Флаваноны хавдрын эсийн амьдрах чадварт үзүүлэх нөлөөг судалсан дүн

Ч.Жадамба[1], О.Эрдэнэзаяа[2], С.Идэржавхлан[1], М.Бүрнээ[1], А.Гүрбадам[1], Д.Тэмүүлэн[1], Г.Дарамбазар[1], О.Олдох[3], Д.Энхмаа[3], Н.Гиймаа[1]

[1]АШУҮИС, Био-АС, Биологийн тэнхим
[2]АШУҮИС, Био-АС, Анатомийн тэнхим
[3]АШУҮИС, Био-АС, Анагаахын химийн тэнхим
Цахим шуудан: jadamba@mnums.edu.mn, Утас: 85822999

Түлхүүр үг:
Флаванон
HepG2
A549
MC38
MTT

Товч утга:
Үндэслэл: Сүүлийн жилүүдэд байгалийн гаралтай зарим нэгдлүүд нь хавдраас урьдчилан сэргийлэх, хавдрын эхэн шатны эмчилгээнд ач холбогдол бүхий үр дүнтэй болохыг эрдэмтэд тогтоосон ба ургамал, хүнсний ногоо, үр, жимсний хальс, цэцэг зэрэгт агуулагдах полифенолт нэгдэл болох флаванонууд нь хавдрын эсрэг, хэт исэлдэлт, үрэвсэл болон бактерийн эсрэг био идэвхтэйг тодорхойлсон байна. Хавдар нь дэлхий дахинд эдийн засгийн болон нийгмийн эрүүл мэндийн тулгамдсан асуудал болоод байна. Дэлхийн статистик мэдээлэлд үзэхэд дөрвөн хүн тутмын нэг (22.8%) нь халдварт бус өвчний улмаас, зургаан хүн тутмын нэг (16.8%) нь хавдрын улмаас нас барж байгааг дурьдсан байна. **Зорилго:** Нарийн навчит цахилдгаас ялгасан флаваноны хавдрын эсийн амьдрах чадварт үзүүлэх нөлөөг судлах. **Арга, аргачлал:** Судалгааг АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын Хүрээлэнг түшиглэн, флаванон (5,2’,3’-тригидрокси-6,7 метилендиоксифлаванон)-ы хавдрын эсийн амьдрах чадварт үзүүлэх нөлөөг *in vitro* нөхцөлд, MTT шинжилгээний аргаар судлав. Судалгаанд бүдүүн шулуун гэдэсний хавдрын эс (MC38), элэгний хавдрын эс (HepG2), уушгины хавдрын эс (A549)-үүдийг сэргээн өсгөвөрлөж, тогтворжуулан туршилтыг хийж гүйцэтгэв. **Үр дүн:** Бид MC38, HepG2, A549 хавдрын эсүүдийг флаваноны ялгаатай концентраци (2.5 мкМ, 5 мкМ, 10 мкМ)-иар 24-48 цагийн турш үйлчлэн, эсийн амьдрах чадварыг үнэлэв. Флаванон нь A549 эсийн амьдрах чадварыг 2.5 мкМ-10%, 5 мкМ-25%, 10 мкМ-38%-иар тус тус дарангуйлж байв. Харин HepG2 эсэд флавононы 5-10 мкМ концентрациар үйлчлэхэд элэгний хавдрын эсийн амьдрах чадварыг 28-58%-иар бууруулж байна. Түүнчлэн MC38 эсийн өсгөвөрт тун хамааралтайгаар эсийн амьдрах чадварыг саатуулсан хэдий ч 30-200 мкМ өндөр концентрацид статистик ач холбогдол бүхий нөлөөтэй байв ($p<0.01$). **Дүгнэлт:** Нарийн навчит цахилдгаас ялгасан флаванон нь хавдрын эсийн амьдрах чадварыг тун болон хугацаа хамааралтайгаар дарангуйлж байна.

