

## ИХ ТАВАН САЛАА (*PLANTAGO MAJOR L.*) УРГАМЛЫН ХОРТ ХАВДРЫН ЭСРЭГ ИДЭВХИЙГ ТОДОРХОЙЛСОН ДҮН

N.V. Ау<sup>1,2</sup>, О. Дүүриймаа<sup>1</sup>, Х. Алтанцэцэг<sup>1</sup>, В. Энхчимэг<sup>1</sup>, Баатарцогт<sup>1\*</sup>

1-Биотехнологи, үржүүлгийн тэнхим, МААБС, ХААИС,  
2-Кантогийн их сургуулийн ХАА-н коллеж, БНВУ

\*Email: tsogoo21@gmail.com

### ХУРААНГУЙ

*Их таван салаа (Plantago major L.) нь Азийн ихэнх оронд элбэг тархан ургадаг эмийн ургамал бөгөөд уламжлалт анагаах ухаанд шарх, ханиад томуу, хорт хавдар болон үрэвслийг анагаах зориулалтаар хэрэглэгддэг. Энэхүү судалгаанд Plantago major (PME) -ийн этилийн спиртэн хандаар хархны арьсны хорт хавдрын В16F10 эсэд үйлчлүүлэн түүний хорт хавдрын эсийн ургалтыг дарангуйлах идэвхийг тодорхойлох болон үрэвслийн эсрэг үйлчилэлийг RAW264.7 хулганы макрофаг шугаман эсийг ашиглан in vitro нөхцөлд судлан тогтоох зорилго тавьсан болно. RAW264.7 хулганы макрофаг шугаман эсийг липополисахарид (LPS) -аар үйлчлүүлсэн болон үйлчлээгүй 2 хувилбарт PME- хандыг (0, 50, 100, 200, 400 мкг/мл) концентрацийн хувилбартайгаар тус тус эсэд үйлчлүүлж үрэвслийн эсрэг идэвхийг тодорхойлов. Мөн хорт хавдрын эсрэг идэвхийг тогтоохын тулд PME хандыг концентрацийн 4 хувилбартайгаар (0, 0.6, 1.2, 2.5, 5 мкг/мл) хархны арьсны хорт хавдрын В16F10 эсэд үйлчлүүлэн ССК-8 (cell counting kit) арга зүйн дагуу эсийн олиролтын тоог тодорхойлов. Үр дүнгээс үзэхэд PME этилийн спиртэн ханд нь үйлчлүүлсэн тунгаас хамааран липополисахаридаар (LPS) өдөөгдөн үрэвслийн сигнал үүссэн RAW264.7 хулганы макрофаг эсийн (Nitric Oxide) нийлэгжүүлэх идэвхийг бууруулж байсан ба эсэд хоруу чанар үзүүлээгүй бөгөөд үрэвслийн эсрэг идэвхитэй болохыг тогтоов. Харин хархны арьсны хорт хавдрын В16F10 эсийн олиролтыг дарангуйлж, хорт хавдрын эсийн ургалтыг дарангуйлах үйлчилгээг үзүүлж байгааг тогтоов.*

**ТҮЛХҮҮР ҮГ:** *Plantago major L*, этилийн спиртэн ханд, хорт хавдрын эсрэг идэвхи, В16F10 хархны арьсны хорт хавдрын эс, RAW264.7 хулганы макрофаг эс, *in vitro* туршилт

### Товчилсон үгийн жагсаалт

LPS:-Липополисахарид; PME:-*Plantago major* этилийн спиртэн ханд; DMSO:-Диметилсульфооксид; ССК-8: Эс тоолох цомог

### ОРШИЛ

Орчин үеийн анагаахын шинжлэх ухааны салбарт тулгарч буй шийдвэрлэх асуудлын нэг нь эмчилгээний явцад гаж нөлөө бага үзүүлдэг, үр дүн өндөртэй, хэрэглэхэд тохиромжтой эмийн бэлдмэл нээн илрүүлэх явдал юм. Уламжлалт

