# Эмийн ургамлаас ялган авсан биоидэвхт фракцын макрофагийн идэвхжлийн бүтээгдэхүүнд үзүүлэх адаптоген нөлөөг судалсан дүн

*С.Хашчулуун[1,2,6], Б.Бадмараг[1,6], Ч.Онон[1,6], О.Эрдэнэзаяа[3,4], Н.Золмөнх[2], Колосов П.Н[5], Щербаков Д.Н[5], С.Чимидцэрэн[2,6], С.Цогтсайхан[2]*

*[1]АШУҮИС, Эрдмийн сургууль*
*[2]АШУҮИС, Био-Анагаахын сургууль, Дархлаа судлалын тэнхим*
*[3]АШУҮИС, Био-Анагаахын сургууль, Анатомийн тэнхим*
*[4]АШУҮИС, Био-Анагаахын хүрээлэн*
*[5]ОХУ, Алтайн их сургууль*
*[6]"Прецилаб" лаборатори*
*Цахим шуудан: Khashchuluun@mnums.edu.mn, Утас: 80181906*

**Түлхүүр үг:**
*Rh.Adamsii*
RAW264.7
Азотын исэл
TNFα
IFNβ

**Товч утга:**

**Үндэслэл:** Макрофаг эс нь антиген илчлэх, залгих, цитокин болон өсөлтийн хүчин зүйлүүдийг ялгаруулах зэргээр дархлааны хариу урвалыг зохицуулагад чухал үүрэг гүйцэтгэдэг.[1] Макрофаг эс нь мембран, эсийн дотор байрлах PRRs (pattern recognition receptors)-ын нөлөөгөөр идэвхжиж, цитокин, өсөлтийн хүчин зүйлүүдийг нийлэгжүүлдэг. Макрофаг эсийн идэвхжил М1, М2 хэлбэрээр явагддаг болохыг тодорхойлсон байна.[2] Зарим эмийн ургамлууд дархлаа зохицуулах адаптоген идэвхтэй байдаг болохыг судлаачид тэмлэглжээ.[3,4] *Rhododendron Adamsii (Rh.Adamsii)* нь Монгол, Буриад, Төвд, Якутын уламжлалт эмчилгээнд хэрэглэгддэг ургамал бөгөөд адаптоген нөлөөтэй болохыг судлан тогтоосон.[5] Харин *Rh.Adamsii* ургамлын биоидэвхт фракцууд дархлааны хариу урвалд хэрхэн нөлөөлдөг нь тодорхойгүй байна. Иймд бид ОХУ-ын Суурь судалгааны сантай хамтран "Эмийн ургамлаас ялгасан биологийн идэвхтэй фракцуудыг in vitro орчинд шинжлэн судлах иж бүрэн аргачлал боловсруулах судалгаа" сэдэвт төслийн хүрээнд *Rh.Adamsii* ургамлаас ялган авсан фракцуудын макрофаг эсийн идэвхжилийн бүтээгдэхүүний гарцад хэрхэн нөлөөлдөг талаарх судалгааг хийж гүйцэтгэв. **Зорилго:** Эмийн ургамлаас ялган авсан биоидэвхт фракцуудын макрофаг эсийн идэвхжлийн бүтээгдэхүүнд үзүүлэх адаптоген нөлөөг тодорхойлох. **Арга, аргачлал:** ОХУ-ийн Алтайн улсын их сургуулийн Биологийн факультетын Био-Анагаахын хүрээлэнгийн лабораторид *Rh.Adamsii*-аас ялган авсан 7.11, 7.12 дугаартай фракцуудыг RAW264.7-хулганын макрофаг төст эсийн өсгөвөрт туршиж, эсэд хоргүй тунг МТТ аргаар, эцсийн бүтээгдэхүүний гарцад нөлөөлж буйг фермент холбоот эсрэгбиеийн урвалаар тус тус тодорхойлсон. **Үр дүн:** Биоидэвхт фракцуудын 100 мкг/мл тун эсэд хортой, 10 мкг/мл тун эсэд хоргүй байна. Биоидэвхт фракцуудын 20, 10, 5 мкг/мл тунгууд бүгд азотын ислийн болон IFNβ цитокины гарцыг дарангуйлж байна. Харин 7.11 дугаартай фракц 20 мкг/мл тун дээр TNF-α цитокины гарцыг дарангуйлж, 7.12 дугаартай фракц TNF-α цитокины гарцыг дарангуйлаагүй байна. **Дүгнэлт:** 1. *Rh.Adamsii*-н биоидэвхт фракцуудын 10 мкг/мл тун нь RAW264.7 эсэд хоргүй байна. 2. *Rh.Adamsii*-н биоидэвхт фракцууд нь азотын исэл, IFNβ цитокины гарцыг дарангуйлах нөлөөтэй. Харин 7.11 дугаартай биоидэвхт фракц TNF-α цитокины гарцыг дарангуйлах нөлөөлөөтэй байна.