Үндэслэл: Флавоноидуудын гол эх үүсвэр нь жимс, хүнсний ногоо, какаоны бүтээгдэхүүнүүд, хар болон ногоон цай, улаан дарсанд их хэмжээгээр агуулагддаг.[1-3] Сүүлийн жилүүдэд дэлхийн хүн амын эмийн хэрэглээнд байгалийн гаралтай, гаж нөлөө багатай бүтээгдэхүүнийг хэрэглэхэд чиглэгдэж, эмийн зах зээлд ургамлын гаралтай эмийн эрэлт хэрэгцээ өдрөөс өдөрт нэмэгдсээр байгааг судлаачид онцолсон байна**.** ДЭМБ-ын мэдээлснээр дэлхийн хэмжээнд жилд халдварт бус өвчний улмаас 41 сая хүн нас барж буй нь нийт нас баралтын тохиолдлын 74%-ийг эзэлж байгаа бөгөөд хавдрын шалтгаант нас баралт 22.6%-д тохиолдож байна.[3] Монгол Улсын хүн амын дунд 2023 онд 7244 хорт хавдрын шинэ тохиолдол бүртгэгдсэн ба өвчлөлийн зонхилох байрлалын бүтцэд элэгний хорт хавдар 32.8%, ходоодны хорт хавдар 17.4%, уушгины хорт хавдар 6.5%, умайн хүзүүний хорт хавдар 5.9%, улаан хоолойн хавдар 4.9% эзэлж, нийт хорт хавдрын 67.5%-д дээрх хорт хавдрууд тохиолдож байна.[4] Харин нарийн навчит цахилдгаас цэврээр ялгасан флаванон

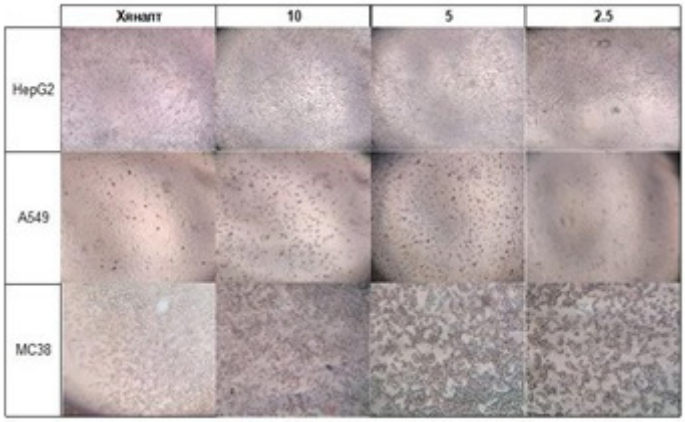
(5,2',3'-тригидрокси-6,7 метилендиоксифлаванон)-ы хавдрын эсрэг нөлөөг судалсан судалгааны ажил олдохгүй байгаа нь энэхүү судалгааны үндэслэл боллоо.

Зорилго: Нарийн навчит цахилдгаас ялгасан флаваноны хавдрын эсийн амьдрах чадварт үзүүлэх нөлөөг судлах

Арга, аргачлал: Бид АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны (2022/3-11 тоот) хурлаар судалгааг эхлүүлэх ёс зүйн зөвшөөрөл авсан. Туршилтыг АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэнг түшиглэн хийж гүйцэтгэв.