анагаах ухаанд эмийн ургамал болох Их таван салаа (*Plantago major L.*)—г эрт дээр үеэс эхлэн эмчилгээнд ашиглаж ирсэн. Их таван салаа нь цус багадалтыг багасгах, хорт хавдар болон вирусын эсрэг үйлчилгээтэйгээс гадна хүний дархлааг

дэмждэг. Их таван салааны ургамлын газрын дээдэх хэсгээр эм бэлтгэн хэрэглэхээс гадна үрэвслийн эсрэг үйчилгээтэй цай хандалж хэрэглэдэг (Amakura ба бусад, 2012). Учир нь Их таван салаа нь маш олон төрлийн биоидэвхит нэгдлийг агуулдаг бөгөөд хөгшрөлтийн эсрэг антиоксидантаар баялаг, үрэвсэл ба шарх, ханиадыг анагаахад ашигладаг (Fons ба бусад, 2008). Их таван салаанд агуулагдах гол нэгдэл нь аукубин, иридоидын гликозид бөгөөд эдгээр нь

үрэвсэл, хорт хавдрын эсрэг үйлчлэхээс гадна ургамлын стресс тэсвэрийг нэмэгдүүлдэг (Park ба Chang, 2004, Tholl, 2015). Бидний энэхүү судалгааны ажлын зорилго нь Их таван салаа ургамлын хорт хавдрын эсрэг идэвхийг хархны арьсны хорт хавдрын B16F10 эсэд туршин тодорхойлох байлаа. Энэ нь Монгол оронд ургадаг Их таван салаа ургамлын хорт хавдрын эсрэг үйлчлэлийг *in vitro* туршилтаар анх удаа тогтоож байгаагаараа шинэлэг юм.

## СУДАЛГААНЫ ХЭРЭГЛЭГДЭХҮҮН, АРГА ЗҮЙ

**Ургамлын ханд бэлтгэх** Нэг литр 40%-ийн этилийн спиртэнд Өмнаговь аймгаас түүж бэлтгэсэн 200 г хуурай *Plantago major* -ийг нэмж тасалгааны температурт 72 цаг байлгасаны дараа вакуум аппаратанд хийж, ууршуулан хандалж, хөлдөөх замаар хатааж ургамлын дээжийг бэлтгэв. Дээжийг диметилсульфооксид-д (DMSO) уусгаж 0.1 v/v зохистой концентраци (мкг/мл)-ийн дагуу шингэлж эсэд үйлчлүүлэв. **Эсийн өсгөвөр хийх арга зүй**

Хархны арьсны хорт хавдрын B16F10 эс болон RAW264.7 (ATCC® No. TIB-71™) хулганын макрофаг шугаман эсийг Америкийн Эсийн Нөөцийн Сангаас авч тогтсон арга зүйн дагуу өсгөвөрлөв. Эсийн өсгөвөр хийхэд дараах найрлагатай үндсэн тэжээлт орчинг (10% туглын цусны ийлдэс (FBS), 1% пенициллин/стрептомицин агуулсан DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)) ашиглан 37°C-д 5%-ийн CO<sub>2</sub> -д өсгөвөрлөв. RAW264.7 макрофаг эсийг 96 ширхэг үүртэй өсгөврийн хавтанг ашиглан үүр тус бүрт 1x10<sup>4</sup> эс/мл байхаар тооцож 24 цаг үндсэн тэжээлт орчинд ургуулсаны

дараа PME хандыг (0, 50, 100, 200, 400 мкг/мл) концентрациар нэмж 24 цагийн дараах эсэд үзүүлэх хоруу чанар болон эсээс ялгарах тодорхойлов (Baatarsoigt ба бусад, 2013).

