

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ВИДОВ РОДА *UNGERNIA BUNGE* С ЦЕЛЬЮ ИХ СОХРАНЕНИЯ И УСТОЙЧИВОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Д. Б. Дехканов, Д. Н. Жамалова, Г. Т. Курбаниязова

Институт Ботаники Академии Наук Республики Узбекистан
г. Ташкент, Узбекистан, dilafuz.jamalova.91@mail.ru

Аннотация. Использование биотехнологических подходов для ускоренного размножения является одним из эффективных способов сохранения растительных ресурсов, и такие методы разработаны на сегодняшний день для многих видов растений. В качестве альтернативного источника лекарственного сырья и метода ускоренного размножения растений широко используют культуру тканей *in vitro*. В настоящем обзоре были представлены и оценены фармакологические и фитохимические исследований видов рода *Ungernia* Bunge (Amaryllidaceae), флоры Узбекистана, имеющие статус редких, а также являющиеся эндемичными видами, из-за чего заготовки их в больших количествах ограничены или запрещены: *U. victoris* Vved. ex Artjuschenko и *U. sewerzowii* (Regel) B. Fedtsch. В настоящее время из этих вида выделен алкалоиды галантамин, ликорин, панкратин, нарведин, унгерин, унгеридин, гиппеастрин, гемантидин, тазеттин, горденин, который широко используется в медицине при лечение бронхита, язвы, полиомиелита и неврологические заболевания

Ключевые слова: *Ungernia victoris*; *Ungernia sewerzowii*; галантамин; ликорин; *in vitro*; питательные среды; микроклональное размножение

THEORETICAL FOUNDAT OF MICROPROPAGATION OF SPECIES OF THE GENUS *UNGERNIA BUNGE* FOR THEIR CONSERVATION AND SUSTAINABLE USE

D. B. Dekhkonov, D. N. Zhamalova, G. T. Kurbaniazova

Institute of Botany of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
Tashkent, Uzbekistan, dilafuz.jamalova.91@mail.ru

Annotation. The use of biotechnological approaches for accelerated reproduction is one of the most effective ways to conserve plant resources, and such methods have been developed to date for many plant species. *In vitro* tissue culture is widely used as an alternative source of medicinal raw materials and a method of accelerated plant reproduction. This review presents and evaluates pharmacological and phytochemical studies of species of the genus *Ungernia* Bunge (Amaryllidaceae), flora of Uzbekistan, which have the status of rare and endemic species, which is why their harvesting in large quantities is restricted or prohibited: *U. victoris* Vved. ex Artjuschenko and *U. sewerzowii* (Regel) B. Fedtsch. Currently, the alkaloids galantamine, lycorin, pankratin, narvedin, ungerin, ungeridin, hippeastrin, hemantidine, tazettin, and gordenin have been isolated from these species, which is widely used in medicine for the treatment of bronchitis, ulcers, polio, and neurological diseases.

Key words: *Ungernia victoris*; *Ungernia sewerzowii*; galantamine; lycorin; *in vitro*; nutrient media; micropropagation

Биотехнологический подход имеет ряд преимуществ перед традиционным использованием растительного сырья, благодаря возможности получения биомассы независимо от сезона, климатических и почвенных условий, а также простоте экстракции и очистки препаратов, усилению биосинтеза нужных веществ с помощью элиситоров, автоматизации процесса и др. [14].

В настоящее время наиболее разработаны технологии получения ценных вторичных БАВ из неорганизованных каллусов или суспензионных культур. Однако, в ряде случаев, каллусы не аккумулируют интересующие метаболиты. В течение последних 30 лет были предприняты значительные усилия по налаживанию производства вторичных растительных метаболитов *in vitro*, главным образом с использованием недифференцированных каллусных или суспензионных клеточных культур, которые позволяют масштабироваться в биореакторах. Однако коммерческий успех был очень ограниченным, главным образом потому, что большинство вторичных метаболитов вырабатываются только в очень малых количествах в недифференцированных клетках: более того, производственная мощность клеточных линий часто снижается с течением времени или в процессе расширения [7]. Известно, что пути биосинтеза вторичных метаболитов требуют кооперации между клетками, тканями и органами растений на внутри- и межмолекулярном уровне, поэтому для отдельных этапов биосинтеза дифференциация клеток является критическим фактором. В подобных ситуациях необходимо использовать более дифференцированные ткани или культуры органов, а иногда и микрорастения [10].

В связи с возросшим спросом на галантамин и ограниченной доступностью растительных источников культивирование *in vitro* видов, продуцирующих галантамин, привлекло внимание исследователей в качестве альтернативного подхода к его устойчивому производству [12]. Были разработаны протоколы для размножения *in vitro* вида *Ungernia victoris*. В исследованиях Кунах и др. (2008) две питательные среды (5C1 и 5C01), для культивирования *in vitro* тканей оценены по показателям эффективности прямой регенерации и каллусообразования, а также генетической изменчивости регенерантов, органогенной и неорганической культур ткани в условиях длительного культивирования. Установлено, что среда 5C1 (2,4 дихлорфеноксиуксусная кислота – 1 мг/л, кинетин - 0,1 мг/л) пригодно в основном для получения каллуса, тогда как среда 5C01 (1 нафтилуксусная кислота – 2 мг/л, кинетин - 1 мг/л) можно эффективно использовать для получения как каллуса, так и регенерантов, и их пролонгированного культивирования. Обе среды обеспечивают сравнительно низкий уровень генетической изменчивости [1].

