Хулганын бүдүүн шулуун гэдэсний хавдрын эсийн өсгөвөрт Их шүүдэргэнэ (Chelidonium majus L.) – ийн хандын үйлчлэлийг тодорхойлох нь

Ч.Батжаргал[1,3,4], О.Эрдэнэзаяа[4,5], Д.Лхагвасүрэн[2], Л.Энхсайхан[3]

[1] Эрдмийн сургууль, АШУҮИС

[2]Биологийн тэнхим, ШУС, МУИС

[3]Дархлаа судлалын тэнхим, Био-АС, АШУҮИС

[4]Анатомийн тэнхим, Био-АС, АШУҮИС

[5]Био-Анагаахын хүрээлэн, АШУҮИС

Цахим шуудан: batjargal.ch@mnums.edu.mn

Утас: 95894751

Түлхүүр үг:

эмийн ургамал, амьдрах чадвар, шугаман эс, EC50, спиртэн ханд

Товч утга:

Үндэслэл: Сүүлийн хагас зуун жилийн хугацаанд химийн эмчилгээний сөрөг нөлөөг бууруулах зорилгоор эмч, мэргэжилтэн, судлаачид байгалийн гаралтай, сөрөг нөлөө багатай хавдрын эсрэг эмчилгээ, хавдрын эрт үед урьдчилан сэргийлэх бэлдмэлийг судлах судалгааны ажлууд ихээр хийгдсээр байна. Өмнөх 2016-2021 оны судалгааны үр дүнгээс үзэхэд уг ургамлын спиртэн ханд нь биологийн идэвхт бодисын өндөр агууламжтай тодорхойлогддог гэсэн үндэслэлээр дараах судалгааг эхлүүллээ.

Зорилго: Хулганын бүдүүн шулуун гэдэсний (MC-38) хавдрын эсийн өсгөвөрт Их шүүдэргэнэ (Chelidonium majus L.) -ийн хандын үйлчлэлийг тодорхойлох.

Арга аргачлал: Харьцуулсан туршилт судалгааны загвараар in vitro орчинд хийж гүйцэтгэсэн. 96 үүрт өсгөврийн хавтанд MC-38 эсийн өсгөврийг 5000, 10000 эс/үүр байхаар тооцоолон, DMEM тэжээлт орчинд тарьж, ариутган бэлтгэсэн дээжийг 0, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0,156 мг/мл концетрацитайгаар тус тус нэмж 24, 48 цагийн турш үйлчилж, эсийн ургалтын 50% - ыг дарангуйлах тунг (EC50) тогтоолоо.

Үр дүн: MC-38 хавдрын эсийг 5000 эс/үүр-ээр авч, 48 цаг тогтворжуулаад, 24 цаг эмчилгээний тунгаар үйлчилж, кристалл виолет болон МТТ шинжилгээгээр амьдрах чадварыг үнэлэхэд EC50 нь 0.700мг/мл, 0.727мг/мл тус тус байлаа. Мөн тус эсийг 10000 эсээр тооцоолж, 24, 48 цаг эмчилгээний тунгаар үйлчилж, МТТ шинжилгээгээр үнэлэхэд нь EC50 нь 1.792мг/мл, 0.398мг/мл тус тус байлаа.

Дүгнэлт: Дээрх судалгааны үр дүнгээс үзэхэд эсийн амьдрах чадварыг үнэлэх шинжилгээний 2 арга нь мэдрэг чанар ижил байсан бөгөөд хавдрын эсийн тоо, хугацаанаас хамааруулан харьцуулахад $p<0.01$, $p<0.05$ ач холбогдол бүхий ялгаатай байна. Цаашид тодорхойлж авсан EC50 эмчилгээний тунгаар хавдрын эсийн генийн экспрессийг үнэлэх шинжилгээг хийх шаардлагатай.

