Нарийн навчит цахилдагт агуулагдах флавоноидын хавдрын эсрэг нөлөөг *in vitro* болон *in vivo* нөхцөлд судалсан дүн

С.Идэржавхлан[1], Ч.Жадамба[1], Э.Сурмаажав[1], А.Гүрбадам[1], Д.Тэмүүлэн[1], О.Эрдэнэзаяа[2,6], Ч.Гансүх[3], Б.Урнаа[4], У.Сувд-Эрдэнэ[4], Б.Батдаваа[4], Д.Энхмаа[5], Н.Сувд[8], О.Олдох[5], Ц.Анужин[6], Н.Эрдэнэбаяр[7], Н.Гиймаа[1]

[1]АШУҮИС, Био-АС, Биологийн тэнхим
[2]АШУҮИС, Био-АС, Анатомийн тэнхим
[3]АШУҮИС, Био-АС, Дархлаа судлалын тэнхим
[4]Шүүх Шинжилгээний Ерөнхий Газар
[5]АШУҮИС, Био-АС, Анагаахын химийн тэнхим
[6]АШУҮИС, Био-Анагаахын Хүрээлэн
[7]Цус Сэлбэлт Судлалын Үндэсний Төв
[8]АШУҮИС, Эм Зүйн Сургууль, Эмийн хими, Ургамал судлалын тэнхим
Цахим шуудан: Fbm22e304@gt.mnums.edu.mn, Утас:86069448

Түлхүүр үг:

Хавдрын эсрэг нөлөө
Гистопатологи
Хавдрын загвар
MC-38

Товч утга:

Үндэслэл: Сүүлийн жилүүдэд дэлхийн хэмжээнд хорт хавдар өвчний тохиолдлын тоо эрчимтэй нэмэгдэж байгаа бөгөөд нийт тохиолдлуудын 60 орчим хувь нь бага болон дунд орлоготой улсуудад тохиолдож байна. Монгол улс хорт хавдрын өвчлөлийн түвшин, нас баралтаараа дэлхийд 1 дүгээрт жагсаж байна. Монгол улсын Үндэсний Статистикийн Хороо, Эрүүл Мэндийн Хөгжлийн Төвийн “Хавдрын өвчлөлийн сүүлийн 10 жилийн баримт судалгаа”-нд (2020.12.08) мэдээлж буйгаар Монгол Улсад нийт хорт хавдрын шинэ өвчлөлийн түвшин 2041-2045 онд дунджаар 29.2 хувиар өсөх төлөвтэй байгааг дурдсан байна. Хорт хавдрын өвчлөл өндөр тохиолдож буй улсууд нь хорт хавдрын зардалд эрүүл мэндийн салбарын төсвийнхөө 5 хүртэлх хувийг зарцуулдаг гэсэн тооцоо байдаг. Иймээс Дорнын анагаах ухаанд үрэвсэлт өвчин, хавдар зэрэг эмгэгүүдийг эмчлэхэд өргөнөөр хэрэглэгддэг Нарийн навчит цахилдаг (*Iris Tenuifolia*) ургамлаас цэврээр ялгасан флавоноидыг (5’7-дигидрокси-6’2-диметоксиизофлавон) судалгааны ажилдаа сонгон авч хавдрын эсрэг нөлөөг судлах нь бидний судалгааны ажлын үндэслэл боллоо. **Зорилго:** Нарийн навчит цахилдагт агуулагдах флавоноидын хавдрын эсрэг нөлөөг *in vitro* болон *in vivo* нөхцөлд судлах. **Арга, аргачлал:** Хулганы бүдүүн шулуун гэдэсний хорт хавдрын эс (MC-38)-ийг эсийн бүрэн тэжээлт орчин Dulbecco›s Modified Eagle Medium (DMEM)-д CO_2-ийн 5% чийгшилтэй, 37°C хэмд өсгөвөрлөсөн. Флавоноидын хавдрын эс хордуулах, эсийн ургалтыг саатуулах үйлдлийг судлахдаа MTT шинжилгээний аргыг ашигласан. C57BL/6 үүлдэрийн 17-20 гр жинтэй, 15 эм хулганад хэвлийн баруун талын арьсанд $1x10^6$ тунгаар MC38 эсийг тарьж хавдрын эмгэг загвар үүсгэн, хяналтын бүлэг (хавдартай эмчилгээгүй), эмчилгээний I бүлэг (хэвлийн хөндийн эмчилгээ тарьсан), эмчилгээний II бүлэг (арьсанд эмчилгээ тарьсан) болгон хуваасан. Флавоноидыг 20мг/кг тунгаар эмчилгээний бүлэгт, Phosphate Buffer Saline (PBS)-ээр хяналтын бүлэгт 10 хоног үйлчилсэн. Туршилтын төгсгөлд сүүлийн тунг үйлчилсэнээс хойш 24 цагийн дараа хулгануудыг зохих журмын дагуу егүүтгэж, хавдрын эд, элэг, бөөр, дэлүүг тусгаарлан авч 10%-ийн саармагжуулсан параформальдегидийн уусмалд бэхжүүлэн, гистологийн шинжилгээнд бэлдсэн. Гистологийн бэлдмэлийг гематоксилин-эозин будгаар будсан ба микроскопт (Biobase) харж эмгэг өөрчлөлтүүдийг үнэлсэн. **Үр дүн:** Нарийн навчит цахилдгаас цэврээр ялгасан флавоноидын (5’7-дигидрокси-6’2-диметоксиизофлавон) 2.5 μM концентрацид хавдрын эсийн 2.5%, 5 μM - 7%, 10 μM -13.4%, 20 μM -14.1%, 40 μM - 15.9%, 60 μM - 29.5%, 80 μM - 33.7%, 100 μM -56.8% тус тус үхүүлж байв. Нийт 3 бүлгийн хулганыг зохих журмын дагуу егүүтгэн эд, эрхтнийг гистологийн шинжилгээгээр харьцуулан шинжлэхэд хяналтын болон эмчилгээний I, II бүлгийн хавдрын эдэд тархмал үхжил, судасжилт, задарсан нейтрофиль эсүүд ижил илэрсэн. Нийт 3 бүлгийн хулганад бөөр дэлүүний эдэд эмгэг өөрчлөлт, хавдрын үсэрхийлэл илрээгүй. **Дүгнэлт:** Нарийн навчит цахилдаг (*Iris Tenuifolia*)-аас цэврээр ялгасан флавоноидын 98.4 μM концентраци нь нийт хавдрын эсүүдийн 50%-ийг үхүүлж байсан ба Туршилтын амьтанд үүсгэсэн хавдрын эмгэг загварт хийсэн эмчилгээгээр хавдрын эсрэг нөлөө ажиглагдаагүй боловч элэгний эдэд үрэвслийн эсрэг нөлөөтэй байв.