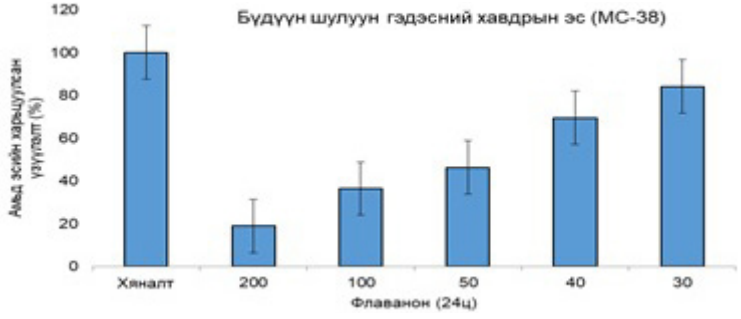
HepG2, MC-38, A549 хавдрын эсийг эсийн бүрэн тэжээлт орчинд 37°C хэмд 5%-ийн чийгшилтэй CO_2-ийн инкубаторт өсгөвөрлөж, инверт микроскопоор морфологи, дүүргэлтийг шалгаж, 80-90% ургасан тохиолдолд сэлгүүлсэн. Флаванон (5,2',3'-тригидрокси-6,7-метилендиоксифлаванон)-ыг DMSO-оор уусгаж, туршилтад хэрэглэх флаваноны эх бодисыг бэлтгэв. Эс хордуулах үйлдлийг тодорхойлох шинжилгээнд флаваноныг эх уусмалаас таслан авч, эсийн бүрэн тэжээлт орчноор шингэрүүлэг хийв. Флаваноны хавдрын эсийн амьдрах чадварыг дарангуйлах идэвхийг *in vitro* нөхцөлд МТТ шинжилгээний аргыг ашиглав. Туршилтыг багадаа 3 удаа давтаж, дунджаар үр дүнгийн статистик боловсруулалтыг хийсэн.

Үр дүн: Бид элэгний хавдрын HepG2, бүдүүн шулуун гэдэсний хавдрын MC-38, уушгины хавдрын A549 шугаман эсийг зориулалтын тэжээлт орчинд сэлгүүлж, эсийн өсгөврийг тогтворжуулан, флаваноны 2.5 мкМ, 5 мкМ, 10 мкМ концентрациар үйлчлэн эсийн дүүргэлтйиг микроскопоор шалган баиалгаажуулав (Зураг 1). Флаваноны 2.5-10 мкМ концентрацид элэгний болон уушгины хавдрын эсийн дүүргэлт дарангуйлагдаж байсан бол бүдүүн шулуун гэдэсний хавдрын эсийн өсгөвөрт нөлөөлөөгүй байлаа.



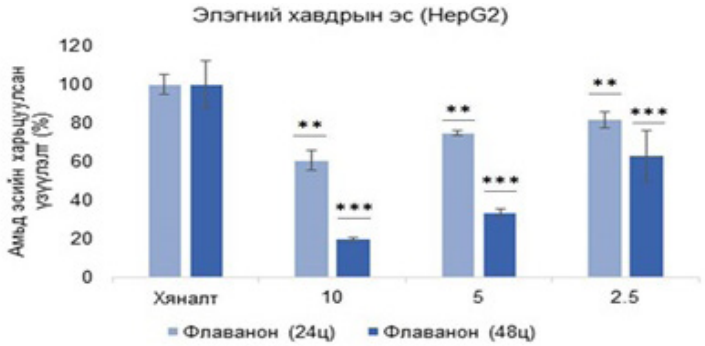
Зураг 1. Хавдрын эсүүдийн дүүргэлт дарангуйлагдсан байдал.
Тайлбар: Хяналт- флаваноноор үйлчлээгүй эсийн өсгөврийг харуулав. 2.5 мкМ, 5 мкМ, 10 мкМ концентраци бүхий флаваноноор хавдрын эсийг үйлчлэхэд эсийн дүүргэлтийг дарангуйлж байна (x400).

