

Долгионтсон гишүүнээс (Rheum Undulatum.I) ялгасан биоидэвхит нэгдлийг хархны арьсны хорт хавдрын B16f10–эсэд үйлчлүүлэн тодорхойлсон дүн

Дүүриймаа О.¹, Бадамсүрэн Б.¹, Пүрэвжаргал Н.², Одонтуяа Б.³, Баатарцогт О.^{1*},

¹Хөдөө аж ахуйн их сургууль, Мал аж ахуй, Биотехнологийн сургууль,
Биотехнологи үржүүлгийн тэнхим, Геномиксийн лаборатори

²Анагаахын шинжлэх ухааны үндэсний их сургууль, Цөм лаборатори

³Анагаахын шинжлэх ухааны үндэсний их сургууль, Арьс судлалын тэнхим

И-мэйл: Tsogoo21@gmail.com

Хураангуй: Энэхүү судалгаагаар Долгионтсон гишүүнэ (Rheum undulatum.L) ургамлын ишийг хандлан хавдрын эсэд апоптозис үхэл үүсгэх замаар эсийн ургалтыг дарангуйлах идэвхийг *in-vitro* түвшинд судлан тодорхойлов. Судалгаанд хавдрын эсийн үхэл, апоптозис үүсэх механизмд оролцдог маркер уургуудын нийлэгжлийн хөдлөл зүйг (ССК-8 assay), үсэрхийллийн эсрэг идэвхи үзэх туршилт (WHMA), Вестерн блот, ДНХ задралын фракц зэрэг анализ судалгааг хархны арьсны хорт хавдрын эс В16F10-д, үрэвслийн эсрэг үйлчлэлийг RAW264.7 хулганы макрофаг эс дээр тодорхойлов.

Үр дүн: ССК-8 арга зүйн дагуу Долгионтсон гишүүнэ ургамлын этанол, метанолон хандыг хавдрын эсэд үйлчлүүлэхэд хавдрын эсийн

амьдрах чадвар буурсан. Эсийн үсэрхийллийн эсрэг идэвхийг тодорхойлоход хандын тунг нэмэгдүүлэх тусам эсийн үсэрхийлэл хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад буурч байв. Түүнчлэн PАРP, Akt, BCL2, BAX болон Я-Actin уургуудын нийлэгжлийг Western blot-арга зүйгээр хянахад хавдрын эсийн олшролтыг дэмждэг BAX, Akt уургуудын нийлэгжил Долгионтсон гишүүний этанолон хандын нөлөөгөөр буурч байлаа.

Дүгнэлт: Долгионтсон гишүүнэ (Rheum undulatum.L) эмийн ургамал нь хорт хавдрын эсрэг идэвхитэй бөгөөд арьсны хорт хавдрын эсрэг эмчилгээнд хэрэглэхэд тохиромжтой.

Түлхүүр үг: Меланома, В16F10, Rheum undulatum.L, Эсийн апоптозис, Үсэрхийлэл, ДНХ задралын фракц

Abstract

Rhubarb (Rheum Undulatum.I) extract anti proliferative and anti cancer activities in B16F10 murine melanoma cells

Duuriimaa O.¹, Purevjargal N.², Badamsuren B.¹, Odontuya B.³, Baatartsogt O.^{1*},

¹School of Animal Sciences & Biotechnology, Mongolian University of Life Sciences

²Core Laboratory, Science Technology Center of Mongolian National University of Medical Sciences

³Department of Dermatology, Mongolian National University of Medical Sciences

*For Correspondence: Email: Tsogoo21@gmail.com

Background

There are 13283 people per 100 000 were diagnosed with skin cancer in 2016. Skin cancer is reported not widely in Mongolia. However, melanoma and non-melanoma new case are gradually increasing since 2010. Rhubarb is an old and well-known traditional Mongolian herbal medicine. Rhubarb is rich of bioactive compounds and widely distributed around Mongolia. People are still using Rhubarb as in food consumption and traditional medical treatments. Yet, there is not reported any therapeutic effect of rhubarb based on scientific research.