Үндэслэл: Дэлхий дахинд олон төрлийн хорт хавдар, түүнээс шалтгаалах нас баралт нэмэгдсэн нь нийгэм, эрүүл мэндийн томоохон асуудлын нэг болоод байна. Дэлхийн эрүүл мэндийн байгууллагын судалгаанаас үзэхэд 2020 оны байдлаар хавдраар 19,3 сая хүн шинээр оношлогдсон байх ба 10,0 сая хүн нас барсан. Дэлхийд хавдрын өвчлөл ба нас баралтаар уушги, хөх, бүдүүн шулуун гэдэсний хавдрууд эхний гуравт бүртгэгддэг байна[1]. Монгол улсад 2020 онд хорт хавдраар 6702 хүн шинээр оношлогдсон байх ба зонхилон тохиолдох 10 хорт хавдрын төрөл дотор бүдүүн шулуун гэдэсний өвчлөл 6 дугаарт жагсчээ[2]. Орчин үеийн эмч, эрдэмтэн, судлаачдын судалгааны чиг хандлага нь хавдрын хөгжил, явц, үсэрхийллийг дарангуйлж зогсоох, эрт үед урьдчилан сэргийлэх зорилгоор хэрэглэх байгалийн гаралтай хор нөлөө, багатай эм бэлдмэл боловсруулахад гол эх үүсвэр болох эмийн ургамлын биологийн идэвхт бүрэлдэхүүн хэсгүүдийг ялган авч, үйлчлэх нөлөөг тодорхойлон гаргахад чиглэгддэж байна[3]. Их шүүдэргэнэ (Chelidonium majus L.) нь намуутны овгийн олон наст өвслөг ургамал бөгөөд тус ургамлын гол бүрэлдэхүүн хэсэг нь 3 төрлийн изохинолин алкалоидууд юм. Эдгээр алкалоидууд нь спиртэн ханданд их хэмжээгээр агуулагдах ба хавдрын эсрэг сонгомол үйлчлэлтэй гэж үздэг[3–5]. Тус ургамлыг элэгний хавдар, хоол боловсруулах замын өвчнүүд, ходоодны шарх, түүнийг агшилт, амны хөндийн үрэвсэлт өвчин, үе мөчний үрэвсэл, сүрьеэ болон шарлалтын эмчилгээнд уламжлагдан хэрэглэгдэж ирсэн6. Дээрх өвчин эмгэгийн үед эмчилгээнд хэрэглэгдэж буй хандын биологийн идэвхит бодис хэр хэмжээгээр агуулагдаж байгааг шинжлэх ухааны үндэслэлтэйгээр тун хэмжээ нарийвчлан тогтоогдоогүй байна. Иймд Их шүүдэргэнэ (Chelidonium majus L.)-ийн газрын дээд хэсгийн спиртэн хандын үйлчлэх тунг тодорхойлох анхан шатны суурь судалгааг эхлүүллээ.

Зорилго: MC-38 хавдрын эсийн өсгөвөрт Их шүүдэргэнэ (Chelidonium majus L.) -ийн хандын үйлчлэлийг тодорхойлох.

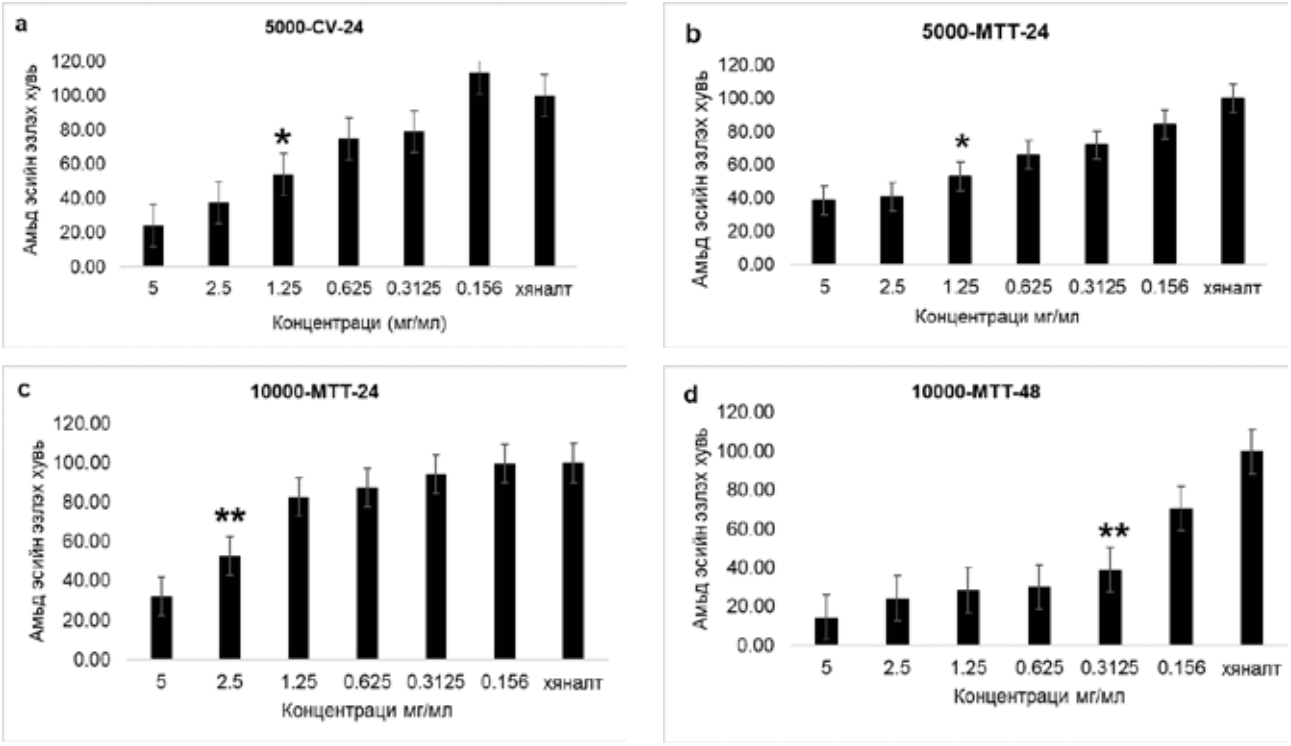
Зорилт: MC-38 хавдрын эсийг 5000эс/үүр байхаар тарьж, хандын эс хордуулах, эсийн ургалтад үзүүлэх нөлөө үнэлэх