**Үндэслэл:** Макрофаг эс нь антиген илчлэх, залгилт хийх түүнчлэн цитокин, өсөлтийн хүчин зүйлүүдийг ялгаруулах зэргээр дархлааны хариу урвалыг зохицуулах чухал үүрэгтэй.[1] Макрофаг эсийн PRR (Pattern recognition receptors) нь эмгэгтөрөгчийн PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns), DAMPs (Damage-associated molecular patterns)-ийг таньж холбогдсоноор макрофаг эс идэвхжиж, цитокин, өсөлтийн хүчин зүйлүүдийг нийлэгжүүлдэг. М1 хэлбэрээр идэвхэжсэн макрофаг эс үрэвслийг

нөхцөлдүүлдэг бол M2 хэлбэрээр идэвхэжсэн макрофаг эс үрэвслийг дарангуйлах, эд эсийн нөхөн төлжилтийх өдөөх нөлөөтэй болохыг судлаачид тоогтоосон байна.[2]

Хөхтөн амьтны эсэд TLRs (Toll like receptors), RLRs (RIG-I-like receptors), NLRs (Nod-like receptors), CLRs (C-type lectin receptors) зэрэг PRR байдгаас TLR – ууд нь эсийн гадна, дотор мембранд байрлаж DAMPs, PAMPs-ийг сонгомлоор таньж холбогддог.[6] Эдгээрээс TLR4 нь Грам сөрөг бактерийн липополисахаридтай (ЛПС) өвөрмөцөөр холбогдож, MYD88 (Myeloid differentiation primary response 88) хамааралт дохио дамжилтын замаар NF-κB (nuclear factor kappa B), TRIF (TIR domain containing adapter-inducing interferon β) хамааралт замаар IRF3 (interferon regulating factor 3)-ийг идэвхжүүлснээр 1 дүгээр хэлбэрийн IFN, үрэвслийн цитокинуудын нийлэгжилтийг өдөөдөг. Энэ нь эзэн биеийг эмгэгтөрөгчдөөс хамгаалж буй урвал хэдий ч уг явц хяналтгүй, удаан хугацаанд өрнөвөл эрүүл эс, эдийг гэмтээн үйл ажиллагааны алдагдалд оруулдаг.[7]

*Rhododendron Adamsii (Rh.Adamsii)* нь Монгол, Буриад, Төвд, Якутын уламжлалт эмчилгээнд хэрэглэгддэг ургамал бөгөөд далайн төвшнөөс дээш 1200 – 2500 метрийн өндөрлөгт хөвд, нарсан ой, хад ихтэй ууланд ургадаг. Уламжлалт анагаах ухаанд Анар-8, Даль-3, 6, 7, 8, 9, 11, 16, 18, Дошун-12 болон Тэрэлж-16 зэрэг тангийн найрлагад *Rh.Adamsii* ургамал орж, ханиалга, хоолойн үрэвсэл зэрэг амьсгалын замын эмгэгүүд, хоол боловсруулах замын эмгэгүүд, түүнчлэн дасан зохицох, тамиржуулах зорилгоор хэрэглэдэг.[5,8,9] Данел Н Оленников (2021 он) нарын судалгаагаар *Rh.Adamsii* ургамлын 170 химийн нэгдлийг тодорхойлж, адаптоген нөлөөтэй болохыг судлан тогтоосон.[5] Адоптоген нөлөө бүхий ургамлууд нь тамиржуулах, бодисын солилцоог сайжруулахаас гадна дархлаа зохицуулах идэвхтэй болохыг тодорхойлсон судалгаануудад, зарим адаптоген ургамлууд эсийг идэвхжүүлж, дархлаа тогтолцоонд нөлөөлж байсан.[3,4] Харин *Rh.Adamsii* ургамал макрофаг эсийн идэвхжилийн бүтээгдэхүүний гарцад хэрхэн нөлөөлдөг талаарх судалгаа хомс байна.

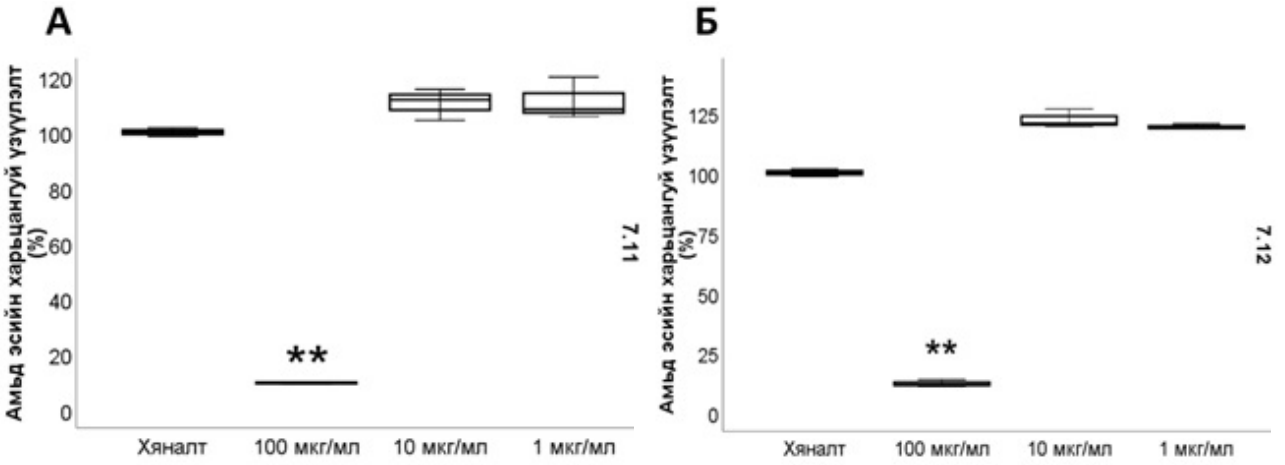
Иймд бид ОХУ-ын суурь судалгааны сантай хамтран "Эмийн ургамлаас ялгасан биологийн идэвхтэй фракцуудыг in vitro орчинд шинжлэн судлах иж бүрэн аргачлал боловсруулах судалгаа" сэдэвт төслийн хүрээнд ОХУ-ын Алтайн улсын их сургуулийн Биологийн факультетын Био-Анагаахын хүрээлэнгийн лабораторид *Rh.Adamsii* ургамлаас ялган авсан биоидэвхт фракцуудыг гексан (7.11) болон гексан/ Метил терт-бутил эфир (7.12) ашиглан ялган авсан фракцуудын макрофаг эсийн идэвхжилийн бүтээгдэхүүний гарцад хэрхэн нөлөөлдөг талаарх судалгааг хийж гүйцэтгэв.