Purpose

To investigate the anti-cancer activities of rhubarb (Rheum undulatum.L), a new herbal preparation from Mongolia, on B16F10 cells

Material and Methods

The shoot of rhubarb was soaked with 40% ethanol and methanol. Murine melanoma B16F10 and RAW264.7 macrophage cell lines were purchased from the American Type Culture Collection

(ATCC). Cell viability was determined CCK-8 assay. The antimigratory effect of Rhubarb (50-400 µg/µl) was investigated by a wound healing assay for 12 hours. Apoptosis was then evaluated by Western blot analysis. All experiments conducted at Core laboratory of Mongolian national university of medical sciences and Genomics laboratory of Mongolian university of life sciences from November 2015 to February 2017.

Results

Ethanol and methanol extract of rhubarb inhibited the proliferation of B16F10 and RAW264.7 cells. In WHMA, cell migration was gradually decreased by concentrate dependent groups compare to the control group. Furthermore, protein expression PARP, Akt, BCL2, BAX and mTOR was investigated. BAX, Akt were down-regulated by rhubarb extraction as expected. DNA fragmentation assay have shown a dose dependent increase in the fragmentation of the DNA signifying apoptotic changes in the R.u extract treated B16F10 cells.

Conclusion: Rhubarb (*Rheum undulatum*.L) shows promising anti-cancer activity and can be useful in therapeutic treatment of skin cancer.

Keywords: Melanoma, Apoptosis, Anti-cancer, *Rheum undulatum*.L, Cell Migration, DNA fragmentation

Pp.45-51, Figures 4, References 15

Үндэслэл

Арьсны хорт хавдар дэлхий дахинд 2016 оны байдлаар 100 000 хүн амд 13283 тохиолдож байна. Мөн 54 минут тутамд 1 хүн меланомын шалтгаанаар хорвоог орхисоор байгаа ба хавдрын шалтгаант нийт үхлийн 3.8%-ийг эзэлж байна. Манай орны хувьд хорт хавдраар өвчлөгсдийн дотор арьсны хорт хавдраар өвчлөгсдийн тоо харьцангуй цөөн боловч арьсны нөсөөт хавдар болон арьсны нөсөөт бус хавдар 2000 онд 75 буюу нийт хорт хавдраар өвчлөгсдийн 0.86%-ийг эзэлж байсан бол 2012 онд 205 буюу 1.42% болон өсөн нэмэгдэж жил бүр дунджаар 15-30 тохиолдол шинээр бүртгэгдсэн байна [1, 3]. Шинээр бүртгэгдсэн тохиолдлыг хүйсээр нь авч үзвэл нөсөөт хавдар эмэгтэйчүүдэд, нөсөөт бус хавдар эрэгтэйчүүдэд илүү, харин насаар нь ангилан авч үзвэл 15-19 насанд анх илэрч бүртгэгдсэн байгаа ба 40-54 наснаас ихсэх хандлагатай байна. Арьсны хавдрын илрүүлэлтийг аймаг тус бүрээр харьцуулан үзэхэд жилд 1-9 тохиолдол, харин Улаанбаатар хотод 80 тохиолдол илэрсэн бөгөөд энэ нь нийт арьсны хавдрын 43%-ийг эзэлж байна. Илэрсэн үе шатаар авч үзвэл Т2-Т3 үе шатанд оношлогдсон байна [1, 3]. Иймд хорт хавдрыг эмчлэх зориулалтаар шинэ нэр төрлийн эмчилгээний бүтээгдэхүүн гарган авах зайлшгүй шаардлага гарч байна. Монгол орны тал нутгаар элбэг тархан ургадаг Долгионтсон гишүүнэ (*Rheum undulatum*.L)-д хорт хавдрын эсрэг үйлчлэлтэй фисцион, алое-эмодин, ализарин зэрэг биологийн идэвхит бодис агуулагддаг ба эдгээр нь этанол, метанолд сайн уусаж диффузлагддаг [2,11]. Энэхүү ургамлыг уламжлалт анагаах ухаанд өргөнөөр ашигладаг боловч шинжлэх ухааны үндэслэлтэй хийгдсэн