Үндэслэл: Манай оронд ургаж байгаа ургамлууд цаг уурын эрс тэс уур амьсгалын нөхцөлтэй холбоотойгоор хоёрдогч метаболит нь (алкалоид, танин, глюкозид, сапонин, флавоноид г.м) биологийн өндөр идэвхтэй тул дийлэнх нь эмийн чанартай гэж судлаачид үздэг. Флавоноид агуулсан эмийн бэлдмэл нь зөөлөн үйлчилгээтэйгээс гадна, бие махбодод хуримтлагддаггүй, хурдан гадагшилдаг ба эмчилгээний практикт одоог хүртэл өргөн хэрэглэсээр байгааг цөөнгүй бүтээлд дурдсан байна. Иймээс Дорнын анагаах ухаанд бактерийн шалтгаант үрэвсэлт өвчин, хавдар зэрэг эмгэгүүдийг эмчлэхэд өргөнөөр хэрэглэгддэг, найрлагадаа флавоноидын агууламж ихтэй Нарийн навчит цахилдаг (*Iris Tenuifolia*) ургамлыг судалгааны ажилдаа сонгон авч, туршилтын хулганад шугаман эсийг ашиглан хавдрын эмгэг загвар үүсгэж, хавдрын эсрэг нөлөөг судлах нь бидний судалгааны ажлын үндэслэл боллоо.

Зорилго: Нарийн навчит цахилдагт агуулагдах флавоноидын хавдрын эсрэг нөлөөг *in vitro* болон *in vivo* нөхцөлд судлах

Зорилт:

1. Нарийн навчит цахилдгаас цэврээр ялгасан флавоноидын (5’7-дигидрокси-6’2-диметоксиизофлавон) эс хордуулах нөлөөг судлах
2. Туршилтын амьтанд хавдрын МС-38 эсийн өсгөвөр ашиглан эмгэг загвар үүсгэн нарийн навчит цахилдгийн хавдрын эсрэг идэвхийг тодорхойлох

Арга, аргачлал: АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын Сургуулийн Биологийн тэнхимийн 2022 оны 12 дугаар сарын 13-ны өдрийн хурлаар хэлэлцүүлж, батлагдсан арга аргачлалаар АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны 2022 оны 12 дугаар сарын 16-ны өдрийн 2022/3-11 хурлаар ёс зүйн зөвшөөрөл авсны үндсэн дээр “Туршилт судалгаа”-ны загварыг ашиглан судалгааны ажлыг гүйцэтгэсэн. Туршилтыг хамгийн багадаа 3 давтаж, статистик боловсруулалт хийхдээ стандарт хазайлт, *t*-тест болон *p* бодож үнэлэв.