**Зорилго:** Эмийн ургамлаас ялган авсан биоидэвхт фракцуудын макрофаг эсийн идэвхжлийн бүтээгдэхүүнд үзүүлэх адаптоген нөлөөг тодорхойлох

**Арга, аргачлал:** *Rh.Adamsii*-н биоидэвхт фракцуудын RAW264.7 эс хордуулах тунг тодорхойлсон арга зүй: Диметилсульфоксид уусгагч ашиглан биоидэвхт фракцуудыг уусгасан. Биоидэвхт фракцуудын ялгаатай тунгуудыг эсийн өсгөврийн орчин ашиглан гарган авсан. Тун тус бүрийг RAW264.7 эсийн шугаман өсгөвөрт туршиж, эсэд хоргүй тунг МТТ урвалж ашиглан эсийн амьдрах чадвараар тодорхойлсон.
*Rh.Adamsii*-н биоидэвхт фракцуудын азотын исэл болон TNF-α, IFNβ цитокины гарцад нөлөөлөх нөлөөг тодорхойлсон арга зүй: RAW264.7 эсийн шугаман өсгөврийг LPS-ээр үйлчилж 1 цаг өсгөвөрлөсний дараа биоидэвхт фракцын эсэд хоргүй тунгуудаар үйлчилж, азотын ислийн гарцыг Грейссийн аргаар, TNF-α, IFNβ цитокиныг фермент холбоот эсрэгбиеийн урвалаар (ФХЭБУ) тодорхойлсон.

Статистик боловсруулалтыг T тестээр One way ANOVA (SPSS 25.0) ашиглан статистик бүхий ач холбогдолыг p утгаар илэрхийлж бүлэг хоорондын ялгааг тодорхойлсон.
*Ёс зүйн зөвшөөрөл:* Бид "Эмийн ургамлаас ялгасан биологийн идэвхтэй фракцуудыг in vitro орчинд шинжлэн судлах иж бүрэн аргачлал боловсруулах судалгаа" сэдэвт Оросын суурь судалгааны сантай хамтарсан төслийн хүрээнд судалгааны ажлыг хийж гүйцэтгэсэн. Уг төслийн ёс зүйн зөвшөөрлийг Эрүүл Мэндийн Яам Анагаах Ухааны Ёс Зүйн Хорооны 2022 оны 09 дүгээр сарын 07–ны өдрийн 08 дугаар тогтоолоор авсан. Төслийн хүрээнд 2023 оны 03 дугаар сарын 17–ны өдөр төслийн гүйцэтгэгч АУ-ы магистрант С.Хашчулуун АШУҮИС-ийн Судалгааны Ёс Зүйн Хорооны 2023/3-03 дугаар хуралаар судалгааны ажлыг эхлүүлэх ёс зүйн зөвшөөрөл авсан.

**Үр дүн:**
*Rh.Adamsii-н биоидэвхт фракцын RAW264.7 эс хордуулах тунг тодорхойлсон үр дүн:* 7.11, 7.12 дугаартай *Rh.Adamsii*-ийн биоидэвхт фракцуудыг RAW264.7 эсийн шугаман өсгөвөрт нэмж, 37°C, 5% $CO_2$ орчинд 24 цагийн турш өсгөвөрлөсөн. Эсэд хоргүй тунг МТТ аргаар тодорхойлсон үр дүнг зураг 1-т харуулав.