Хавдрын эсүүд (HepG2, A549, MC38)-ийн өсгөврийг флаваноны ялгаатай концентраци (1.25 мкМ, 2.5 мкМ, 5 мкМ, 10 мкМ)-иар 24 цагийн турш үйлчлэн, эсийн амьдрах чадварыг үнэлэхэд A549 эсийн амьдрах чадварыг 2.5мкМ-22%, 10мкМ-38%-иар тус тус дарангуйлж байв. Элэгний хавдрын HepG2 эсэд флавононы 2.5-10 мкМ тунгаар үйлчлэхэд эсийн амьдрах чадварыг 19-40%-иар бууруулж байна. Харин флаваноны 1.25-10 мкМ концентрациар үйлчилсэн MC38 эсийн амьдрах чадварт статистик ач холбогдол бүхий нөлөө ажиглагдаагүй тул өндөр концентрациар үйлчлэн үр дүнг Зураг 2-д үзүүлэв. Флаванон нь MC38 эсийн өсгөвөрт тун хамааралтайгаар эсийн амьдрах чадварыг саатуулсан хэдий ч 30-200 мкМ өндөр тунд статистик ач холбогдол бүхий нөлөөтэй байв ($p<0.01$). (Зураг 2)



Зураг 2. Бүдүүн шулуун гэдэсний хавдрын эсэд флаваноны тун хамааралт нөлөө.
Тайлбар: Нарийн навчит цахилдгаас ялгасан флаванон нь MC38 эсийн өсгөвөрт тун хамааралтайгаар эсийн амьдрах чадварыг бууруулж байгаа хэдий ч 30 мкМ буюу түүнээс өндөр тунгаар статистик ач холбогдол бүхий нөлөөтэй байв ($p<0.01$).

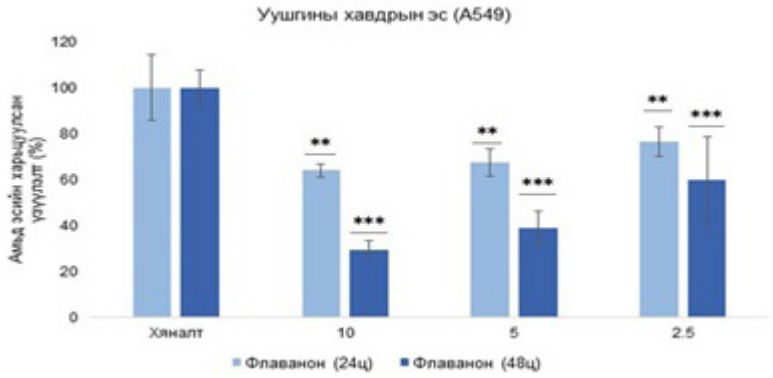
HepG2, A549 хавдрын эсийн өсгөврийг флаваноны 2.5-10 мкМ концентрациар 24-48 цагийн турш үйлчлэн, хугацаа хамааралтайгаар эс хордуулах нөлөөг судлахад HepG2 эсийн амьдрах чадварыг 19-80%-иар бууруулж байна ($p<0.001$). Флаваноны элэгний хавдрын эс хордуулах тун IC_{50}=5.69-14.7 байв (Зураг 3).



Зураг 3. Элэгний хавдрын эсэд флаваноны нөлөө.

Тайлбар: Хяналт- флаваноноор үйлчлээгүй. Элэгний хавдрын эсийг флаваноны 2.5-10 мкМ концентрациар 24-48 цагийн турш үйлчлэхэд статистик ач холбогдол бүхий хугацаа хамааралтайгаар эсийн амьдрах чадварыг дарангуйлж байна ($p<0.01$, $p<0.001$).

Флаванон нь A549 эсийн амьдрах чадварыг 2.5 мкМ концентрацид 23-40%, 5мкМ концентрацид 36-62%, 10 мкМ концентрацид 38-70%-иар тус тус хугацаа хамааралтайгаар дарангуйлж байв (Зураг 4). Флаваноны уушгины хавдрын эс хордуулах тун IC_{50}=3.65-12.76 байв.



Зураг 4. Уушгины хавдрын эсэд флаваноны нөлөө.

Тайлбар: Хяналт- флаваноноор үйлчлээгүй. Уушгины хавдрын эсийг флаваноны 2.5-10 мкМ концентрациар 24-48 цагийн турш үйлчлэхэд эсийн амьдрах чадварыг 23-70%-иар хугацаа хамааралтайгаар дарангуйлж байна ($p<0.05$, $p<0.001$).