МС-38 шугаман эсийг өсгөвөрлөсөн арга зүй: Хулганы бүдүүн шулуун гэдэсний хорт хавдрын эс (МС-38)-ийг 10%-ийн тугалын хээлийн ийлдэс (FBS), 0.5%-ийн антибиотик, мөөгөнцрийн эсрэг эмийн холимог (Amphotericin B, Penicillin G, Streptomycin) бүхий эсийн орчин Dulbecco›s Modified Eagle Medium (DMEM)-д 5% CO_2-ийн чийгшилтэй, 37°C хэмд өсгөвөрлөсөн.

Эс хордуулах үйлдлийг тодорхойлсон арга зүй: Эмчилгээний бодис болох флавоноидын (5’7-дигидрокси-6’2-диметоксиизофлавон) хавдрын эсрэг буюу хавдрын эс хордуулах, эсийн ургалтыг саатуулах үйлдлийг *in vitro* нөхцөлд судлахдаа МТТ шинжилгээний аргыг ашигласан.

Хавдрын загвар үүсгэсэн арга зүй: C57BL/6 үүлдэрийн 17-20 гр жинтэй, 15 эм хулганад хэвлийн баруун талын арьсанд $1x10^6$ тунгаар МС38 эсийг тарьж хавдрын эмгэг загвар үүсгэв. Туршилтын хулгануудыг хяналтын бүлэг (хавдартай эмчилгээгүй), эмчилгээний I бүлэг (хэвлийн хөндийн эмчилгээ тарьсан), эмчилгээний II бүлэг (арьсанд эмчилгээ тарьсан) болгон хуваасан.

Туршилтын амьтанд эмчилгээний бодисоор үйлчилсэн арга зүй: Хавдар ургаж эхэлсний дараагаар эмчилгээний бодис болох флавоноидыг 20мг/кг тунгаар эмчилгээний бүлэгт, Phosphate Buffer Saline (PBS)-ээр хяналтын бүлэгт 10 хоног үйлчилсэн. Өдөр бүр арьс, үс, хөдөлгөөн, таталт бүхий хордлогуудын шинж тэмдэг илэрч байгаа эсэхийг ажигласан. Туршилтын төгсгөлд сүүлийн тунг үйлчилсэнээс хойш 24 цагийн дараа хулгануудыг зохих журмын дагуу егүүтгэсэн.

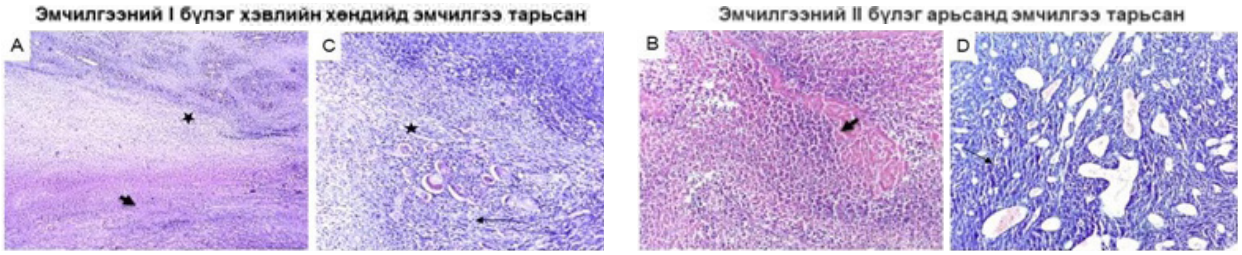
Гистологийн шинжилгээ хийсэн арга зүй: Хавдрын эд, элэг, бөөр, дэлүүг тусгаарлан авч 10%-ийн саармагжуулсан параформальдегидийн уусмалд бэхжүүлсэн. Гистологийн шинжилгээнд бэлдэхдээ: Угаах, бэхжүүлэх, усгүйжүүлэх (спиртэн дамжлага), тосгүйжүүлэх, тосон цутгалга буюу парафин бэлтгэх, бичил зүсмэг бэлтгэх, бичил бэлдмэлийг будах, тунгалагжуулах гэсэн тусгай дамжлагуудыг шат дараалан гүйцэтгэв. Гистологийн бэлдмэлийг гематоксилин-эозин будгаар будсан ба микроскопт (Biobase) харж эмгэг өөрчлөлтүүдийг үнэлсэн.