**Зураг 1. *Rh.Adamsii-н* биоидэвхт фракцын эсэд хоргүй тунг тодорхойлсон үр дүн**

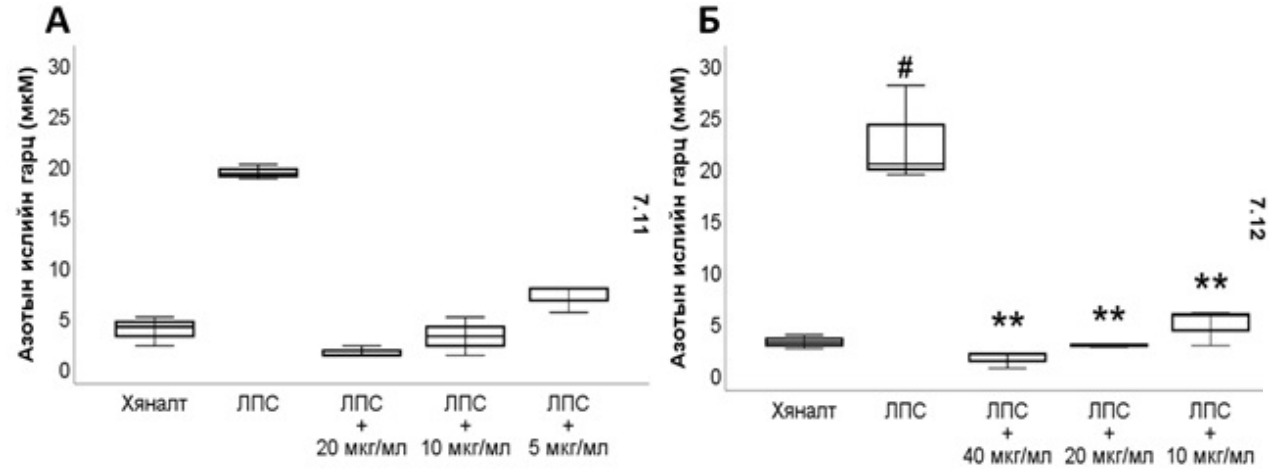
(*p<0.05, **p<0.01; хяналтын бүлэгтэй харьцуулсан) А. 7.11 дугаартай биоидэвхт фракцын эсийн амьдрах чадварт үзүүлэх нөлөөг МТТ аргаар тодохойлсон дүн Б. 7.12 дугаартай биоидэвхт фракцын эсийн амьдрах чадварт үзүүлэх нөлөөг МТТ аргаар тодохойлсон дүн (*p<0.05, **p<0.01; хяналтын бүлэгтэй харьцуулсан)

Зураг 1-ийн А–д 7.11 дугаартай биоидэвхт фракцын 100 мкг/мл тунгаар үйлчилсэн бүлгийг хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад амьд эсийн харьцангуй үзүүлэлт буурсан нь тухайн тунг RAW264.7 эсийн шугаман өсгөвөрт хортой болохыг харуулж байна. Мөн 7.12 дугаартай биоидэвхт фракцын 100 мкг/мл тун RAW264.7 эсийн шугаман өсгөвөрт хортой болохыг зураг 1-ийн Б–д харууллаа.

*Rh.Adamsii*–ийн биоидэвхт фракцуудын 10 мкг/мл тун эсэд хоргүй болох нь тодорхойлогдсон. Харин 100–аас 10 мкг/мл-ийн, завсрын тунгууд нь эсийн амьдрах чадварт хэрхэн нөлөөлдөг нь тодорхойгүй тул фракцуудын зарим үрэвслийн медиаторд нөлөөлөх нөлөөг тодорхойлохдоо 20 мкг/мл, 10 мкг/мл, 5 мкг/мл тунгуудыг сонгон авч, туршилтыг хийсэн. Цаашид туршилт бүрт эсийн шугаман өсгөврийн амьдрах чадварыг МТТ аргаар тодорхойлж, эс хордуулах нөлөөг үгүйсгэсэн.

*Rh.Adamsii-н биоидэвхт фракцын азотын исэл, IFNβ, TNF-α цитокины гарцад нөлөөлөх нөлөөг тодорхойлсон үр дүн:* Азотын ислийн гарцыг Грейссийн аргаар, IFNβ, TNF-α цитокины гарцыг фермент холбоот эсрэг биеийн урвалаар тодорхойлж биоидэвхт фракцуудын нөлөөг судалсан.

*Биоидэвхт фракцуудын азотын ислийн гарцад нөлөөлөх нөлөөг тодорхойлсон үр дүн:* RAW264.7 эсийн шугаман өсгөвөрийг 100 нг/мл липополисахаридаар (ЛПС) TLR4-ийн дотоод дохио дамжилтыг өдөөж 1 цаг өсгөвөрлөсний дараа биоидэвхт фракцын эсэд хоргүй тунгуудыг нэмж, 37°C, 5% $CO_2$ орчинд дахин өсгөвөрлөсөн. 24 цагийн дараа эсийн өсгөврийн шингэнээс соруулан авч Грейссийн аргаар азотын ислийн гарцыг тодорхойлсон.