1. Тус хавдрын эсийг 10000 эс/үүр байхаар тарьж, хандын эс хордуулах, эсийн ургалтад үзүүлэх нөлөөг үнэлэх
2. Хандын эсийн ургалтыг 50% дарангуйлах тунг (EC50) тодорхойлох

Арга, аргачлал: Харьцуулсан туршилт судалгааны загвараар in vitro орчинд хийж гүйцэтгэсэн. Уг ургамлын спиртэн хандыг 100мг/мл байхаар тооцоолж, DMSO-д уусган бэлтгэсэн бөгөөд эсийн тэжээлт орчноор 10мг/мл болтол шингэлж, 0,22мк/м шүүлтүүрээр шүүж, ариутган бэлтгэв. 96 үүрт өсгөврийн хавтанд MC-38 эсийн өсгөврийг 5000, 10000 эс/үүр байхаар тооцоолон, DMEM тэжээлт орчинд тарьж, ариутган бэлтгэсэн дээжийг 0, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0,156 мг/мл концетрацитайгаар тус тус нэмж 24, 48 цагийн турш үйлчилж, эсийн ургалтын 50%-ыг дарангуйлах тунг (EC50) үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу 630нм долгионы уртад гэрлийн шингээлтийг спектрофотометрээр хэмжиж, эмчилгээний хяналтын бүлгийг сөрөг хяналтын бүлэгтэй харьцуулан кристалл виолет болон MTT шинжилгээгээр тогтоолоо7. Туршилт тус бүрийг 3 удаа давталттай гүйцэтгэв. EC50-ийг онлайн тооцоолуураар бодсон. Корреляци, Регрессийн шинжилгээ, Стюдентын T тест, $p<0.05$ ач холбогдол бүхий ялгааг тооцоолов.

Бид энэхүү судалгааг хийхдээ АШУҮИС-ийн Судалгааны Ёс Зүйн Хяналтын Хорооноос зохих зөвшөөрөл (№20/3-05) авсны үндсэн дээр хийж гүйцэтгэсэн болно.