Имеются опубликованные данные, свидетельствующие о том, что увеличение дивергенции от исходного генотипа и гетерогенность регенерантов, полученных из каллусной культуры, по сравнению с растениями, регенерированными непосредственно из эксплантных тканей. Основной причиной повышения уровня соматоклональной изменчивости при непрямой регенерации может быть увеличение генетической гетерогенности каллусных клеток за счет накопления геномных изменений при длительном культивировании *in vitro*.

Прямая регенерация из тканей экспланта может обеспечить низкую генетическую изменчивость [8]. На сегодняшний день нет никаких сообщений о размножении *Ungernia sewerzowii in vitro* который служит основным источником для получения алкалоида ликорина.

Унгернии. Эти луковичные растения имеют своеобразный цикл развития: ранней весной появляются листья, которые летом увядают, а через 1–2 месяца после увядания листьев появляется безлистный цветоносный стебель с зонтиковидным соцветием из цветков разнообразной окраски у разных видов: кирпично-красной, розовой, желтой и желтовато-розовой.

Ungernia victoris Vved. ex Artjuschenko - эндемичное растение, семейства амариллисовых (Amaryllidaceae) с узким ареалом распространенное только на

Гиссарском хребте и его южных отрогах (Таджикистан и Узбекистан) [4,9]. Многолетнее луковичное растение высотой до 20-25 см. Цветёт в августе, плодоносит в сентябре. Встречаются на мелкоземистых склонах, реже на осыпях в среднем поясе гор на высоте 800–2700 м над уровнем моря и растет преимущественно по склонам южной экспозиции. С 1970 г культивируется в районах естественного произрастания [4], листья и луковицы используются в качестве растительного сырья для извлечения галантамина с 1960 года [7]. Сейчас этот вид является одним из немногих источников важного для медицины алкалоида галантамина, который имеет, в частности, антихолин эстеразную активность, а также некоторых других ценных изохинолиновых алкалоидов, в частности ликорина. Природные запасы унгернии ограничены, а ее интродукция, равно как и других представителей семьи амариллисовых, накапливающих галантамин, не имела успеха [3]. На сегодняшний день проблемой является не только недостаточность природной сырьевой базы унгернии Виктора для получения биологически активных веществ, но и сохранение генофонда этого исчезающего вида. Исследование алкалоидов унгернии было начато Ореховым и Норкиной, которые в 1936 г. выделили алкалоид тазеттин из луковиц *U. severtzovii*. Систематические исследования Абдусаматова и др. проводимые с 1949 г., показывают, что максимальное накопление алкалоидов, в том числе галантамина и ликорина приходится на период ранней вегетации; а в период отмирания эпигеальной части количество объединенных алкалоидов резко уменьшается [6]. В настоящее время из двух вида (*U. victoris* и *U. severtzovii*) этого рода выделен алкалоиды галантамин, ликорин, панкратин, нарведин, унгерин, унгеридин, гиппеастрин, гемантидин, тазеттин, горденин, который широко используется в медицине при лечении бронхита, язвы, полиомиелита и неврологические заболевания [7,9,11,13]. Все части *U. victoris* содержат алкалоиды: листья-0,33%-1%; луковицы 0,8%- 0,9%, корни- 2.25%, особенно галантамин 0,7%-1%, нарведин, ликорин, унгерин, унгеридин, гиппеастрин, гемантидин, тазеттин, нортазеттин, горденин [6,7,11,13]. Его накопление в зависимости от условий произрастания достигало у культурных растений до 0,52%, что давало на 20-25% больше листовой массы по сравнению с дикими популяциями. В этом виде растений было обнаружено около 10 алкалоидов. Максимальная концентрация алкалоидов наблюдается ранней весной в период развития листьев. В листьях и луковицах содержатся алкалоиды группы изохинолина, основными из которых являются галантамин, ликорин [5,14] и для получения этих алкалоидов листья *U. victoris* необходимо собирать ранней весной (март), но в это время листья только 1-5 см в длину. В промышленных целях желателен собирать сырье в апреле, когда листья имеют длину 15-25 см. В период полного увядания растения, его сморщенная надземная часть не содержит алкалоидов, так как они накапливаются в луковицах и корнях [6,7,11]. Это растение также содержит кумарин (0,09%), эфирные масла 0,12%, смолы 6%, пектин 4,9%, слизь 7%, сахара 6,1% и органические кислоты 8,91% [11].