Үр дүн: Бид нарийн навчит цахилдагт агуулагдах флавоноидын хавдрын эсрэг нөлөөг *in vitro* болон *in vivo* нөхцөлд судлах зорилгын хүрээнд эхлээд хулганы бүдүүн шулуун гэдэсний хорт хавдрын эс (МС-38)-ийг зориулалтын тэжээлт орчинд өсгөвөрлөн тогтворжуулсаны дараа нарийн навчит цахилдагаас (*Iris Tenuifolia*) ялгасан флавоноидоор үйлчлэн эс хордуулах тунг (inhibitory concentration) тодорхойлоход флавоноидын 2.5 μM концентрацид хавдрын эсийн 2.5%, 5 μM - 7%, 10 μM -13.4%, 20 μM -14.1%, 40 μM - 15.9%, 60 μM - 29.5%, 80 μM - 33.7%, 100 μM -56.8% тус тус үхүүлж байв. (Хүснэгт 1).

Хүснэгт 1. Эс хордуулах тунг тодорхойлсон дүн

Эмийн бодис	Концентраци (μм)	Дарангуйлах идэвх (%)	Эсийн тоо (нүд болгонд)	Ic50 (μм)
5’7-дигидрокси-6’2-диметоксиизофлавон	0	0	10000	0
	2.5	2.5	10000	98.4
	5	7.7	10000	
	10	13.4	10000	
	20	14.1	10000	
	40	15.9	10000	
	60	29.5	10000	
	80	33.7	10000	
	100	56.8	10000	

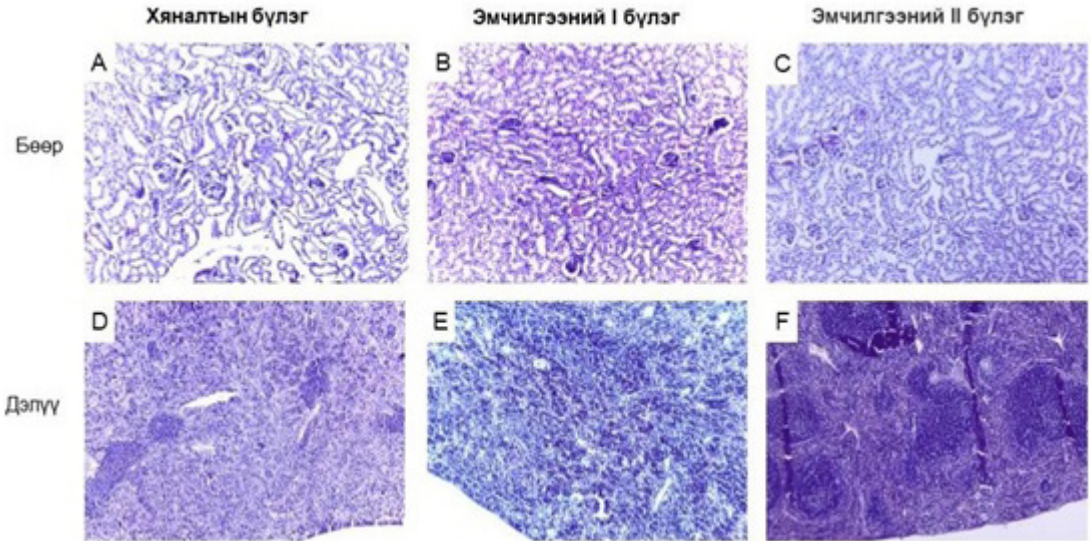
Хулганы бүдүүн шулуун гэдэсний хорт хавдрын эс (MC-38)-ийг ашиглан хавдрын эмгэг загвар үүсгэсэн нийт 3 бүлгийн хулганыг зохих журмын дагуу егүүтгэн эд, эрхтнийг гистологийн шинжилгээгээр харьцуулан шинжлэхэд хяналтын болон эмчилгээний I, II бүлгийн хавдрын эдэд тархмал үхжил, судасжилт, задарсан нейтрофиль эсүүд ижил хэмжээгээр илэрсэн (Зураг 1).