Хэлцэмж: Энэхүү судалгаагаар нарийн навчит цахилдаг (*Iris Tenuifolia*)-аас цэврээр ялгасан флаваноны хавдрын эсрэг үйлдлийг судлахад элэг болон уушгины хавдрын эсүүдэд 2.5-20 μM концентрациар харин бүдүүн шулуун гэдэсний хавдрын эсэд 20–100 μM концентрациар амьдрах чадварыг тун болон хугацаа хамааралтайгаар статистик ач холбогдол бүхий саатуулж байгааг тогтоолоо ($p<0.01$, $p<0.001$). Yoonkyung Woo (2012) нарын судалгаагаар бүдүүн гэдэсний хавдрын (HCT-116) эсийг наринген, таксифолин зэрэг флаваноны 5, 10, 15, 20 μM концентрациар 24-48 цагийн турш үйлчлэхэд тун болон хугацаа хамааралтайгаар эсийн мөчлөгийн G1 шатыг саатуулж байгааг тодорхойлжээ.[5] Peter Kollar (2011) нарын судалгаагаар TOM B флаванон (*Paulownia tomentosa*-derived tomentodiplacone B)-ы 5-20 μM концентраци нь хугацаа хамааралтайгаар (цочмог моноцитийн лейкеми- THP-1) цусны хавдрын эсийн үржлийг 70%-иар бууруулж, 50 μM концентраци нь статистик өндөр ач холбогдол бүхий эсийн мөчлөгийн G1/S шатыг саатуулж байгаа нь бидний судалгааны үр дүнтэй дүйж байна[6].

Zeng W (2018) нарын судалгаагаар цитрусын төрлийн жимс (лимон, жүрж)-ээс ялгасан флаванон болох нарингенины 25, 50, 100 μM концентрацаар элэгний хавдрын HepG2 эсэд 24-48 цагийн турш үйлчлэхэд 100 μM концентрацид эсийн амьдрах чадварыг 50%-иар бууруулсан байна.[7] Pari L (2016) нарын судалгаагаар уушгины хавдрын A549 эсэд хесперетин флаваноны 10, 25, 50, 100 μM концентрациар 48 цагийн турш үйлчлэхэд 50-100 μM концентрацид апоптозыг идэвхжүүлэх замаар эсийн амьдрах чадварыг 60%-иар бууруулж байгааг тогтоожээ.[8] Харин бидний судалгаагаар флаваноны 2.5–20 μM концентрацид элэг болон уушгины хавдрын эсийн амьдрах чадварыг тун болон хугацаа хамааралтайгаар 60-80% бууруулж байв. Бидний судалгаагаар харьцангуй бага концентрациар хавдрын эсийн амьдрах чадварыг саатуулах нөлөөтэй байгаа нь нарийн навчит цахилдгаас цэврээр ялгасан флаванон бусад цитрус төрлийн жимс (лимон, жүрж, нэрс гэх мэт)-ээс гарган авсан флаваноноос хавдрын эсрэг идэвх өндөр байх боломжтойг харуулж байна.