Фармакологическая ценность вида обусловлена синтезом изохинолиновых алкалоидов, основные из которых – галантамин и ликорин. Из листьев получают препарат «Галантамина гидробромид». Назначается при остаточных явлениях полиомиелита, полиневрита, радикулита, при травматических повреждениях нервов, при атонии кишечника и мочевого пузыря. Традиционно население использует луковицы и свежие листья для лечения миастении, мышечной боли, бронхита, язвы, для дезинфекции ран, полиомиелита и неврологических

заболеваний. Алкалоиды ликорин и галантамин обладают выраженным гипотензивным действием, ликорин также обладает рвотными свойствами [9,11].

Ungernia sewerzowii (Regel) B. Fedtsch. – более широко распространенное растение; ареал занимает территорию в Южном Казахстане и в Узбекистане (Ташкентская область). Встречается рассеянно, иногда обильно. Растет на каменистых и щебнистых склонах в предгорьях и в среднем поясе гор. Отличается удлиненно-продолговатыми луковицами до 7 см в диаметре, покрытыми пленчатыми угольно-черными чешуями и кирпично-красными, более многочисленными цветками на округлом цветоносном стебле, высотой до 20–40 см.

Из эпигеальных частей выделен алкалоид гиппеастрин [6], из высушенных луковиц унгернин, тазеттин [11]. В листьях 0,7 % алкалоидов и 0,45 % (в луковицах 0,38%) ликорина от массы сухого сырья. Этот вид служит основным источником получения ликорина [2]. При изучении алкалоидов *U. severtzovii* (Rgl.) в период ранней вегетации было обнаружено, что количество панкрatina (гемантидина) в листьях больше, чем тазеттина. В более поздние периоды количество панкрatina уменьшалось, а тазеттина увеличивалось [6,11,13]. Используется луковицы, экстракт листьев для лечения бронхита, ран. В результате фармакологического и клинического изучения, к использованию в медицинской практике разрешен также алкалоид ликорин в виде гидрохлорида как отхаркивающее средство. Назначается при хронических и острых воспалениях легких и бронхов, которые сопровождаются усиленным образованием мокроты. Рекомендуются при остром воспалении легких, тяжелым бронхите, бронхоэктатической болезни [2].

Библиографические ссылки

1. Бублик Е. Н. и др. Питательные среды для культивирования *in vitro* тканей *Ungernia victoris* Vved. Ex Artjushenko // *Biotechnologia Acta*. – 2011. – Т. 4. – №. 6.
2. Гаммерман А. Ф. Лекарственные растения (Растения-целители): Справ. пособ., 4-е изд. – 1990. 544 с.
3. Кунах В. А. и др. Микрклональне розмноження унгернії Віктора (*Ungernia victoris* Vved. Ex Artjushenko) // *Biotechnologia Acta*. – 2008. – Т. 1. – №. 4.
4. Мирович В.М., Горячкина Е.Г., Бочарова Г.И., Федосеева Г. Лекарственные растения, включенные в Красную книгу: учебное пособие / ФГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава РФ, кафедр фармакогнозии и ботаники. – Иркутск: ИГМУ, 2016. – 70 с
5. Ходжиматов М. -/Дикорастущие лекарственные растения Таджикистана Гл. Науч. Ред. Тадж. сов. энциклопедии. Душанбе, Ирфон, 1989г.-368 с. – 1989.
6. Abdusamatov A., Khamidkhodzhaev S. A., Yunusov S. Y. The dynamics of the accumulation of the alkaloids of the genus *Ungernia* // *Chemistry of Natural Compounds*. – 1971. – Т. 7. – №. 1. – С. 54-57.
7. Berkov S. et al. Plant sources of galanthamine: phytochemical and biotechnological aspects // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. – 2009. – Т. 23. – №. 2. – С. 1170-1176.
8. Bublik O. M. et al. Genetic variability in regenerated plants of *Ungernia victoris* // *Biologia plantarum*. – 2012. – Т. 56. – №. 2. – С. 395-400.
9. Egamberdieva D. et al. Phytochemical and pharmacological properties of medicinal plants from Uzbekistan: A review // *Journal of Medicinally Active Plants*. – 2017. – Т. 5. – №. 2. – С. 59-75.
10. Erst A. A. et al. Production of secondary metabolites using cell, tissue and organ cultures of *Hedysarum theinum* (Fabaceae) *in vitro* // *Turczaninowia*. – 2015. 18 (4): 26–35.

11. Kadyrov K. A., Abdusamatov A., Yunusov S. Y. Ungernia alkaloids //Chemistry of Natural Compounds. – 1980. – T. 16. – №. 6. – C. 525-540.
12. Pavlov A. et al. Galanthamine production by *Leucojum aestivum* in vitro systems //Process Biochemistry. – 2007. – T. 42. – №. 4. – C. 734-739.
13. Sadikov T., Zatorskaya I. N., Shakirov T. T. Isolation of alkaloids from *Ungernia severtzovii* by the ion-exchange method //Chemistry of Natural Compounds. – 1974. – T. 10. – №. 1. – C. 123-124.
14. Zhou L. G., Wu J. Y. Development and application of medicinal plant tissue cultures for production of drugs and herbal medicinals in China // Nat. Prod. Rep., 2006. – Vol. 23. – P. 789–810.