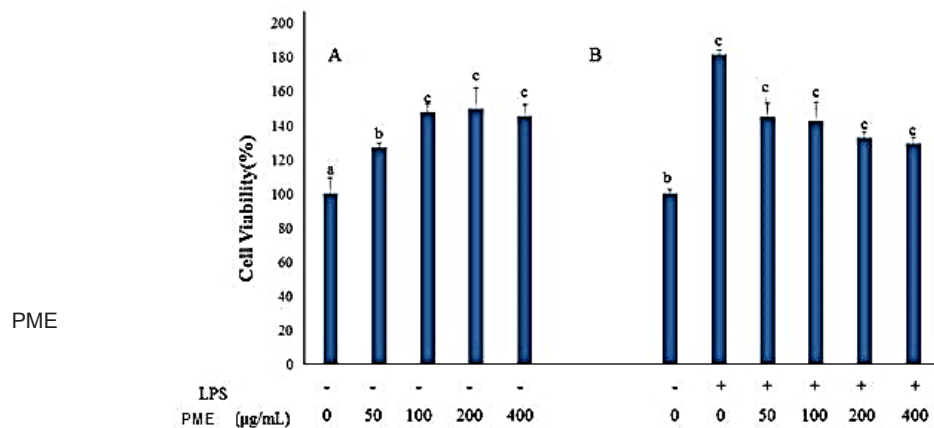
**Эсийн олшролтын тоог тодорхойлох арга зүй** PME хандыг эс тус бүрт зохистой концентрацийн дагуу нэмж эсийн өсөлт бууралтыг ССК-8 –ийг ашиглан тодорхойлсон. RAW264.7 макрофаг эс болон хархны арьсны хорт хавдрын B16F10 эсийг 96 нүхтэй хавтангийн 1 нүхэнд 1x10<sup>4</sup> эс байхаар тооцож 37°C-д 5%-ийн CO<sub>2</sub> -д 24, 48, 72 цаг өсгөвөрлөсөн. PME ханд нэмсэнээр LPS-р өдөөгдсөн үрэвслийн эсийн нитрат оксид нийлэгжүүлэх идэвхийг бууруулах болон хорт хавдрын эсийн үхэл 24, 48, 72 дахь цагуудад илэрхий нэмэгдсээр байсан ба үүнийг ханд нэмсэнээс 24, 48, 72 цагийн дараа ССК-8 урвалжаас 10 мкл-ийг нүх тус бүрт нэмж 3 цагийн турш 37°C-д 5%-ийн CO<sub>2</sub> -д өсгөвөрлөн Microplate Reader (Tecan, Switzerland) - ийн 450 нм долгионы уртад уншуулан үр дүнг авсан. Хяналтын бүлгээр 0.05 %-ийн DMSO уусгагчийг авав. Туршилтыг 3 давталттайгаар хийж гүйцэтгэсэн болно.

## ҮР ДҮН БА ШҮҮН ХЭЛЭЛЦЭХҮЙ

**Их таван салаа (*Plantago major* L.) ургамлын этилийн спиртэн хандыг хулганы RAW 264.7 макрофаг эсэд үйлчлүүлсэний дараах эсийн олшролтыг тодорхойлсон дүн**

ME ханд нь LPS-р өдөөгдөөгүй RAW 264.7 эрүүл эсэд хоруу нөлөөгүй боловч LPS-р өдөөгдсөн үрэвслийн эсийг дарангуйлж байлаа (1-р зураг).

Макрофаг нь дархлааны системд чухал үүрэг гүйцэтгэдэг ба макрофагийн тоо олшрох тусам шарх эдгэрэлт хурдан явагдана (Zhang ба Wang, 2014). Гэсэн хэдий ч идэвхижсэн макрофагийн тоо ихсэхэд архаг үрэвсэл үүсдэг байна (Jou ба бусад, 2013).