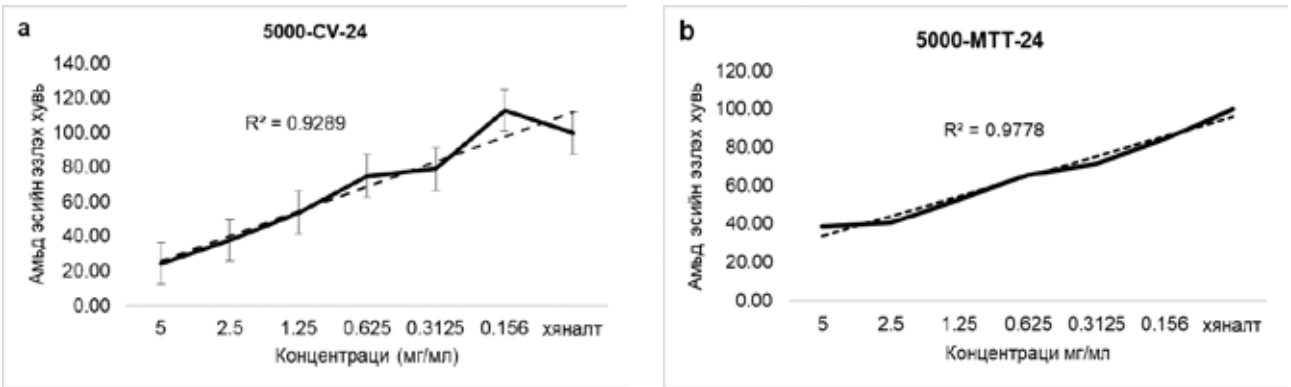
Үр дүн: MC-38 хавдрын эсийг 5000эс/үүр байхаар тарьж, хандын эсийн ургалтад үзүүлэх нөлөөг 2 аргаар үнэлсэн нь: MC-38 хавдрын эсэд 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0,156 мг/мл концетрацитай эмчилгээний тунг 24 цаг үйлчилж, амьд эсийн хувийг үзэхэд кристалл виолет шинжилгээгээр 24.38±0.00, 37.78±0.01, 53.93±0.02, 75.00±0.02, 78.99±0.06, 112.97±0.02 % , MTT шинжилгээгээр 38.41±0.00, 40.55±0.01, 52.90±0.01, 65.85±0.01, 71.65±0.03, 84.30±0.01 тус тус эс хордуулах (зураг 1), эсийн ургалтыг саатуулах (зураг 2) ач холбогдолтой байлаа.

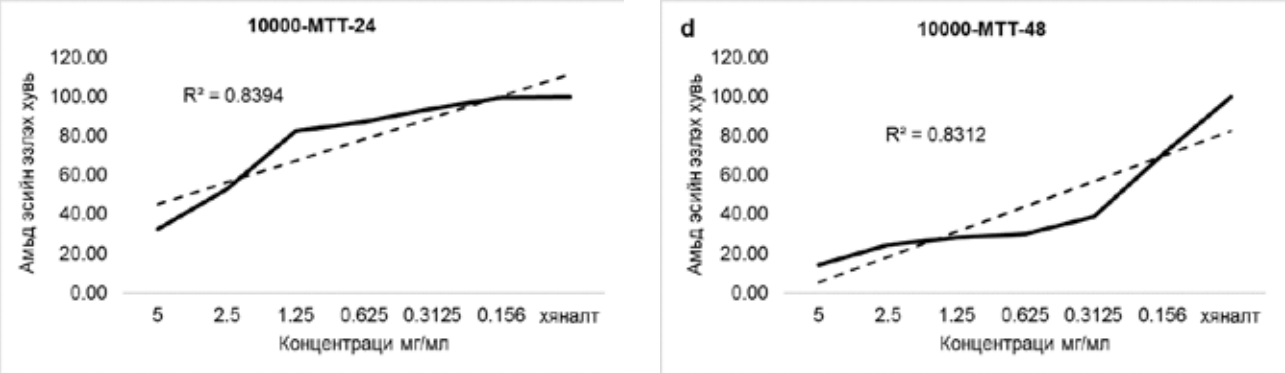


Зураг 1. Их шүүдэргэнийн хандын тунгаас хамааралтай хавдрын эс хордуулах нөлөө.

МС- 38 хавдрын эсийг 5000 эс/үүр байхаар тооцоолж, хавдрын эс хордуулах нөлөөг (a). кристалл виолет шинжилгээ, (b). МТТ шинжилгээгээр үнэлсэн, тус тус *p<0.05 бүхий ач холбогдолтой ялгаатай байна. Мөн хавдрын эсийг 10000 эс/үүр байхаар тооцоолж, хандаар (c). 24цаг, (d). 48 цаг үйлчилж, МТТ шинжилгээгээр үнэлэхэд, тус тус **p<0.01 бүхий ач холбогдолтой ялгаатай байна.