Зураг 1. Туршилтын хулганы хавдрын эдэд илэрсэн эмгэг өөрчлөлт

A,C Хавдрын эдэд тархмал үхжил,судасжилт, задарсан нейтрофил эсүүдийн нэвчдэс илэрсэн байдал.
B,D Хавдрын эдэд тархмал үхжил,судасжилт, задарсан нейтрофил эсүүдийн нэвчдэс илэрсэн байдал.
Хар сумаар үхжил, нарийн хар сумаар судасжилт, Одоор үрэвслийн эсийн нэвчдэсийг тэмдэглэв.
Будаг: гематоксилин эозин, өсгөлт: 4x,10x

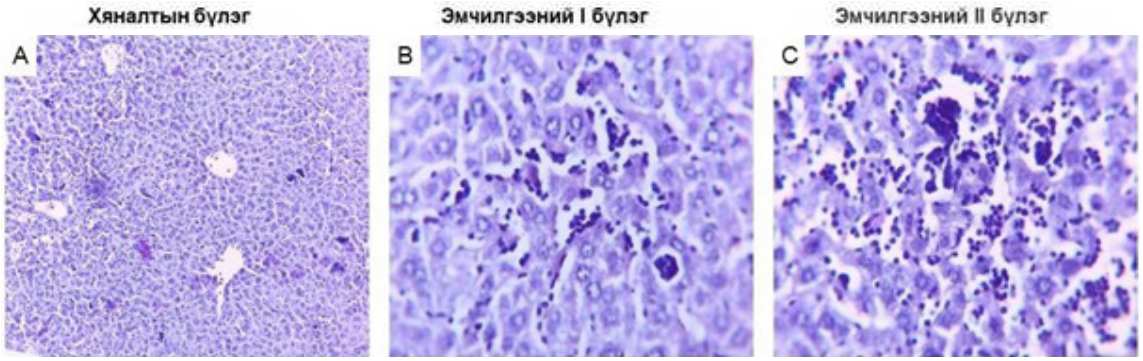
Туршилтын хулганы бөөр, дэлүүний эдэд эмгэг өөрчлөлт болон хавдрын үсэрхийлэл илрээгүй (Зураг 2).



Зураг 2. Туршилтын хулганы бөөр, дэлүүний эдэд илэрсэн эмгэг өөрчлөлт

A,B,C Нийт 3 бүлгийн хулганы бөөрний эдэд эмгэг өөрчлөлт болон хавдрын үсэрхийлэл илрээгүй.
D,E,F Дэлүүний эдэд эмгэг өөрчлөлт болон хавдрын үсэрхийлэл илрээгүй.
Будаг: гематоксилин эозин, өсгөлт: 4x, 40x

Хяналтын бүлгийг эмчилгээний I, II бүлэгтэй харьцуулахад элэгний эдэд төвийн вен, үүдэн гурвал тойрсон болон синусоидод тархмал олон тооны үрэвслийн эсийн нэвчдэс, задарсан нейтрофиль эсүүд олон байв. Эмчилгээний I, II бүлгийг харьцуулахад элэгний эдэд голомтот үрэвслийн эсийн нэвчдэс илэрсэн ба хавдрын үсэрхийлэл илрээгүй (Зураг 3).



Зураг 3. Туршилтын хулганы элэгний эдэд илэрсэн эмгэг өөрчлөлт

A элэгний эдэд төвийн вен, үүдэн гурвал тойрсон болон синусоидод тархмал олон тооны үрэвслийн эсийн нэвчдэс, задарсан нейтрофиль эсүүд илэрсэн байдал.
B,C Элэгний эдэд голомтлог үрэвслийн эсийн нэвчдэс илэрсэн ба хавдрын үсэрхийлэл илрээгүй.
Будаг: гематоксилин эозин, өсгөлт: 4x,10x,40x

Хэлцэмж: Энэхүү судалгаагаар нарийн навчит цахилдаг (*Iris Tenuifolia*)-аас цэврээр ялгасан флавоноидын эс хордуулах болон хавдрын эсрэг нөлөөг *in vitro, in vivo* нөхцөлд туршиж үзэхэд флавоноидын 98.4 μM концентраци нь нийт хавдрын эсүүдийн 50%-ийг үхүүлж байсан ба туршилтын амьтанд үүсгэсэн хавдрын эмгэг загварт хийсэн эмчилгээгээр хавдрын эсрэг нөлөө ажиглагдаагүй боловч элэгний эдэд үрэвслийн эсрэг нөлөөтэй байв.