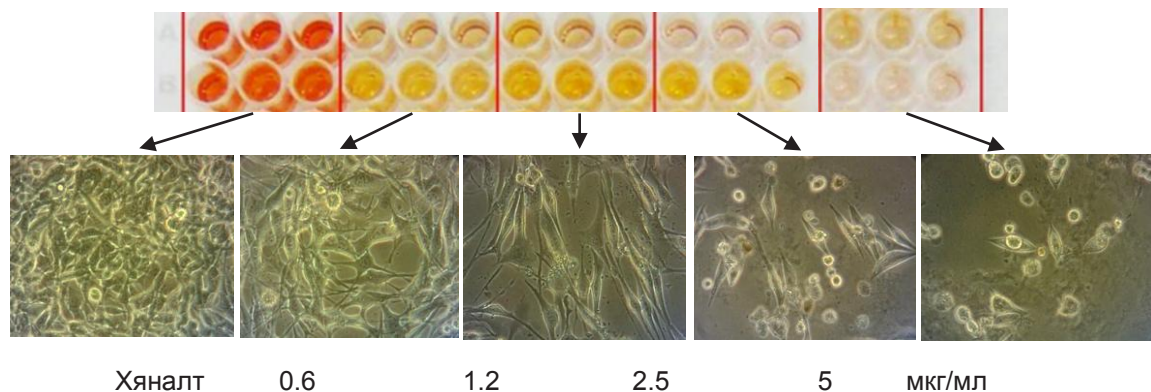


1-р зураг. *Plantago major* L.-ийн этилийн спиртэн хандаар RAW 264.7 хулганы макрофаг эсийг үйлчилснээс 24 цагийн дараа эсийн ургалтын А: LPS-р өдөөгдөөгүй RAW 264.7 эс, В: LPS-р өдөөгдсөн RAW 264.7 эс. Туршилтын 3 давталтын дундаж утга  $\pm$  стандарт хэлбэлзэл (n=3). Duncan multiple-range-аар бодит ялгааг бодож гаргав. Ялгаатай үсгүүд бодит ялгаатайг илэрхийлнэ ( $p < 0.05$ ).

#### РМЕ хандыг хархны арьсны хорт хавдрын шугаман эс (B16F10)-ийн ургалтыг дарангуйлах идэвхи

B16F10 хавдрын эсийг 24 цагийн турш өсгөвөрлөсний дараа РМЕ хандыг (0, 0.6, 1.2, 2.5, 5 мкг/мл) тунгаар нэмсэн (Зураг 2) үр дүнгээс үзэхэд РМЕ-ийн спиртэн ханд нь B16F10 эсийн ургалтыг дарангуйлах идэвхитэй байгааг

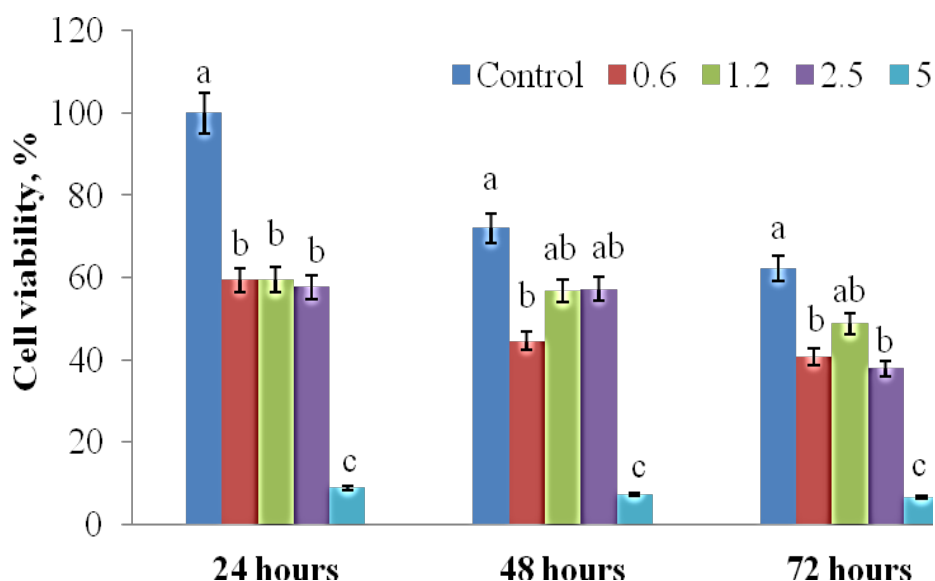
тодорхойлов (2,3-р зураг). Тунгийн өөрчлөлтөөс хамааран хавдрын эсийн өсөлт, амьдрах чадвар буурч байв. Ялангуяа өндөр тунгаар буюу 5 мкг/мл-ийн тунгаар үйлчлэхэд хавдрын эсийн амьдрах чадвар эрс буурсан. Тухайлбал 24, 48, 72 цагийн дараах байдлаар 8.8; 7.3; 6.5% ба 31.4; 34.0; 20.5% буурсан байна (3-р зураг).