судалгаа хязгаарлагдмал байдаг [2, 5]. Түүнчлэн Долгионтсон гишүүнийг арьсны хорт хавдрын эсийн эсрэг *in vitro* нөхцөлд манай улсад хараахан судлаагүй байна. Үүнээс үндэслэн хүнсний болон эмчилгээний зориулалттай өргөн ашиглагддаг гишүүнээс ялган авсан биологийн идэвхит нэгдлийг хорт хавдрын эсрэг шинжлэх ухааны туршилт, нотолгоонд суурилан уламжлалт анагаах ухаанд хэрэглэхийн тулд лабораторын нөхцөлд зайлшгүй хорт хавдрын эсэд туршин тодорхойлох хэрэгтэй байгаа нь бидний судалгааны ажлын үндэслэл боллоо.

Хэрэглэгдэхүүн, арга зүй

Судалгаанд Долгионтсон гишүүнэ (*Rheum undulatum*.L) эмийн ургамлыг Монгол Улс, Улаанбаатар хот, Богд уулаас 2016 оны 6-7 дугаар сард түүж цэвэрлэн бэлтгэсэн. Хархны арьсны хорт хавдрын эс B16F10-ийг American Type Cell Collection (ATCC)-с авч сэргээн өсгөвөрлөсөн.

Эмийн ургамлын ханд бэлтгэх

Ургамлын хандыг хуурай ханд бэлтгэх үйлдвэрлэрийн дагуу ялгамлыг гаргаж авах, цэвэрлэх, өтгөрүүлэх, хатаах дамжлагаар гарган авсан [4]. Ургамлын ханд бэлтгэхэд хамгийн сайн уусгагчаа Долгионтсон гишүүнэ эмийн ургамлын ишийг жижиглэн хэрчсэн ба 800гр дээж дээр 40%-ийн этанол, метанолоос 1л-ийг нэмж өрөөний температурт 72 цаг байлгасан. Хандыг 2000эрг/мин-д 5минут +4°C-д центрифугдсэн [5]. Дээд шингэнийг авч ууршуулан хандлах төхөөрөмжинд +65°C-д өтгөрүүлэн хандалж хөлдөөн хуурайшуулах төхөөрөмжинд -40°C-д

24 цагийн турш хандыг хуурайшуулан гарган авсан ба DMSO(диметилсульфооксид)-д 1:0.5 байхаар уусгасан [7]. 0.22 μ M голчтой Whatman шүүлтүүрт шүүж -20°C–д хадгалсан. Хандыг серумгүй тэжээлт орчинд шингэлж эсэд үйлчлүүлэхэд бэлэн болгов.

Эсийн өсгөвөр

Хавдрын эс В16F10-ийг Т75 эс өсгөврийн флакнд DMEM (Dulbecco's modified eagle's medium, Gibco-1706498)-д нэмэлтээр10%-ийн үхрийн хээлийн ийлдэс (FBS), 1% антибиотик-пенициллин стрептомицинтэй 10мл тэжээлт орчинд+37°C-д 5%-ийн CO₂ инкубаторт өсгөвөрлөв [6, 8].

ССК-8 анализ

Хавдрын эс В16F10-ийг 96-тай үүрт хавтангийн 1 үүрэнд 1x10⁴ эс байхаар тооцон хурааж эс өсгөврийн 100 μ л тэжээлт орчинд +37°C-д 5%-ийн CO₂ инкубаторт өсгөвөрлөсөн[13, 14]. Эсийг өсгөвөрлөснөөс 24 цагийн дараа гишүүн ургамлын этанол, метанолон хандыг 0.1; 0.3; 0.6; 1.2; 2.5; 5 μ г/ μ л тунгаар эсэд үйлчлүүлсэн ба ханд нэмээгүй бүлэг, DMSO нь хяналтын бүлэг болсон. Хандыг нэмсэнээс 24, 48, 72 дахь цагуудад ССК-8 (Cell Counting Kit-8, EW757) уусмалаас 10 μ л-ийг 96-тай үүрт хавтангийн үүр тус бүрт нэмсэн ба 3 цагийн турш +37°C-д 5%-ийн CO₂ инкубаторт байлгасан[13]. Хавдрын эсийн олшролтын тоон үзүүлэлтийг Elisa Reader-т 450нм-ийн долгионы уртад уншуулж авсан [7, 8].