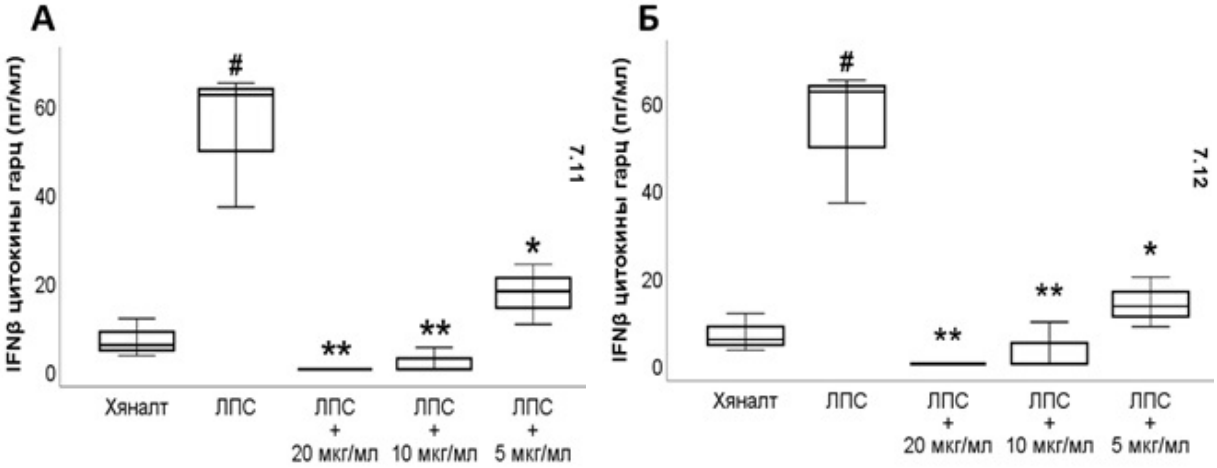



**Зураг 2. *Rh.Adamsii-н* биоидэвхт фракцын азотын ислийн гарцад нөлөөлөх, нөлөөг тодорхойлсон үр дүн**

(*p<0.05, **p<0.01: хяналтын бүлэгтэй харьцуулсан; #p<0.5: хяналтын бүлэгтэй харьцуулсан) А**.** 7.11 дугаартай биоидэвхт фракцын азотын ислийн гарцыг тун хамааралтайгаар дарангуйлж буйг Грейссийн аргаар тодорхойлсон дүн Б**.** 7.12 дугаартай биоидэвхт фракцын азотын ислийн гарцыг тун хамааралтайгаар дарангуйлж буйг Грейссийн аргаар тодорхойлсон дүн

ЛПС–аар үйлчилсэн бүлгийг хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад азотын ислийн гарц өндөр байгаа нь RAW264.7 эсийн шугаман өсгөврийг идэвхэжсэн болохыг Зураг 2-ийн А болон Б-д харуулж байна. ЛПС–аар өдөөсөн эсүүдэд, биоидэвхт фракцуудын тунгуудыг туршихад, 7.11, 7.12 дугаартай фракцууд тун хамааралтайгаар азотын ислийн гарцыг дарангуйлж байна.

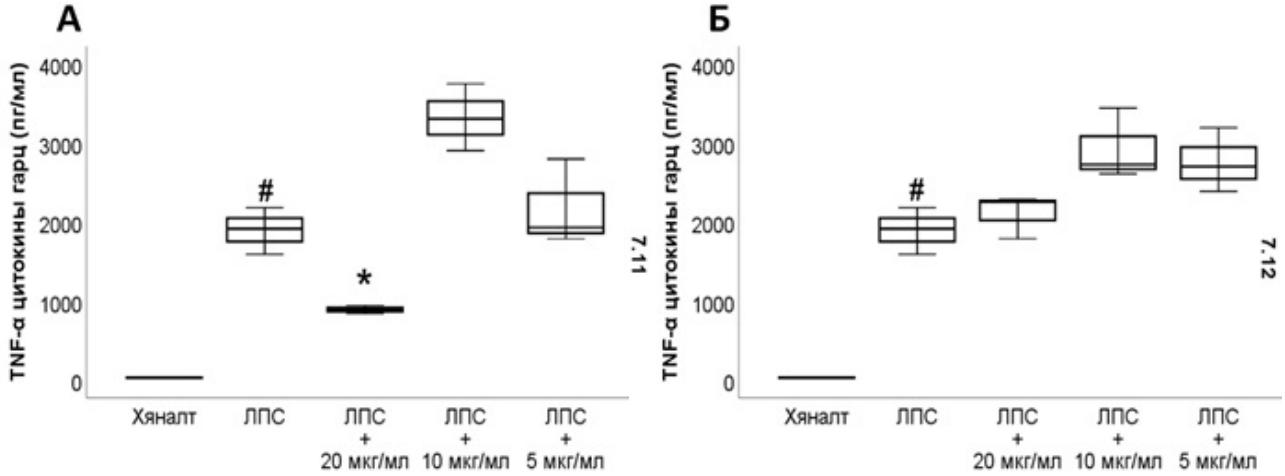
*Биоидэвхт фракцуудын IFNβ цитокины гарцад нөлөөлөх нөлөөг тодорхойлсон үр дүн:* RAW264.7 эсийн шугаман өсгөвөрт ЛПС-аар үйлчилж, биоидэвхт фракцын тунгуудыг нэмж 37°C, 5% $CO_2$ орчинд өсгөвөрлөсөн. 18 цагийн дараа эсийн өсгөврийн шингэнийг авч, IFNβ цитокиныг ФХЭБУ-ээр тодорхойлоход ЛПС-ээр үйлчилсэн бүлгийг хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад IFNβ цитокины гарц ихэссэн. Идэвхжсэн эсүүдэд биоидэвхт фракцын тунгуудыг туршихад IFNβ цитокины гарцыг тун хамааралтайгаар дарангуйлсан (Зураг 3).




**Зураг 3. *Rh.Adamsii-н* биоидэвхт фракцын IFNβ цитокины гарцад нөлөөлөх, нөлөөг тодорхойлсон үр**

(*p<0.05, **p<0.01: хяналтын бүлэгтэй харьцуулсан; #p<0.5: хяналтын бүлэгтэй харьцуулсан) А. 7.11 дугаартай биоидэвхт фракцын IFNβ–г дарангуйлах нөлөөг ФХЭБУ-аар тодорхойлсон дүн Б. 7.12 дугаартай биоидэвхт фракцын IFNβ–г дарангуйлах нөлөөг ФХЭБУ-аар тодорхойлсон дүн

Биоидэвхт фракцуудын **TNF-α** цитокины гарцад нөлөөлөх нөлөөг тодорхойлсон үр дүн**:** RAW264.7 эсийн шугаман өсгөвөрт ЛПС–аар үйлчилж, биоидэвхт фракцуудын тунгуудыг нэмж 37°C, 5% $CO_2$ орчинд өсгөвөрлөсөн. 1 цагийн дараа эсийн өсгөврийн шингэнийг авч, TNF-α цитокиныг ФХЭБУ–аар тодорхойлсон. ЛПС–аар үйлчилсэн бүлгийг хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад TNF-α цитокины гарц өндөр байгаа нь TLR4 –ийн эсийн дотоод дохио дамжилт идэвхэжсэнийг харуулж байна.