2-р зураг. *Plantago major* L.-ийн этилийн спиртийн хандаар 24 цагийн турш үйлчлүүлсний дараах хавдрын эсийн морфологи бүтцийн өөрчлөлтийг харьцуулсан дүн.

Орчин үед байгалийн гаралтай, хорт хавдрын эсрэг үйлчилгээтэй бүтээгдэхүүнийг дэлхий дахинд өргөнөөр хэрэглэх хандлагатай байна. Ялангуяа эмийн ургамлаас биологийн идэвхит нэгдлийг нь ялган авч хорт хавдрын эсрэг

эмчилгээнд хэрэглэх явдал ихсэж байна. Их таван салааг хорт хавдрын эсрэг үйлчилгээтэй эсэх нь шинжлэх ухаанд бүрэн нотлогдоогүй ч түүнийг хорт хавдрын эсрэг эмчилгээнд хэрэглэдэг тухай өгүүлсэн байдаг.



3-р зураг. *Plantago major*-ийн этилийн спиртэн хандаар 24, 48, 72 цагийн турш үйлчлүүлсэний дараа B16F10 хавдрын эсийн ургалтыг дарангуйлах идэвхийг судалсан дүн.

B16F10 хавдрын эсийг дарангуйлах идэвхийг ССК-8 арга зүйн дагуу тодорхойлов. Туршилтыг 3-н удаагийн давталтын дундаж утга ± стандарт хэлбэлзэл зэргийг харьцуулсан болно (n=3). Duncan multiple-range -аар бодит ялгааг бодож гаргав. Ялгаатай үсгүүд бодит ялгаатайг илэрхийлнэ (p<0.05). 2003 онд хийсэн Galvez нарын судалгаанд уламжлалт эмчилгээнд ашиглагддаг *P. major* болон нийт долоон зүйлийн таван салааны метанолон хандын хоруу чанарыг В (SRB) аргазүйг ашиглан *in vitro* нөхцөлд гурван хорт хавдрын шугаман эс болох хүний булчирхайн холбогч эдийн гаралтай бөөрний хорт хавдрын эс (TK-10), хүний хөхний хорт хавдрын эс (MCF-7), хүний арьсны хорт хавдрын (UACC62) эсүүдэд туршжээ. *P. major* болон бусад зургаан зүйлийн таван салаа нь хүний хөхний хорт хавдрын эс (MCF-7) болон хүний арьсны хорт хавдрын (UACC62) эсүүдэд NCI (USA)-ийн зөвшөөрсөн тунгийн хувилбаруудаас хамааран хоруу чанар үзүүлж байв. *Plantago bellardii* (GI50 = 86 г/мл) -аас бусад зүйлийн хандууд нь хүний бөөрний хорт хавдрын эс (TK-10)-д хоруу чанар үзүүлэхгүй байжээ. Хоруу чанар нь ургамлын ханданд агуулагдах флавоноид, флавоны, лютеолиний агууламжаас хамаардаг гэж үздэг

### ДҮГНЭЛТ

Их таван салааны (*P. major*) этилийн спиртэн ханд нь хархны арьсны хорт хавдрын B16F10 эсд (0, 0.6, 1.2, 2.5, 5 мкг/мл) үйлчлүүлэн контроль буюу PME хандаар үйлчлүүлээгүй бүлэгтэй