Хавдрын эсийн үсэрхийллийн эсрэг идэвхийг тодорхойлох

Арьсны хорт хавдрын В16F10 эсийг 6-тай үүрт хавтанд 1 үүрэнд 1x10⁵ эс байхаар тооцон хурааж эс өсгөврийн 2мл тэжээлт орчинд +37°C-д 5%-ийн CO₂ инкубаторт өсгөвөрлөсөн. Эсийг өсгөвөрлөснөөс 12 цагийн дараа тэжээлт орчинг соруулан авч 10 μ л-ийн хошуугаар өсгөврийн хавтангийн голоор зурж зүсэлт хийв. PBS (Phosphate-buffered saline-Gibco-1734796) 1мл-ийг нэмж 1 удаа угаасан ба 2мл эсийн өсгөврийн тэжээлт орчин нэмсэн. Гишүүний этанол болон метанолон хандаас 50, 100, 200, 400 μ г/ μ л тунгаар нэмж 2 хяналтын бүлэг авсан. Ханд нэмсэнээс 0, 12 дахь цагуудад СК40-SLP Olympus- Микроскопийн x10 өсгөлтөөр зургийг авч хорт хавдрын эсийн үсэрхийллийг хянав [12].

Уураг ялгах

Эсийг 6-тай үүрт хавтанд 1 үүрэнд 1x10⁵ эс байхаар тооцон хурааж эс өсгөврийн 2мл тэжээлт орчинд +37°C-д 5%-ийн CO₂-д инкубаторт 24 цаг өсгөвөрлөсөн. Эсийн тэжээлт орчинг асгаж PBS-р 2 удаа угаасан. Эсийг хусуураар хусан авч 13.000Эрг/мин –д +4°C –д 10 минут

центрифугдэнэ. Дээд шингэнийг асгаж тунц дээр NP40 эс задлах уусмалаас 200 μ л нэмж вортексоор хольсон. 30 минут мөсөн дээр балгах ба 10 минут тутамд вортексдов. 13.000Эрг/мин–д+4°C–д 20 минут центрифугдэн дээд шингэнийг авч 1.5мл-ийн тубэнд хийсэн [8, 10].

Уургийн нийлэгжлийг Вестерн Блот-р тодорхойлох

12%-ийн 15 мл гел бэлтгэж 120 вольт, 250 ампер, 120 минут уургийн электорофорез гүйлгэв. Нитроцеллюлоз мембраныг метанолд дэвтээсэн ба фильтрийн цаасыг трансфер уусмалаар норгон, шилжүүлэх кассетыг спонж, фильтрийн цаас, гел, мембран, фильтрийн цаас, спонж гэсэн дарааллаар байрлуулсан. 100вольт 200 ампер-д 120 минут гүйлгэв [7]. Мембраныг блоклохдоо 1 цаг блоклох уусмалд байлгасан. Анхдагч эсрэг биемээр 12 цаг, TBST-р 7 минутаар Зудаа угааж, хоёрдогч эсрэг биемээр 2 цаг будаж сэгсрэгч дээр TBST-р 7 минутаар 5 удаа угаасан. Мембраныг А (luminal enhancer solution) В (peroxide solution)-д 1 минут байлгаж, харанхуй өрөөнд зургийг авч 10 минут хатаах шүүгээнд хатаан авсан [15].

ДНХ ялгах

Эсийг өсгөвөрлөснөөс 24 цагийн дараа хандыг 50,100, 200, 400 μ г/ μ л тунгаар нэмж 24, 48 цагийн дараа ДНХ ялгах цомог (ChorosOnosh) ашиглан эсээс ДНХ ялгасан. Дээжийн концентрацийг ND 1000 спектрофотометрээр тодорхойлсон. ДНХ-ийн чанарыг спектрийн шингээлтийн 260/280 харьцааг үндэслэн >1.8 цэвэршилттэй дээжийг судалгаанд хэрэглэсэн [8, 9].