О.Олдох (2022) нарын судалгаагаар нарийн навчит цахилдаг ургамлын газрын доод хэсгээс химийн цэвэр төлөв байдлаар ялгасан бодисууд (1-12) болон ургамлын хандны хавдрын эсийн өсөлтийг дарангуйлах идэвхийг хүний хүйн венийн эндотел HUVEC, миелоидын архаг лейкеми K-562, цочмог моноцитийн лейкеми THP-1, уушигны хорт хавдрын A549 эсүүд дээр, эс хордуулах идэвхийг хүний умайн хүзүүний хорт хавдрын HeLa эс дээр *in vitro* нөхцөлд тус тус судлахад хүний хавдрын эсийн бүх шугамын эсрэг 50 мкг/мл-ээс бага концентрацид идэвх үзүүлээгүй (GI50 ба CC50 > 50 мкг/мл) байна. Түүнчлэн флаванон бүтэцтэй бодисууд туршилт судалгаанд авсан бүх хавдрын шугаман эсийн эсрэг идэвхтэй байгаа нь бидний судалгаатай дүйж байв.[1]

Yuyin Fu (2021), Б.Өлзийсайхан (2022) нарын судалгаагаар туршилтын нийт 6 хулганы хэвлийн баруун талын арьсанд $1*10^6$ эс тунгаар 100 мкл хэмжээтэй хавдрын эсийг тарихад 21 өдрийн хавдрын эзлэхүүн 1600±350 мм^3 байсан нь бидний үүсгэсэн хавдрын загвартай ойролцоо үр дүнтэй байв.[2,3] Түүнчлэн Hunter JE (2014) нарын судалгаагаар туршилтын хулганад 3 долоо хоногийн турш биеийн жинг хэмжихэд нэмэгдэх хандлагатай байсан нь өдрөөс өдөрт хавдрын ургалт томорч байгаа бидний үр дүнтэй дүйж байв.[4]

Бидний судалгаагаар туршилтын амьтанд үүсгэсэн хавдрын эмгэг загварт хийсэн эмчилгээгээр хавдрын эсрэг нөлөө ажиглагдаагүй боловч элэгний эдэд үрэвслийн эсрэг нөлөөтэй байгаа нь ажиглагдсан. Mori A (1998) нарын судлаачид ургамлаас ялгасан 29 флавоноидын хүний умайн хүзүүний хорт хавдрын HeLa эсийг хордуулах 107 идэвхийг судалж тогтоосон бөгөөд флавоноид эс хордуулах тун 82-108.2 μM байгаа нь бидний туршилтаар тогтоосон эс хордуулах 98.4 μM тунтай дүйж байв.[5]

Choudhary M.I (2008) нарын судлаачид *I. tenuifolia* ургамлаас ялгасан бодисуудын антиоксидант идэвхийг DPPH чөлөөт радикалыг зайлуулах аргаар судлахад зөвхөн флавоноид антиоксидант идэвх үзүүлсэн бол бидний судалгаанд элэгний эдэд үрэвслийн эсрэг нөлөөтэй байв.

Хэвлэлийн тоймоос үзэхэд олон төрлийн флавоноидын хавдрын эсрэг нөлөөг төрөл бүрийн хавдрын шугаман эсүүд дээр болон туршилтын хулганад хавдрын загвар үүсгэн туршсан байна. Эдгээр судалгааны үр дүнгээс үзвэл ихэнх флавоноид нь хавдрын үсэрхийллийг дарангуйлдаг хэмээжээ. Түүнчлэн хавдрын шугаман эсийн өсгөвөрт хавдрын эсийн ургалт болон нүүн шилжих идэвхийг дарангуйлдаг, антиоксидант үйлдэлтэй байгаа нь бидний судалгаанд ашигласан нарийн навчит цахилдгаас ялган авсан флавоноидын эс хордуулах нөлөө, үрэвслийн эсрэг үйлдэлтэй[7-11] дүйж байгаа хэдий ч туршилтын амьтанд хийсэн флавоноидын эмчилгээгээр хавдрын эсрэг нөлөө ажиглагдаагүй боловч элэгний эдэд үрэвслийн эсрэг нөлөөтэй байсан үр дүнгээс бага зэрэг зөрүүтэй байв. Энэ нь бид in vivo туршилтад флавоноидоор эмчилгээ хийхдээ хамгийн бага тунгаар үйлчилсэнтэй холбоотой байж болох юм. Luciana G. Naso (2016) нарын судалгаагаар CT26 бүдүүн гэдэсний хавдрын эс, MDAMB231 хүний хөхний хорт хавдрын шугаман эс болон туршилтын хулганад үүсгэсэн элэгний хавдрын загварт лютеолин флавоноидоор үйлчлэхэд эсийн нүүн шилжилт, эс наалдах процессыг дарангуйлж, хулганы хөх болон элэг, бүдүүн гэдэсний хавдрын загварт үсэрхийллийг илэрхий бууруулж байжээ. Энэхүү үр дүн нь бидний судалгаанд ашигласан флавоноидын эмчилгээ нь тун хамааралтай нөлөөлж болох талтайг харуулж байна.