**Зураг 4. *Rh.Adamsii-н* биоидэвхт фракцын TNF-α гарцад нөлөөлөх, нөлөөг тодорхойлсон үр дүн**

(*p<0.05, **p<0.01: хяналтын бүлэгтэй харьцуулсан; #p<0.5: хяналтын бүлэгтэй харьцуулсан) А**.** 7.11 дугаартай биоидэвхт фракцын TNF-α гарцад нөлөөлөх нөлөөг ФХЭБУ-аар тодорхойлсон үр дүн Б**.** 7.12 дугаартай биоидэвхт фракцын TNF-α гарцад нөлөөлөх нөлөөг ФХЭБУ-аар тодорхойлсон үр дүн

Зураг 4–д 7.11 дугаартай биоидэвхт фракц нь 20 мкг/мл тун дээр TNF-α цитокины гарцыг бууруулж буй нь тухайн фракц үрэвслийн эсрэг үйлдэлтэй байж болохыг харуулж байна. Харин 7.12 дугаартай биоидэвхт фракц TNF-α цитокины гарцыг дарангуйлахгүй байна.(Зураг 4)

**Хэлцэмж:** Хүний биед макрофаг эсэд TLR4–ийн дохио дамжилт идэвхэжсэнээр азотын дан исэл нийлэгжүүлдэг inducible nitric oxide synthase (iNOS) энзим нийлэгждэг. iNOS нь L-arginine-ийг задалж, L-citrulline үүсэх замаар азотын дан исэл үүсдэг.[10] Азотын дан исэл хүчтэй исэлдүүлэх үйлдэлтэй бөгөөд эмгэгтөрөгчийн эсрэг идэвхтэй үйлчилдэг. Гэвч хэт их хэмжээгээр үүсэх нь орчны эдийг гэмтээдэг. Лабораторийн нөхцөлд азотын дан ислийн гарцыг түүний метаболит азотын ислийн агууламжыг Грейсийн аргаар хэмжиж тодорхойлсон судалгаанууд байдаг.[11,12] ЛПС–аар үйлчилсэн RAW264.7 эсийн өсгөвөрт биоидэвхт фракцууд нь азотын ислийн гарцыг бууруулсан нь TLR4–ийн дохио дамжилтаар iNOS үүсэх аль нэг шатанд нөлөөлдөг байж болохыг

харуулж байна.

IFNβ цитокин нь вирусийн эсрэг үйлдэл үзүүлдэг цитокин бөгөөд эсийн апоптозийг өдөөхөөс гадна макрофаг эсийн үрэвслийг зохицуулах цитокины ялгаралтыг өдөөдөг.[13] TLR3, TLR4, TLR7, TLR9 зэрэг рецепторууд нь лигандтай холбогдож, дохио дамжилтыг идэвхжүүлснээр интерферонууд нийлэгждэг. Түүнчлэн макрофаг эсэд IFNβ нь аутокрин замаар IFNAR1, IFNAR2 (Interferon alpha/beta receptor 1,2)–той холбогдсоны улмаас нийлэгждэг талаар тэмдэглэгдсэн байна.[14,15] IRFs (Interferon regulatory factors) нь транскипцийн хүчин зүйл бөгөөд IRF1, IRF3, IRF5, IRF7 нь нэгдүгээр хэлбэрийн интерфероны транскипцлэгдэх нөхцөлийг бүрдүүлдэг талаар тэмдэглэгдсэн байдаг.[16,17]

Бидний судалгаагаар ЛПС–аар үйлчилсэн RAW264.7 эсэд IFNβ цитокины гарц биоидэвхт фракцуудын нөлөөгөөр буурсан нь TRIF хамааралт дохио дамжилтыг дарангуйлдаг байж болохыг харуулж байна. Биоидэвхт фракцууд нь азотын исэл болон IFNβ цитокины гарцыг тун хамааралтайгаар дарангуйлж буй нь IRF1–т нөлөөлдөг байж болох юм. IRF1 нь IRF3 болон PP2A-н харилцан үйлчлэлийг дарангуйлж, IRF3-ын фосфоржилтийг нөхцөлдүүлдэг болох нь судлагдсан байдаг.[18,19] Түүнчлэн iNOS-ийн промоторын хэсэг нь GAS, ISFRE промоторын дарааллуудыг агуулсан байдаг. IRF1 нь тэдгээр дарааллуудыг агуулсан хроматиний эрчлээг суллаж, улмаар iNOS транскрипцд орох нөхцөлийг бүрдүүлдэг байж болохыг судалсан байна.[20-22]