ДНХ задралын фракц үзэх

Ялган авсан бүх ДНХ-ийн концентрацийг тэгшитгэж ДНХ 5.9-8.8 μ л, Loading Dye 2 μ л, ариутган нэрсэн ус 1.1-8.1 μ л хүртэл нэмэн хольж 1.5%-ийн агароз гелд 100 вольт, 200 амперт 30 минут гүйлгэв. Үр дүнг Bio-Rad, Gel DocLab Image System-р зургийг авч хяналаа[10,15].

Үр дүн

Хавдрын эсийн олшролтыг ССК-8 арга зүйгээр тодорхойлсон дүн:

Туршилтыг ССК-8 арга зүйн дагуу хийсэн ба хавдрын эсийг өсгөвөрлөснөөс 24, 48 цагийн дараа гишүүний этанол, метанолон хандаар 0.1; 0.3; 0.6;1.2; 2.5; 5 μ г/ μ л үйлчлүүлсэн. Ханд нэмсэнээс 24 цагийн дараа 5 μ г/ μ л-д хорт хавдрын эсийн амьдрах чадвар буурч, 48 цагийн дараа 0.3-5 μ г/ μ л-д эсийн үхэл нэмэгдэж гишүүний ханд хавдрын эсийн олшролтыг дарангуйлж байв (Figure 1).

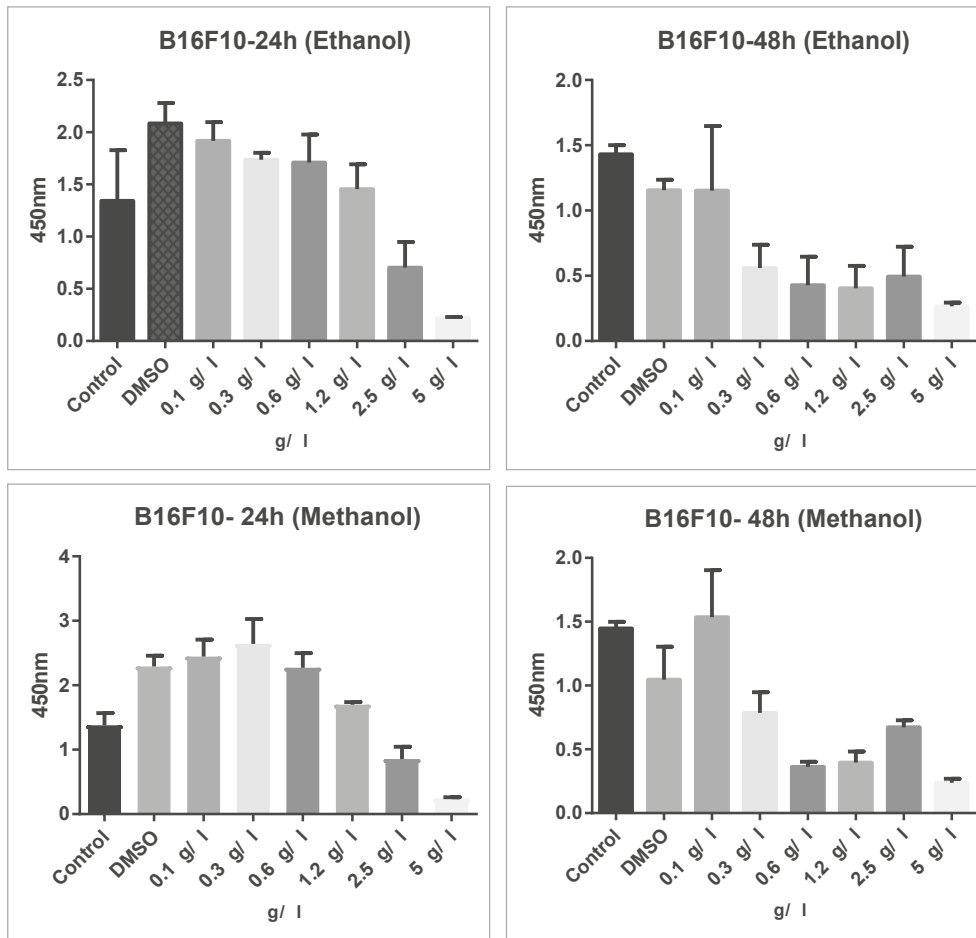


Figure 1. Cell viability of B16F10 murine melanoma cells, after treatment 24,48 hours