Дүгнэлт:

1. Нарийн навчит цахилдаг (*Iris Tenuifolia*)-аас цэврээр ялгасан флавоноидын 98.4 μM концентраци нь нийт хавдрын эсүүдийн 50%-ийг үхүүлж байна.
2. Туршилтын амьтанд үүсгэсэн хавдрын эмгэг загварт Нарийн навчит цахилдаг (*Iris Tenuifolia*)-аас цэврээр ялгасан флавоноидын эмчилгээгээр хавдрын эсрэг нөлөө ажиглагдаагүй боловч элэгний эдэд үрэвслийн эсрэг нөлөөтэй байв.

Талархал: Энэхүү судалгааг хийхэд туслалцаа үзүүлсэн АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын сургуулийн Биологи, Анатоми, Анагаахын хими, Дархлаа судлалын тэнхмийн эрдэмтэн багш нар, Био-Анагаахын хүрээлэнгийн судлаачид, ШШЕГ-ийн Шүүх анагаах ухааны шинжилгээний хэлтэс, гистологийн лабораторийн хамт олонд судалгааны багийн зүгээс гүн талархал илэрхийлье.

Ном зүй:

1. *Oldokh Otgon, Suvd Nadmid, Christian Paetz, Hans-Martin Dahse, Kerstin Voigt, Stefan Bartram, Wilhelm Boland and Enkhmaa Dagvadorj. Chromane Derivatives from Underground Parts of Iris tenuifolia and Their In Vitro Antimicrobial, Cytotoxicity and Antiproliferative Evaluation.Molecules 2021, 26, 6705.*
2. *Fu Y, Peng Y, Zhao S et al. Combination Foretinib and Anti-PD-1 Antibody Immunotherapy for Colorectal Carcinoma. Frontiers in cell and developmental biology. 2021; 9:689727.*
3. *Б.Өлзийсайхан нар. C57BL/6 хулганад MC 38 эс ашиглан хавдрын эмчилгээний туршилтын загвар үүсгэсэн нь. Эрүүл мэндийн шинжлэх ухаан сэтгүүл, vol18, №1, 65, 2022.*
4. *Hunter JE, Butterworth J, Perkins ND, Bateson M, Richardson CA. Using body temperature, food and water consumption as biomarkers of disease progression in mice with E-myc Lymphoma. British journal of cancer. 2014; 110(4): 928-934.*
5. *Mori, A.; Nishino, C.; Enoki, N.; Tawata, S. Cytotoxicity of plant flavonoids against HeLa cells. Phytochemistry 1998, 27, 1017–1020.*
6. *Choudhary, M.I.; Hareem, S.; Siddiqui, H.; Anjum, S.; Ali, S.; Atta-ur-Rahman; Zaidi, M.I. A benzil and isoflavone from Iris tenuifolia. Phytochemistry 2008, 69, 1880–1885.*
7. *Luciana G. Naso, Iker Badiola, Joana Marquez Clavijo, María Valcarcel, Clarisa Salado, Evelina G. Ferrer, Patricia A. M. Williams. Inhibition of the metastatic progression of breast and colorectal cancer in vitro and in vivo in murine model by the ox-*

idovanadium (IV) complex with luteolin. Bioorganic & Medicinal Chemistry 24 (2016) 6004–6011.