Тус хавдрын эсийг 10000 эс/үүр байхаар тарьж, хандын эсийн ургалтад үзүүлэх нөлөөг 24, 48 цаг тус тус үнэлсэн нь: МС-38 хавдрын эсэд 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0,156 мг/мл концетрацитай эмчилгээний тунг 24 цаг үйлчилж, амьд эсийн хувийг үзэхэд МТТ шинжилгээгээр 32.37 ± 0.01, 52.83 ± 0.04, 82.67 ± 0.06, 87.36 ± 0.02, 94.22 ± 0.03, 99.76 ± 0.01 тус тус, мөн уг эмчилгээний тунг 48 цаг үйлчилж, амьд эсийн хувийг үзэхэд МТТ шинжилгээгээр 14.47 ± 0.02, 24.27 ± 0.01, 28.45 ± 0.02, 30.05 ± 0.07, 39.08 ± 0.05, 70.63 ± 0.07 тус тус эс хордуулах (Зураг 1), эсийн ургалтыг саатуулах (Зураг 2) ач холбогдолтой байлаа.





Зураг 2. Их шүүдэргэнийн хандын тунгаас хамааралтай хавдрын эсийн ургалтын саатуулах нөлөө.

Хандын эсийн ургалтыг 50% дарангуйлах тунг (EC50) тодорхойлох: Их Шүүдэргэнийн хандыг тунгаас хамааруулан хавдрын эсийн өсгөвөрт нэмж, эсийн ургалтыг дарангуйлах (EC50) тунг тодорхойлоход: MC-38 хавдрын эсийг 5000 эс/үүр байхаар тооцоолж, хандыг 24 цаг үйлчилж, кристалл виолет болон MTT шинжилгээг хийж, хяналтын бүлэгтэй харьцуулан бодоход EC50 нь 0,700мг/мл, 0.727мг/мл тус тус байлаа. Мөн хавдрын эсийг 10000 эс/үүр байхаар тооцоолж, хандаар 24 цаг, 48 цаг үйлчилж, MTT шинжилгээг үнэлэхэд, хийж, хяналтын бүлэгтэй харьцуулан бодоход EC50 нь 1.792мг/мл, 0.398мг/мл тус тус байлаа (Хүснэгт 1).

Хүснэгт 1. Хавдрын эсийн амьдрах чадварт хандын концентрацийн нөлөө

Хандын концентраци (мг/мл)	5000-CV-24	5000-MTT-24	10000-MTT-24	10000-MTT-48
Хяналт	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00
0.156	112.97±0.02	84.30±0.01	99.76±0.01	70.63±0.07
0.3125	78.99±0.06	71.65±0.03	94.22±0.03	39.08±0.05
0.625	75.00±0.02	65.85±0.01	87.36±0.02	30.05±0.07
1.25	53.93±0.02	52.90±0.01	82.67±0.06	28.45±0.02
2.5	37.78±0.01	40.55±0.01	52.83±0.04	24.27±0.01
5.0	24.38±0.00	38.41±0.00	32.37±0.01	14.47±0.02
r2	0.9289*	0.9778*	0.8394**	0.8312**
P value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
IC50	0.700	0.727	1.792	0.398

*Тайлбар: *p<0.05, **p<0.01 ач холбогдол бүхий ялгаатай.*

Хэлцэмж: Гадаадын эрдэмтдийн судалгаанаас үзэхэд Их шүүдэргэнийн биологийн идэвхит бодис нь изохинолин алкалоидууд бөгөөд тэдгээр нь хавдрын эсэд дарангуйлах, эс хордуулах нөлөөг үзүүлдэг[3,4,7,8.] Их шүүдэргэнийн этанол ханданд хелидонин, берберин, полифенолууд болон стеролуудын агууламж их байгааг тогтоосон[9]. Хандын тун хэмжээ, эсийн төрөл болон хугацаанаас хамааруулан судалгааны ажил одоог хүртэл эрчимтэй хийгдсээр байна. 2016 онд хийгдсэн нэгэн судалгааны үр дүнгээс үзэхэд хавдрын эсийн төрлөөс шалгаалан EC50 янз бүр тодорхойлогдсон. Хандаар 48 цаг үйлчлэх нь илүү дарангуйлах нөлөө ажиглагдсан[3].

Дүгнэлт:

1. Ханд нь тунгаас хамаарч хавдрын эсийг дарангуйлах үйлдэлтэй байна. Хавдрын эсийн тоо, тунгаас хамаарч $p<0.05$, $p<0.01$ ач холбогдол бүхий ялгаатай.
2. Хандыг үйлчлэх хугацаанаас хамааруулан үзэхэд хавдрын ургалтыг саатуулах үйлдэлтэй байна. 24,48 цаг хандаар үйлчилж, эмчилгээний тунг хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад $p<0.001$ ач холбогдол бүхий ялгаатай байна.
3. Хандын EC50 утга нь 24 цагт 1.792 мг/мл, 48 цагт 0.398 мг/мл байгаа нь тогтоогдсон бөгөөд цаашид хавдрын эсийн апоптозын генийн нийлэгжилтэд хэрхэн нөлөөлж буй судлах шаардлагатай.

