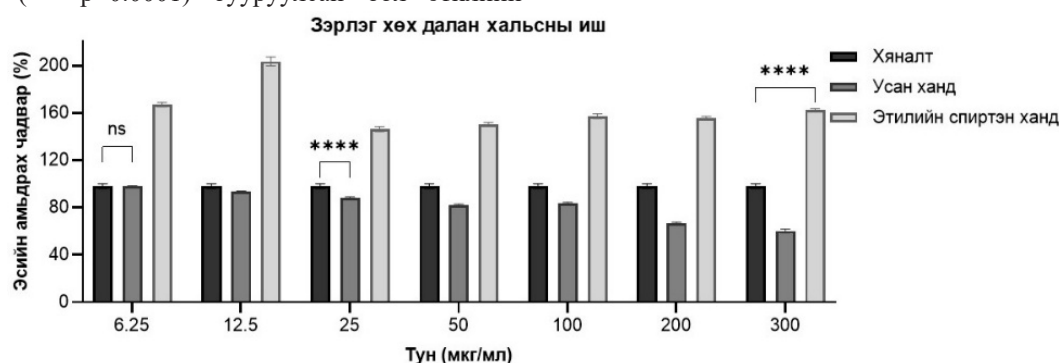
мл тунгаар үйлчлэхэд эсийн өсөлтийг дэмжих нөлөө үзүүлэв. (Зураг 4)



Зураг 4. RBL-2H3 эсэд зэрлэг хөх далан хальсны жимсний хоргүй тунг тодорхойлсон дүн

Зэрлэг хөх далан хальсны ишний усан ханд нь ≥ 25 мкг/мл тунгийн хязгаарт эсийн амьдрах чадварыг тун хамааралтайгаар статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай (**** $p < 0.0001$) бууруулсан бол этилийн

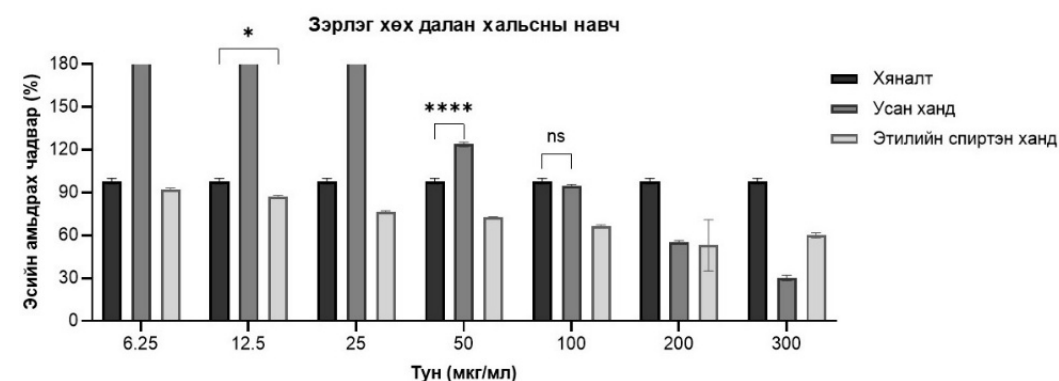
спиртэн ханд нь ≤ 300 мкг/мл тунгийн хязгаарт эсийн амьдрах чадварыг статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай (**** $p < 0.0001$) нэмэгдүүлэв. (Зураг 5)



Зураг 5. RBL-2H3 эсэд зэрлэг хөх далан хальсны ишний хоргүй тунг тодорхойлсон дүн

Зэрлэг хөх далан хальсны навчны усан ханд нь 6.25–50 мкг/мл тунд эсийн өсөлтийг дэмжиж (* $p < 0.05$), ≥ 200 мкг/мл тунд эс хордуулах үйлдэл үзүүлсэн

бол этилийн спиртэн ханд нь ≥ 6.25 мкг/мл тунгийн хязгаарт тун хамааралтай хоруу чанар үзүүлэв. (Зураг 6)



Зураг 6. RBL-2H3 эсэд зэрлэг хөх далан хальсны навчны хоргүй тунг тодорхойлсон дүн

Хэлцэмж: *In vitro* орчинд ургамлын ханд болон биологийн идэвхт нэгдлийн эс хордуулах нөлөөг үнэлэхдээ ISO 10993-5:2009 олон улсын стандартын дагуу туршилтын бодисоор үйлчилсний дараа эсийн амьдрах чадвар хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад $>30\%$ буурсан (амьдрах чадвар $<70\%$) тохиолдолд тухайн тунг эсэд цочмог хоруу чанартай гэж үздэг. Иймд эсийн амьдрах чадвар $>70\%$ хадгалагдаж буй тунгийн хязгаарыг тухайн ханд эсэд хоргүй, аюулгүй зааг хэмээн тодорхойлж, цаашдын биологи болон фармакологийн механизмын судалгаанд ашиглах