байна. Бүх зүйлийн Таван салааны дотор агуулагдах флавоноид болох Лютеолин-7-О-β-глюкозид нь эсэд хоруу шинж чанартай (Martin-Cordero ба бусад, 2000; Lopez-Lazaro ба бусад, 2000, 2002). 2002 онд Chowdhury нар 2003 онд Galveza нар Лютеолин-7-О-β-глюкозид нь ДНХ топоизомераза I -ийг идэвхгүйжүүлдэгийг тогтоожээ. Бидний судалгааны дүнгээс харвал *Plantago major* L. нь арьсны хавдрын эсийн ургалтыг дарангуйлах буюу үрэвслийн процессын дүнд үүсдэг нитрат оксидын нийлэгжилтийг багасгаж байгаа нь үрэвслийн эсрэг үйлчлэл байх магадлалтай гэж тодорхойлов. Лютеолин нь уушгины A-549, өндгөвчний SK-OV-3, арьсны SK-MEL-2, XF-498, HCT15, ходоодны HGC-27, хөхний MCF-7 болон цусны хорт хавдрын эсийн өсөлтийг саатуулдаг (Le Bail ба бусад, 1998; Post ба Varma, 1992; Ryu ба бусад, 1994). 2002 онд Okazaki нар Таван салаа нь хорт хавдраас урьдчилан сэргийлдэг болохыг тогтоосон ба 2003 онд Chiang нар *P. major* зүйлийн Таван салаа нь хүний дархлааг дэмжиж байгааг тогтоосон бол бидний судалгаагаар Их таван салаа (*P. major*) нь арьсны хорт хавдрын B16F10 эсийн өсөлтийг дарангуйлдаг болох нь тогтоогдов.

харьцуулахад тун болон үйлчилүүлсэн хугацаанаас хамаарч хамаарч эсийн ургалтыг 40 хувь хүртэл дарангуйлж байгааг тогтоосон. Үрэвслийн эсрэг идэвхийг тодорхойлохдоо

липополисахаридаар идэвхжүүлсэн хулганы макрофаг шугаман эсийн нитрат оксид нийлэгжүүлэх идэвхийг тунгаас хамаарч бууруулж байгааг тогтоов. Иймээс Их таван

салааг цаашид нэмэлтээр дэлгэрэнгүй судалгаа хийж үр эрүүл мэндийн зориулалттай бүтээгдэхүүний найрлаганд ашиглах боломжтой гэж дүгнэж байна.