8. *Chen-Yi Liao, Ching-Chang Lee8 Chi-Chang Tsai, Chao-Wen Hsueh, Wu-Hsien Kuo. Novel Investigations of Flavonoids as Chemopreventive Agents for Hepatocellular Carcinoma. Biomed Res Int. 2015; 2015: 840542.*
9. *Carlo Patriarca, Roberto Maria Macchi, Anja K Marschner, Hakan Mellstedt. Epithelial cell adhesion molecule expression (CD326) in cancer: a short review. Cancer Treat Rev. 2012 Feb;38(1):68-75.*
10. *Elkacem, L. A.; Arns, S.; Brix, G.; Gremse, F.; Zopf, D.; Kiessling, F.; Lederle, W.*
Mol. Dual CTLA-4 and PD-L1 Blockade Inhibits Tumor Growth and Liver Metastasis in a Highly Aggressive Orthotopic Mouse Model of Colon Cancer. Cancer Ther. 2013, 12, 1322.
11. *Duanrui Liu, Xiaoli Ma,Dongjie Xiao,Yanfei Jia and Yunshan Wang. Efficacy and safety of targeting VEGFR drugs in treatment for advanced or metastatic gastric cancer: a systemic review and meta-analysis. Oncotarget. 2018 Jan 30; 9(8): 8120–8132.*

In vitro and *in vivo* Anti-tumoral effects of the flavonoid from *Iris Tenuifolia*

Iderjavkhlan S[1], Jadamba Ch[1], Surmaajav E[1], Temuulen D[1], Gurbadam A[1], Erdenezaya O[2,6], Gansukh Ch[3], Urnaa B[4], Suvd-Erdene U[4], Batdavaa B[4], Enkhmaa D[5], Suvd N[8], Oldokh O[5], Anujin Ts[6], Erdenebayar N[7], Giimaa N[1],

[1]Department of Biology, School of Bio-medicine, MNUMS
[2]Department of Anatomy, School of Bio-medicine, MNUMS
[3]Department of Immunology, School of Bio-medicine, MNUMS
[4]Department of Forensic Medicine, National Forensic Agency of Mongolia
[5]Department of Chemistry, School of Bio-medicine, MNUMS
[6]Institute of Biomedical Science, MNUMS
[7]National Center for Transfusion Medicine
[8]Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, MNUMS
E-mail: Fbm22e304@gt.mnums.edu.mn, Tel: +976-86069448

Background: In recent years, the incidence of cancer has been rapidly increasing in the developing countries of the world, also Colorectal cancer is the 3rd most common cancer worldwide. Mongolia is the highest cancer rated country which has ranked first by cancer related death in the world. Iris plants have also been used in treatment of cancer, inflammation, fungal, bacterial and viral infections a long time in the east.

Aim: This study aimed to study Anti-tumoral and cytotoxic effects of 5,7-Dihydroxy-6,2'-dimethoxyisoflavone exists in *Iris Tenuifolia* in tumor model *in vitro* and *in vivo*.

Materials and Methods: We used to MTT assay in cell culture to determine cytotoxic effect and inhibition of cell proliferation. *In vivo* Anti-tumor effects of flavonoid 5,7-Dihydroxy-6,2'-dimethoxyisoflavone was evaluated using a murine model for 6 week. To generate tumor model $1*10^6$ MC 38 tumor cells were injected subcutaneously at the right flank of syngeneic mice. We divided 15 mice to 3 groups which are treatment group 1 (Intraperitoneal injection), treatment group 2 (subcutaneus injection) and control group (no treatment). Both treatment group flavonoid dose was 20mg/ml. Tumor growth after injection of MC-38 mouse colon adenocarcinoma cell line was assessed by measuring a digital caliper. Also anti-tumoral effect was assessed by histopathology. Therefore we used hematoxylin and eosin staining.

Results: Different concentrations of Flavonoid exists in *Iris Tenuifolia* inhibited cell proliferation. MTT assay result had shown various cytotoxic concentration with death range such as 2.5 μM - 2.5%, 5 μM - 7%, 10 μM -13.4%, 20 μM -14.1%, 40 μM - 15.9%, 60 μM - 29.5%, 80 μM - 33.7%, 100 μM -56.8%. In addition, Tumor was successfully growth in mice after injection by MC 38 linear cell line. Histopathological results showed any disorder changes on spleen and kidney in all 3 groups.

Conclusion: 98.4 μM was cytotoxic concentration which has inhibited 50% of MC-38 colorectal cancer cell line. Treatment resulted anti-inflammatory effect on liver tissue however flavonoid had shown nonsignificant effects on tumor tissue by histopathology in mice model.

Keywords: Antitumoral effect, Histopathology, Tumor model, MC-38 cell line