Ном зүй:

1. *Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660*
2. *Эрүүл мэндийн үзүүлэлт Эрүүл мэндийн хөгжлийн төв.; 2020. www.hdc.gov.mn*
3. *Deljanin M, Nikolic M, Baskic D, et al. Chelidonium majus crude extract inhibits migration and induces cell cycle arrest and apoptosis in tumor cell lines. J Ethnopharmacol. 2016;190:362-371. doi:10.1016/j.jep.2016.06.056*
4. *Biswas SJ. Chelidonium majus l.-a review on pharmacological activities and clinical effects. www.gjrmi.com*
5. *B. Fadhil Y, W. Alsammarraie K, Abdul Mohaimen N, Yasin Mohammed Z. In Vitro Cytotoxic Activity of Chelidonium majus extract using Different Types of Cell Lines. Int J Curr Microbiol Appl Sci. 2018;7(1):1767-1775. doi:10.20546/ijcmas.2018.701.214*
6. *Colombo ML, Bosisio E. Pharmacological activities of Chelidonium majus L. (Papaveraceae). Vol 33.; 1996.*
7. *Arora D, Sharma A. A review on phytochemical and pharmacological potential of genus Chelidonium. Pharmacognosy Journal. 2013;5(4):184-190. doi:10.1016/j.phcgj.2013.07.006*
8. *Maji AK, Banerji P. Chelidonium majus L. (Greater celandine)-A Review on its Phytochemical and Therapeutic Perspectives. ~ 10 ~ International Journal of Herbal Medicine. 2015;3(1).*
9. *Parvu M, Vlase L, Fodorpataki L, et al. Chemical Composition of Celandine (Chelidonium majus L.) Extract and its Effects on Botrytis tulipae (Lib.) Lind Fungus and the Tulip. Not Bot Horti Agrobo. 2013;41(2):414-426. www.notulaebotanicae.ro*

The effects of Chelidonium majus L. extract on the proliferation of MC-38 cancer cells

Batjargal Ch[1,3,4], Erdenezaya O[4,5], Lkhagvasuren D[2], Enkhsaikhan L[3]

[1]Graduate school, MNUMS

[2]Department of Biology, School of Arts and Science, NUM

[3]Department of Immunology, School of Bio Medicine, MNUMS

[4]Department of Anatomy, School of Bio Medicine, MNUMS

[5]Institute of Bio Medicine, MNUMS

E-mail: batjargal.ch@mnums.edu.mn, Tel: 95894751

Backround: In the last half century, doctors, experts and researchers have been conducting lots of research work on natural anti-cancer substances with lower side-effects and preventive medicines in order to reduce the negative effects of chemotherapy. According to the results of previous research works from 2016 to 2021: the following research has been started on the basis that the ethanol extract of the plant is characterized by a high content of biologically active substances.

Objective: The effects of the entire aerial part extract of the Chelidonium majus L. on the proliferation of MC-38 cancer cells.

Materials and methods: According to comparative experimental study model was performed an in vitro. MC-38 cancer cells were seeded in 96 well plates by 5000 and 10000 cells/well, inoculated in DMEM medium, plant samples were treated with concentrations of 0, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0.156 mg/ml for 24 and 48 hours, respectively. EC50 determines by crystal violet and MTT assay.

Results: In our study: 5000 MC-38 cancer cell was seeded, stabilized for 48 hours, treated the therapeutic doses for 24 hours, and the EC50 was 0.700mg/ml and 0.727mg/ml, respectively. Also, 10000 the cancer cell seeded and treated with therapeutic doses for 24 and 48 hours. The EC50 was 1.792mg/ml and 0.398mg/ml, respectively.

Conclusion: According to the above result, the two methods of analysis of cell viability had the same sensitivity. The growth of cancer cell and time-dependence is significant at the 0.05 and 0.01 level. Further, analysis of cancer cell gene expression at defined EC50 therapeutic doses is required.

Keywords: Cell line culture, Medicinal herb, Cell viability, EC50 value, Ethanol extract