## АШИГЛАСАН ХЭВЛЭЛИЙН ЖАГСААЛТ

1. Amakura Y., Yoshimura A., Yoshimura M. and Yoshida T. 2012. Isolation and Characterization of Phenolic Antioxidants from Plantago herb. *Molecules* 17(5):5459-66. doi: 10.3390/molecules17055459.
2. Chiang L.C., Chiang W., Chang M.Y. & Lin L.T. 2002. Antiviral activity of Plantago major extracts and related compounds invitro, *Antiviral Res*, 55: 53–62.
3. Chowdhury A.R., Sharma S., Madal S., Goswami A., Mukhopadhyay S., Majumder H.K. 2002. Luteolin, an emerging anti-cancer flavonoid, poisons eukaryotic DNA topoisomerase I. *Biochemical Journal* 366, 653–661.
4. Fons F, Gargadenec A and Rapior S. 2008. Culture of Plantago species as bioactive components resources: a 20- year review and recent applications. *Acta Bot. Gallica*. 155 (2): 277-300
5. Galvez M., Cordero M.C., Cortes F. & Ayus M.Y... 2003. Cytotoxic effect of Plant ago spp. On cancerallins, *J. Ethnopharmacol*, 88: 125-130.
6. Galveza M., Martin-Corderoa C., Lopez-Lazaroa M., Felipe Cortesb F. and Ayusoa M.J. 2003. Cytotoxic effect of Plantago spp. on cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology* 88: 125–130.
7. Jou I.M., Lin C.F., Tsai K.J. and Wei S.J. 2013. Macrophage-Mediated Inflammatory Disorders. *Mediators of Inflammation*: 1-3.
8. Le Bail J.C., Varnat F., Nicolas J.C., Habrioux G. 1998. Estrogenic and antiproliferative activities on MCF-7 human breast cancer cells by flavonoids. *Cancer Letters* 130, 209–216
9. Lopez-Lazaro M., Martin-Cordero C., Ayuso M.J. 2000. Two new flavonol glycosides as DNA topoisomerase I poison. *Zeitschrift für Naturforschung* 55c, 898–902.
10. Martin-Cordero C., Lopez-Lazaro M., Piñero J., Ortiz T., Cortes F., Ayuso M.J., 2000. Glucosylated isoflavones as DNA topoisomerase II poisons. *Journal of Enzyme Inhibition* 15, 455–460.
11. Okazaki H., Nishimune T. and Matsuzaki H. 2002. Increased incidence rate of colorectal tumors due to the Intake of a soluble dietary fiber in rat chemical Carcinogenesis can be suppressed by substituting partially an insoluble dietary fiber for the soluble one *Int. J. Cancer*, 100: 388- 394.
12. Park K and Chang I. 2004. Anti-Inflammatory Activity of Aucubin by Inhibition of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Production in RAW 264.7 Cells. *Planta Med.* 70(8): 778-779
13. Pettit G.R., Hoard M.S., Doubek D.L., Schmidt J.M., Pettit R.K., Tackett L.P., Chapuis J.C. 1996. Antineoplastic agents 338. The cancer cell growth inhibitory. Constituents of Terminalia arjuna (Combretaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 53, 57–63.
14. Post J.F.M. and Varma R.S. 1992. Growth inhibitory effects of bioflavonoids and related compounds on human leukemic CEM-C1 and CEM-C7 cells. *Cancer Letters* 67, 207–213.
15. Ryu S.Y., Choi S.U., Lee C.O., Lee S.H., Ahn J.W. and Zee O.P. 1994. Antitumor activity of some phenolic components in plants. *Archives of Pharmacological Research* 17, 42–44.
16. Zhang L. and Wang C.C. 2014. Inflammatory response of macrophages in infection. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 13(2):138-52.
17. Baatartsogt Oyungerel, Heekyong Lim, Chi-Ho Lee, Eun-Hee Choi, Guan-Hao Li and Kang-Duk Choi 2013; “Anti-inflammatory Effects of *Magnolia sieboldii* Extract in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW264.7 Macrophages” *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* December 12 (6): 905-912

## **DETECTION OF *PLANTAGO MAJOR* L. ETHANOL EXTRACT ON ANTI-CANCER ACTIVITY**

### **ABSTRACT**

*Plantago major L. is a widely distributed herb which traditionally used for treating wound, fever, cancer and inflammation in Asia. This present study aimed to investigate the anti-cancer activity of ethanol extract of Plantago major plant (PME) on B16F10 skin cancer cells. Cells were treated with different concentration of the PME extract (0, 50, 100, 200, 400 µg/mL) with or without lipopolysaccharide (LPS) stimulation to evaluate its effect on cell viability. Furthermore, anti-cancer activity was evaluated by checking viability of B16F10 skin cancer cells in various concentration of the PME extract (0, 0.6, 1.2, 2.5 and 5 µg/mL), using CCK-8 assay. The results indicated that (i) the PME treatment increased cell viability in naive cells whereas inhibited cell proliferation in LPS-stimulated cell dose-dependently; and (ii) PME exhibits anti-inflammatory activity through inhibition of proliferation of B16F10 skin cancer cells.*

**KEYWORDS:** *Plantago major L., Plantago major ethanol extract, anti-cancer effect, B16F10 skin cancer cells, Murine RAW264.7 macrophage cells, in vitro testing.*