үндэслэл болно.^{11,12}

Liberal J (2020) нарын судалгаагаар *Fragaria* төрлийн ургамлын этилийн спиртэн ханд нь полифенол болон эллагитанин нэгдлийн агууламж өндөртэй тул тодорхой тунгийн дээд хязгаарт эсийн мембраны бүрэн бүтэн байдалд нөлөөлж, эс хордуулах нөлөө үзүүлдэг болох нь HeLa болон RAW 264.7 эс дээр хийсэн туршилтуудаар батлагдсан. Гүзээлзгэнийн навчны (*Fragaria orientalis*) этилийн спиртэн ханд нь ≥ 6.25 мкг/мл тунгийн хязгаарт RBL-2H3 эсэд тун хамааралтайгаар эсийн амьдрах чадварыг бууруулах

нөлөө үзүүлсэн нь этилийн спиртээр хандлахад усанд бага уусдаг, эс хордуулах чиглэлийн липофиль нэгдлүүд илүү хандлагдсантай холбоотой байж болох юм.¹³

Аньсны (*Vaccinium vitis-idaea*) навчны усан хандны ≤ 200 мкг/мл болон спиртэн хандны ≥ 50 мкг/мл тун нь RBL-2H3 эсэд бага хоруу чанартай, аюулгүйн өндөр заагтай гарсан. Аньсны навчны ханд нь арбутин, кверцетин зэрэг флавоноидоор баялаг бөгөөд RBL-2H3 эсийн дегрануляцийг дарангуйлж, харшлын эсрэг идэвх үзүүлдэг болохыг Park E (2019) нарын судалгаанд тэмдэглэжээ.¹⁴ Мөн Kowalska K (2021) нарын судалгаагаар *Vaccinium* төрлийн ургамлуудын усан ханд нь HepG2 болон Caco-2 эсэд 200 мкг/мл хүртэлх тунд эсийн амьдрах чадварыг нэмэгдүүлж, антиоксидант хамгаалах үйлдэл үзүүлсэн нь бидний үр дүнтэй ойролцоо байна.¹⁵

Хар манжингийн (*Raphanus sativus*) усан хандны ≤ 200 мкг/мл тун нь RBL-2H3 эсэд хоргүй байсан бол спиртэн хандны ≥ 50 мкг/мл тун нь эсийн амьдрах чадварыг бууруулсан. Beevi SS нарын (2010) судалгаагаар хар манжингийн спиртэн хандны 15.26 мкг/мл тун нь MCF-7 эс, 32.85 мкг/мл тун нь HT-29 эсийн өсөлтийг 50% бууруулсан тул спиртэд хандлагдах нэгдлүүд нь бага тунгаар үйлчилсэн ч эсэд үзүүлэх хоруу чанар өндөртэй гэж дүгнэж болох юм.¹⁶ Зэрлэг хөх далан хальсны (*Lonicera caerulea* L.) жимсний этилийн спиртэн хандны ≥ 12.5 мкг/мл тун, ишний этилийн спиртэн хандны ≤ 300 мкг/мл тун нь RBL-2H3 эсийн өсөлтийг ач холбогдол бүхий өндөр түвшинд дэмжсэн. Rupasinghe HP нарын (2012) судалгаагаар хөх далан хальсны жимсний этилийн спиртэн ханд болон цэвэршүүлсэн антоцианы фракцийн ≤ 100 мкг/мл тун нь HepG2 эсийн ургалтыг дэмжсэн, Jurikova T нарын (2012) судалгаагаар *Lonicera* төрлийн ургамлын спиртэн ханд нь бага тунгаар үйлчлэхэд эсийг антиоксидант механизмаар хамгаалдгийг тэмдэглэсэн нь жимс, ишний этилийн спиртэн ханд RBL-2H3 эсийн амьдрах чадварыг нэмэгдүүлж буйтай дүйж байна.^{17,18}