Park H.J (2019) нарын судалгаараар цитрусын төрлөөс ялгасан флаванон болох хесперетин, нарингенины 20, 40, 80 μM концентрациар бүдүүн шулуун гэдэсний хавдрын HT-29 эсэд үйлчлэхэд 80 μM концентрацид эсийн амьдрах чадварыг 60%-иар тун хамааралтайгаар дарангуйлсан байна[9]. О.Олдох (2022) нарын судалгаагаар нарийн навчит цахилдгийн газрын доод хэсгээс химийн цэвэр төлөв байдлаар ялгасан бодисууд болон ургамлын хандны эсийн амьдрах чадварыг дарангуйлах идэвхийг уушгины хорт хавдрын A549 эсэд тун хамааралтай нөлөөлж байгаа нь бидний судалгааны үр дүнтэй дүйж байв[10]. С.Идэржавхлан (2024) нарын судалгаагаар нарийн навчит цахилдгаас цэврээр ялгасан изофлавоныг бүдүүн шулуун гэдэсний хавдрын MC38 эсэд үйлчлэхэд эсийн үржлийг тун болон хугацаа хамааралтайгаар дарангуйлж, флавоноидын 98.4 μM концентраци нь нийт хавдрын эсүүдийн 50%-ийг үхүүлж байсан нь бидний судалгааны үр дүнтэй нийцэж байна. Олон улсад флавноидуудыг хорт хавдрын эмчилгээнд өргөн хэрэглэж байгаа тул хамгаалах үйлдлийг нарийвчлан судлан шаардлагатай байна[11].

Дүгнэлт: Нарийн навчит цахилдгаас цэврээр ялгасан флаванон нь хавдрын эсийн амьдрах чадварыг тун болон хугацаа хамааралтайгаар дарангуйлж байна.

Талархал: Бидний судалгааг дэмжиж ажилласан Био-Анагаахын хүрээлэнгийн хамт олон, флаванон, хавдрын шугаман эс хандивласан судлаач, багш ХУ-ы доктор О.Олдох, АУ-ы доктор Ч.Гансүх, БУ–ы доктор, дэд профессор Д.Лхагвасүрэн, АУ-ы магистр Т.Балжинням болон хамтран ажилласан бүх хүмүүст талархал илэрхийлье.

Ном зүй:

1. *Xia Y, Sun M, Huang H, Jin WL. Drug repurposing for cancer therapy. Sig Transduct Target Ther. 2024;9(1):92. doi:10.1038/s41392-024-01808-1*
2. *Harahap, U.; Syahputra, R.A.; Ahmed, A.; Nasution, A.; Wisely, W.; Sirait, M.L.; Dalimunthe, A.; Zainalabidin, S.; Taslim, N.A.; Nurkolis, F.; et al. Current Insights and Future Perspectives of Flavonoids: A Promising Antihypertensive Approach. Phytother. Res. 2024, 38, 3146–3168.*
3. *Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. CA A Cancer J Clinicians. 2023;73(1):17-48.*
4. *Б.Батдаваа, Д.Баасан, З.Нямбаяр, Д.Баасан, М.Ану. Монгол улсын статистикийн эмхэтгэл 2022. Үндэсний статистикийн хороо.*
5. *Yoonkyung Woo, Soon Young Shin, Jiye Hyun, Sung Dae Lee, Young Han Lee and Yoonggho Lim. Flavanones inhibit the clonogenicity of cololectal cancer cells. International journal of molecular medicine (2012) 29: 403-408,*
6. *Peter Kollar, Tomas Barta, Veronika Zavalova, Karel Smejkal and Ales Hampl. Geranylated flavanone tomentodiplacone B inhibits proliferation of human monocytic leukaemia (THP-1) cells. British journal of Pharmacology, (2011) 162, 1534-1541.*
7. *Zeng, W., Jin, L., Zhang, F., Zhang, C., & Liang, W. (2018). Naringenin, a flavanone from citrus fruits, exhibits anti-cancer effects by inducing apoptosis and cell cycle arrest in HepG2 liver cancer cells. Journal of Nutritional Biochemistry, 56, 75–85. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.02.007*
8. *Pari, L., Karthikeyan, A., & Rathinam, A. (2016). Hesperetin inhibits proliferation and induces apoptosis in lung carcinoma cells. Biomedicine & Pharmacotherapy, 82, 72–78. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.05.006*
9. *Park, H. J., Jeong, Y. J., & Park, O. J. (2019). Anti-cancer effects of flavanones isolated from Citrus species against colon cancer cells through ROS-mediated apoptosis. Phytotherapy Research, 33(8), 2074–2083. https://doi.org/10.1002/ptr.6414*
10. *Oldokh O, Suvd N, Paetz C, et al. Chromane Derivatives from Underground Parts of Iris tenuifolia and Their In Vitro Antimicrobial, Cytotoxicity and Antiproliferative Evaluation. Molecules. 2021;26(21):6705*
11. *С.Идэржавхлан, Ч.Жадамба, Э.Сурмаажав, А.Гүрбадам, Д.Тэмүүлэн, О.Эрдэнэзаяа, Ч.Гансүх, Б.Урнаа, У.Сувд-Эрдэнэ, Б.Батдаваа, Д.Энхмаа, О.Олдох, Ц.Анужин, Н.Эрдэнэбаяр, Н.Гиймаа. "Нарийн навчит цахилдагт агуулагдах флавоноидын хавдрын эсрэг нөлөөг in vitro болон in vivo нөхцөлд судалсан дүн". "Эрүүл мэндийн шинжлэх ухаан сэтгүүл" эрдэм шинжилгээний өгүүлэл. Vol.20, №1, (77) 2024 он, хуудас: 76.*