Макрофаг эсийн M1 хэлбэрийн идэвхжилийн үед үрэвслийн урьдал цитокин TNF-α их хэмжээгээр ялгардаг болох нь судлагдсан байдаг.[23] Бидний судалгаагаар биоидэвхт фракцуудын TNF-α цитокиныг дарангуйлах идэвх харилцан адилгүй тодорхойлогдсон. 7.11 дугаартай биоидэвхт фракц нь 20 мкг/мл тун дээр TNF-α цитокины гарцыг дарангуйлж, 7.12 дугаартай фракц TNF-α цитокины гарцыг нэмэгдүүлж буй зүй тогтол ажиглагдсан. Үүнээс үзэхэд 7.11 фракц TLR4-ийн MYD88 хамааралт дохио дамжилтын замыг дарангуйлдаг байж болох юм. Харин 7.12 дугаартай фракц нь TNF-α цитокины гарцыг нэмэгдүүлсэн нь зарим адоптоген нөлөөтэй ургамлын *in vitro* орчинд хийгдсэн судалгааны үр дүнтэй дүйж байна. Тухайлбал, Су Вон Кан нарын (2020 он) өгүүллээс үзэхэд адоптоген нөлөөтэй ургамал болох *Panax ginseng* ургамал нь *in vitro* орчинд RAW264.7 эсийн iNOS, IL6, IL1, TNF-α-ийн гарцыг нэмэгдүүлдэг болохыг тэмдэглэсэн байна.[24] Адаптогенүүд нь биеийн хүч тэнхээг нэмэгдүүлэх, бодисын солилцоог сайжруулах, дасан зохицох, амьдрах чадварыг нэмэгдүүлэх, түүнчлэн дархлаа зохицуулгын үүрэгтэй.[3]

Данел Н Оленников нарын (2021 он) *in vivo* орчинд хийсэн судалгаагаар *Rh.Adamsii* ургамалын ханд нь биеийн хүч тэнхээг сайжруулах адаптоген шинжтэй болохыг судлан тогтоосон.[5] Харин бидний судалгаанд *Rh.Adamsii* ургамлын биоидэвхт фракцуудын *in vitro* орчинд макрофаг эсийн идэвхжилд хэрхэн нөлөөлж буйг тодорхойлоход, дархлааны хариу урвалыг зохицуулах, адаптоген шинжтэй байж болохыг харуулж байна.

**Дүгнэлт:**

1. *Rh.Adamsii*-н биоидэвхт фракцууд нь 10 мкг/мл тун нь RAW264.7 эсэд хоргүй байна.
2. *Rh.Adamsii*-н биоидэвхт фракцууд нь азотын исэл, IFNβ цитокины гарцыг дарангуйлах нөлөөтэй. Харин 7.11 дугаартай биоидэвхт фракц TNF-α цитокины гарцыг дарангуйлах нөлөөлөөтэй байна.

**Талархал:** Судалгааг хийж гүйцэтгэхэд туслалцаа үзүүлж дэмжсэн АШУҮИС-ийн Дархлаа судлалын тэнхим, АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэнгийн хамт олонд талархал илэрхийлье.

**Ном зүй:**

1. *Fujiwara N, Kobayashi K. Macrophages in inflammation. Current drug targets Inflammation and allergy. 2005;4(3):281-286.*
2. *Yunna C, Mengru H, Lei W, Weidong C. Macrophage M1/M2 polarization. European journal of pharmacology. 2020;877:173090.*
3. *Panossian AG, Efferth T, Shikov AN, et al. Evolution of the adaptogenic concept from traditional use to medical systems: Pharmacology of stress- and aging-related diseases. Medicinal research reviews. 2021;41(1):630-703.*
4. *Shin JY, Song JY, Yun YS, Yang HO, Rhee DK, Pyo S. Immunostimulating effects of acidic polysaccharides extract of Panax ginseng on macrophage function. Immunopharmacology and immunotoxicology. 2002;24(3):469-482.*
5. *Olennikov DN, Nikolaev VM, Chirikova NK. Sagan Dalya Tea, a New "Old" Probable Adaptogenic Drug: Metabolic Characterization and Bioactivity Potentials of Rhododendron adamsii Leaves. Antioxidants (Basel, Switzerland). 2021;10(6).*
6. *Tang D, Kang R, Coyne CB, Zeh HJ, Lotze MT. PAMPs and DAMPs: signal 0s that spur autophagy and immunity. Immunological reviews. 2012;249(1):158-175.*
7. *Park BS, Lee JO. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes. Experimental & molecular medicine. 2013;45(12):e66.*
8. *Hubich A, Puchkova K, Zalesskaya N, Kryuchkova N. The investigation of the adaptogenic properties of Rhododendron adamsii Rehder. on experimental models in vivo. Journal of the Belarusian State University Biology. 2018;1:60-68.*
9. *Pacific WHOROW. Medicinal Plants in Mongolia. World Health Organization, Western Pacific Region; 2014.*
10. *Park EJ, Pezzuto JM, Jang KH, Nam SJ, Bucarey SA, Fenical W. Suppression of nitric oxide synthase by thienodolin in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophage cells. Natural product communications. 2012;7(6):789-794.*
11. *Tsikas D. Analysis of nitrite and nitrate in biological fluids by assays based on the Griess reaction: appraisal of the Griess reaction in the L-arginine/nitric oxide area of research. Journal of chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences. 2007;851(1-2):51-70.*
12. *Kendall HK, Marshall RI, Bartold PM. Nitric oxide and tissue destruction. Oral diseases. 2001;7(1):2-10.*
13. *Ginting TE, Christian S, Larasati YO, Suryatenggara J, Suriapranata IM, Mathew G. Antiviral interferons induced by Newcastle disease virus (NDV) drive a tumor-selective apoptosis. Scientific Reports. 2019;9(1):15160.*
14. *Antonczyk A, Krist B, Sajek M, et al. Direct Inhibition of IRF-Dependent Transcriptional Regulatory Mechanisms Associated With Disease. Frontiers in immunology. 2019;10.*
15. *Zhou H, Zhao J, Perlman S. Autocrine interferon priming in macrophages but not dendritic cells results in enhanced cytokine and chemokine production after coronavirus infection. mBio. 2010;1(4).*
16. *Xie C, Liu C, Wu B, et al. Effects of IRF1 and IFN-β interaction on the M1 polarization of macrophages and its antitumor function. International journal of molecular medicine. 2016;38(1):148-160.*
17. *Jefferies CA. Regulating IRFs in IFN Driven Disease. Frontiers in immunology. 2019;10.*