Дүгнэлт: RBL-2H3 эсийн амьдрах чадварт ургамлууд уусгагчийн туйлшрал болон эрхтнээс хамаарсан харилцан адилгүй нөлөө үзүүллээ. Гүзээлзгэнийн навч, хар манжин, зэрлэг хөх далан хальсны навчны этилийн спиртэн ханд, мөн хөх далан хальсны жимс, ишний усан ханд нь 12.5, 25, 50 мкг/мл тунгаас эхлэн тун хамааралтай эсийн амьдрах чадварыг ойролцоогоор 40%-иас дээш бууруулсан нь хоруу чанар харьцангуй өндөр байгааг харууллаа. Харин гүзээлзгэнийн навч, хар манжингийн усан ханд болон аньсны навчны ус, этилийн спиртэн ханд нь 200 мкг/мл-ээс бага тунгийн хязгаарт эсэд үзүүлэх хоруу чанар харьцангуй бага байсан бол зэрлэг хөх далан хальсны иш, жимсний этилийн спиртэн хандны 12.5 мкг/мл-ээс их, навчны усан хандны 100 мкг/мл-ээс бага тун нь RBL-2H3 эсийн амьдрах чадварыг нэмэгдүүлж, эсийн пролиферацийг дэмжих идэвх үзүүлэв.

Талархал: Энэхүү судалгааг Үндэсний Шинжлэх Ухаан Технологийн Сангийн ШУСС-2026/25 дугаартай “Зарим ургамлын харшлын эсрэг идэвхийг эсийн болон амьтны загварт тодорхойлох” сэдэвт суурь судалгааны төслийн санхүүжилтээр хийж гүйцэтгэв. Төслийн баг хамт олон, АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэн, Био-Анагаахын сургуулийн Дархлаа судлалын тэнхимийн эрдэмтэн багш нартаа талархсанаа илэрхийлье.

Ном зүй:

1. Yuan H, Ma Q, Ye L, Piao G. The traditional medicine and modern medicine from natural products. *Molecules*. 2016;21(5):559.
2. World Health Organization. WHO Global Report on Traditional and Complementary Medicine 2019. World Health Organization; 2019.
3. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 2010;15(10):7313-7352.
4. Demberel N, et al. Research on bioactive substances of some medicinal plants in Mongolia. *Proc Mong Acad Sci*. 2018;58(2):34-42.
5. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *J Nat Prod*. 2020;83(3):770-803.
6. Passante E, Ehrenberg K. The RBL-2H3 cell line: Its provenance and suitability as a model for IL-3-dependent mast cells. *Inflamm Res*. 2014;63(1):1-13.
7. Gilfillan AM, Beaven MA. Regulation of mast cell responses in health and disease. *Crit Rev Immunol*. 2011;31(6):475-529.
8. Freshney RI. *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications*. 6th ed. Wiley-Blackwell; 2010.
9. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983;65(1-2):55-63.
10. Weyermann J, Lochmann D, Zimmer A. A practical note on the use of cytotoxicity assays: MCT, MTT, and LDH release assay. *Int J Pharm*. 2005;288(2):369-376.
11. International Organization for Standardization. *Biological Evaluation of Medical Devices — Part 5: Tests for In Vitro Cytotoxicity (ISO Standard No. 10993-5:2009)*. International Organization for Standardization; 2009.
12. Lopez-Garcia J, Lehouck M, Humpolicek P, Saha P. HaCaT keratinocytes response on antimicrobial atopic hats. *PLoS One*. 2014;9(12):e114124.
13. Liberal J, Cruz MT, Francisco V, et al. Bioactive compounds of *Fragaria vesca* L. leaves: Cytotoxicity and anti-inflammatory activity in RAW 264.7 macrophages. *J Ethnopharmacol*. 2020;259:112933.
14. Park E, Lee J, Kim S, et al. Inhibitory effects of *Vaccinium vitis-idaea* L. leaf extract on degranulation and histamine release in RBL-2H3 mast cells. *Phytomedicine*. 2019;62:152960.
15. Kowalska K, Olejnik A, Rychlik J, Grajek W. Cytotoxicity and antioxidant activity of cranberry and lingonberry extracts in HepG2 and Caco-2 cell models. *Food Chem*. 2021;345:128789.
16. Beevi SS, Mangamoori LN, Subathra M, Edula JR. Hexane extract of *Raphanus sativus* roots inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2010;11(6):1715-1720.
17. Rupasinghe HP, Yu LJ, Bhullar KS, Bors W. Phytochemical profile and in vitro cytoprotective capacity of *Lonicera caerulea* berry extracts. *J Agric Food Chem*. 2012;60(14):3658-3665.
18. Jurikova T, Sochor J, Rop O, et al. Polyphenolic profile and biological activity of *Lonicera caerulea* L. cultivars. *Molecules*. 2012;17(10):11479-11490.