Effects of flavanone on cancer cells viability

Jadamba Ch[1], Erdenezaya O[2], Iderjavkhlan S[1], Burnee M[1], Gurbadam A[1], Temuulen D[1], Darambazar G[1], Oldokh O[3], Enkhmaa D[3], Giimaa N[1]

[1]MNUMS, School of BioMedicine, Department of Biology
[2]MNUMS, School of BioMedicine, Department of Anatomy
[3]MNUMS, School of BioMedicine, Department of Chemistry
E-mail: jadamba@mnums.edu.mn, Tel: +976-96118586

Background: In recent years, scientists have found that certain natural compounds have significant potential in cancer prevention and early-stage cancer treatment. Flavanones, a class of polyphenolic compounds found in plants, vegetables, seeds, fruit peels, and flowers, have been identified to possess anticancer, antioxidant, anti- inflammatory, and antibacterial bioactivities. Cancer has become a major global challenge in terms of both economic and public health concerns. Global statistics indicate that 22.8% of deaths are attributed to non-communicable diseases, and 16.8% are caused by cancer, accounting for one in four and one in six deaths, respectively.
Aim: To investigate anticancer effects of *Iris Tenuifolia*-derived flavanone on cancer cell lines.
Materials and Methods: The study was conducted at the Bio-Medical Research Institute of the Mongolian National University of Medical Sciences, investigating the effect of flavanones on cancer cell viability under in vitro conditions using the MTT assay. In the study, colon, liver, and lung cancer cells were cultured, stabilized, and used for the experiments. Colorectal cancer cells (MC38), liver cancer cells (HepG2), and lung cancer cells (A549) were revived, cultured, and stabilized for use in the experimental procedures. Statistical analysis of the results was performed using Microsoft Excel 2010, and graphs were generated using GraphPad Prism 8. Differences between groups were analyzed using Student's t-test, and a p-value of <0.05 was considered statistically significant.
Results: We treated MC38, HepG2, and A549 cancer cells with different concentrations of flavanone (2.5 μM, 5 μM, and 10 μM) for 24 to 48 hours to evaluate cell viability. Flavanone inhibited A549 cell viability by 2.5 μM-10%, 5 μM-25%, and 10 μM-38%, respectively. For HepG2 cells, flavanone treatment at concentrations of 5-10 μM reduced cell viability by 28–58%. No statistically significant effect on the viability of MC38 cells was observed following treatment with flavanone at concentrations ranging from 2.5 to 10 μM. Additionally, although MC38 inhibited cell viability in a dose-dependent manner in cell cultures, it had a statistically significant effect at higher concentrations of 30-200 μM ($p<0.01$).
Conclusion: Flavanone inhibits the cancer cell viability in a dose and time dependent manner

Keywords: Flavanone, HepG2, A549, MC38, MTT