18. Wang J, Li H, Xue B, et al. IRF1 Promotes the Innate Immune Response to Viral Infection by Enhancing the Activation of IRF3. Journal of virology. 2020;94(22).
19. Fujita T, Reis LF, Watanabe N, Kimura Y, Taniguchi T, Vilcek J. Induction of the transcription factor IRF-1 and interferon-beta mRNAs by cytokines and activators of second-messenger pathways. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1989;86(24):9936-9940.
20. Song R, Gao Y, Dozmorov I, et al. IRF1 governs the differential interferon-stimulated gene responses in human monocytes and macrophages by regulating chromatin accessibility. Cell Reports. 2021;34(12):108891.
21. Nakao N, Kurokawa T, Nonami T, Tumurkhuu G, Koide N, Yokochi T. Hydrogen peroxide induces the production of tumor necrosis factor-alpha in RAW 264.7 macrophage cells via activation of p38 and stress-activated protein kinase. Innate immunity. 2008;14(3):190-196.
22. Abdul-Cader MS, Amarasinghe A, Abdul-Careem MF. Activation of toll-like receptor signaling pathways leading to nitric oxide-mediated antiviral responses. Archives of Virology. 2016;161(8):2075-2086.
23. Martinez FO, Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. F1000prime reports. 2014;6:13.
24. Kang S, Min H. Ginseng, the 'Immunity Boost': The Effects of Panax ginseng on Immune System. Journal of ginseng research. 2012;36(4):354-368.

# Adaptogenic effect of bioactive fractions extracted from medicinal plants on macrophage cell activation products

*Khashchuluun S[1,2], Badmaarag B[1,2,6], Onon Ch[1,2,6], Erdenezaya O[3,4], Zolmunkh N[2], Kolosov P N[5], Scherbakov D N[5], Chimidtseren S[2,6], Tsogtsaikhan S[2]*

*[1]Graduate School, MNUMS*
*[2]Department of Immunology, School of Biomedicine, MNUMS*
*[3]Department of Anatomy, School of Biomedicine, MNUMS*
*[4]Institute of Biomedical Science, MNUMS*
*[5]Altai State University, Russia*
*[6]"Precilab" laboratory*
*E-mail: Khashchuluun@mnums.edu.mn, Tel: +976-80181906*

**Background:** Macrophages, pivotal in the immune system, perform essential functions: antigen presentation, phagocytosis, and immune regulation via cytokines and growth factors. Membrane-bound Pattern Recognition Receptors (PRRs) activate macrophages, driving cytokine and growth factor production. Macrophages exhibit two distinct phenotypes: M1, associated with pro-inflammatory responses, and M2, known for anti-inflammatory functions.
*Rhododendron Adamsii* (Rh. Adamsii), used in traditional medicine in Mongolia, Buryatia, Tuva, and Yakutia, is renowned for its adaptogenic potential. Some adaptogens were recognized for enhancing cellular activity and immunity.
Therefore, as part of our collaborative project with the Basic Research Foundation of the Russian Federation, titled "Research on Developing a Comprehensive Methodology for In Vitro Analysis of Biologically Active Fractions Isolated from Medicinal Plants," we were conducted a study on the impact of bioactive fractions extracted from *Rh.Adamsii* on macrophage-derived cytokine release.
**Materials and Methods:** The fractions were extracted from *Rh.Adamsii* in the laboratory of the Institute of Biomedicine, Faculty of Biology, Altai University, Russia. The cytotoxic effect of bioactive fractions on RAW264.7 mouse macrophage-like cells was determined by the MTT method. The effect of the bioactive fraction on the final product of macrophage cells were determined by enzyme-linked immunosorbent antibody assay
**Results:** 100 μg/ml of bioactive fractions were toxic to cells, and 10 μg/ml doses were non-toxic. Doses of 20, 10, and 5 μg/mL bioactive fractions inhibited the production of nitric oxide and IFNβ cytokine. However, fraction number 7.11 inhibited the output of TNF-α cytokine at a dose of 20 μg/ml, and fraction number 7.12 did not inhibit the production of cytokine TNF-α.
**Conclusions:**
1. At a 10 μg/mL dose, the bioactive fraction is non-toxic to RAW264.7 cells.
2. A bioactive fraction inhibited the release of nitric oxide and IFNβ cytokine. However, TNF-α cytokine was inhibited by 7.11 bioactive fraction.

**Keywords:** Rh.Adamsii, RAW264.7, Nitric oxide, IFNβ, TNFα