Determination of non-cytotoxic dose ranges of selected plant extracts in RBL-2H3 cells

Baasandash Ts^{1,4}, Khaliun G¹, Nurbyek S^{1,2}, Uranbileg B^{2,5}, Anujin Ts^{1,2}, Khongorzul B^{1,2}, Enkhmaa D^{2,5}, Battogtokh Ch^{2,3}, Enkhsaikhan L^{2,4}, Tsevelmaa N^{1,2}

¹School of Graduate, MNUMS

²Institute of Biomedical Sciences, MNUMS

³School of Biomedicine, MNUMS

⁴Department of Immunology, School of Biomedicine, MNUMS

⁵Department of Medical Chemistry, School of Biomedicine, MNUMS

E-mail: fbm26e012@gt.mnums.edu.mn, Tel: +976-88687414

Abstract:

Background: Globally, research on identifying bioactive compounds from medicinal plants and characterizing their *in vitro* and *in vivo* pharmacological activities is progressing rapidly. Plants native to Mongolia have adapted to unique, extreme continental climatic conditions, accumulating distinct phytochemicals, and have historically been utilized in traditional medicine and dietary practices. Establishing the non-cytotoxic safety threshold of these wild and cultivated plant extracts in RBL-2H3 mast cells a universally accepted model for type I hypersensitivity and inflammation is a vital prerequisite. Determining these baseline non-toxic dose ranges provides the essential scientific foundation for subsequent cellular allergy models, animal studies, and the elucidation of molecular mechanisms underlying their therapeutic efficacy.

Aim: To determine the cytotoxicity profile and establish the non-cytotoxic dose ranges of extracts from four selected Mongolian plant species (wild and cultivated) in RBL-2H3 cells.

Materials and Methods: Plant samples including lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*), strawberry (*Fragaria orientalis*), black radish (*Raphanus sativus*), and blue-berried honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.) were standardly collected, authenticated, and cataloged as herbarium specimens at the Botanic Garden and Research Institute, Mongolian Academy of Sciences. A total of 12 distinct extracts were prepared from plant leaves, stems, and fruits using water and ethanol extraction, followed by concentration via rotary evaporation and freeze-drying. Rat basophilic leukemia (RBL-2H3) cells were maintained in EMEM growth medium and utilized during the exponential growth phase. Cell viability and non-cytotoxic concentration thresholds were evaluated using the MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay.

Results: Ethanolic extracts of strawberry leaves, black radish, and honeysuckle leaves (≥ 6.25 $\mu\text{g/mL}$), as well as aqueous extracts of honeysuckle fruits (≥ 6.25 $\mu\text{g/mL}$) and stems (≥ 25 $\mu\text{g/mL}$), exhibited dose-dependent cytotoxicity. Conversely, aqueous extracts of lingonberry leaves (≤ 200 $\mu\text{g/mL}$), strawberry leaves (≥ 100 $\mu\text{g/mL}$), and black radish (≤ 200 $\mu\text{g/mL}$), alongside ethanolic extracts of lingonberry leaves (≥ 50 $\mu\text{g/mL}$), demonstrated non-cytotoxic profiles. Furthermore, ethanolic extracts of honeysuckle stems (≤ 300 $\mu\text{g/mL}$) and fruits (≥ 12.5 $\mu\text{g/mL}$), as well as the aqueous extract of honeysuckle leaves (≤ 50 $\mu\text{g/mL}$), significantly enhanced RBL-2H3 cell viability.

Conclusion: The tested plant extracts influenced RBL-2H3 cell viability in a solvent polarity and plant organ dependent manner. Ethanolic extracts of strawberry leaves, black radish, and honeysuckle leaves, along with aqueous extracts of honeysuckle fruits and stems, demonstrated relatively high cytotoxicity, reducing cell viability by $>40\%$ starting at concentrations of 12.5, 25, and 50 $\mu\text{g/mL}$. In contrast, aqueous extracts of strawberry leaves and black radish, as well as both aqueous and ethanolic extracts of lingonberry leaves, maintained low cytotoxicity at concentrations below 200 $\mu\text{g/mL}$. Notably, ethanolic extracts of honeysuckle stems and fruits (>12.5 $\mu\text{g/mL}$) and its aqueous leaf extract (<100 $\mu\text{g/mL}$) enhanced cell viability, exhibiting significant cell proliferation promoting activity.

Keywords: Aqueous extract, Ethanol extract, MTT, Cell viability