Хавдрын эсийн үсэрхийллийг хянасан дүн:
 Долгионтсон гишүүнэ (*Rheum undulatum.L*)-ийн этанолон хандыг хорт хавдрын B16F10 эсэд 50, 100, 200, 400µг/мл нэмж 0 цаг болон ханд нэмсэнээс хойш 12 цагийн дараа зургийг авч харьцуулав. Зургаас хяналтын бүлэг буюу ханд

нэмээгүй бүлэгт хавдрын эс 12 цагийн дараа зүсэлт хийсэн хэсгийг давж үсэрхийлэн битүү тархан ургасан бол 50µг/мл ханд нэмсэнээс эхлэн эсийн үсэрхийлэл буурсан. Хандын 400µг/мл тунд хавдрын эсийн үсэрхийлэл илэрхий багасаж байв. Зургийг CK40-SLP Olympus микроскопийн x10 өсгөлтөөр авав (Figure2).

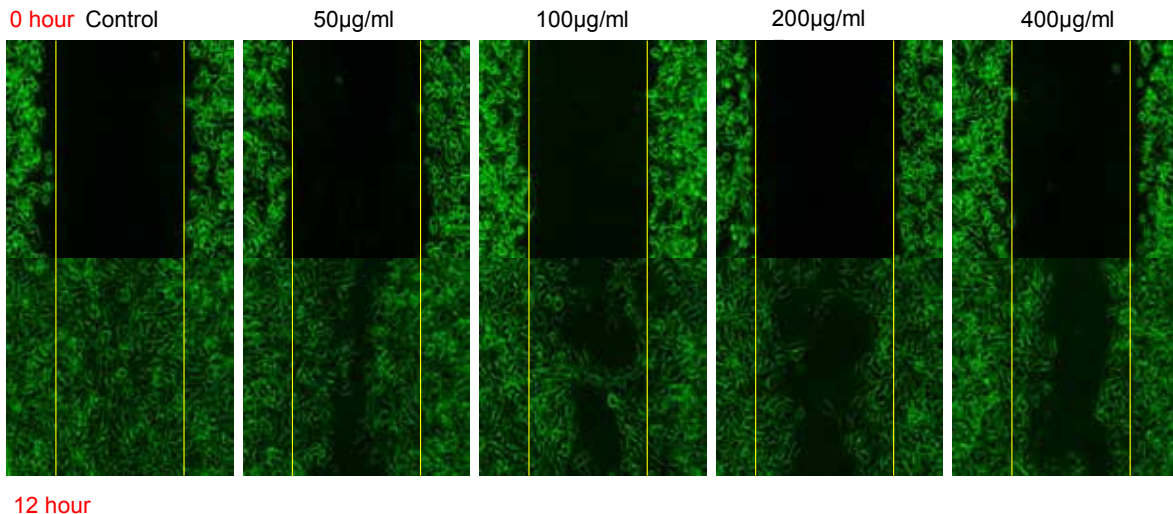


Figure 2. Wound healing migration assay B16F10 murine melanoma cells, after treatment 0 and 12 hours

Rheum undulatum.L этанолон хандын үрэвслийн эсийн эсрэг нөлөөг тодорхойлсон дүн:

Хулганы RAW264.7 эсийг липополисахарид-р өдөөж 2 цагийн дараа гишүүнэ (Rheum

undulatum.L) ийн этанол, метанолон хандыг 25, 50, 100, 200, 400µг/мл нэмсэн. Эерэг болон сөрөг хяналт авсан ба эерэг хяналтаар липополисахаридаар өдөөгдсөн эсийг туршилтад ашигласан болно [8] (Figure 3).

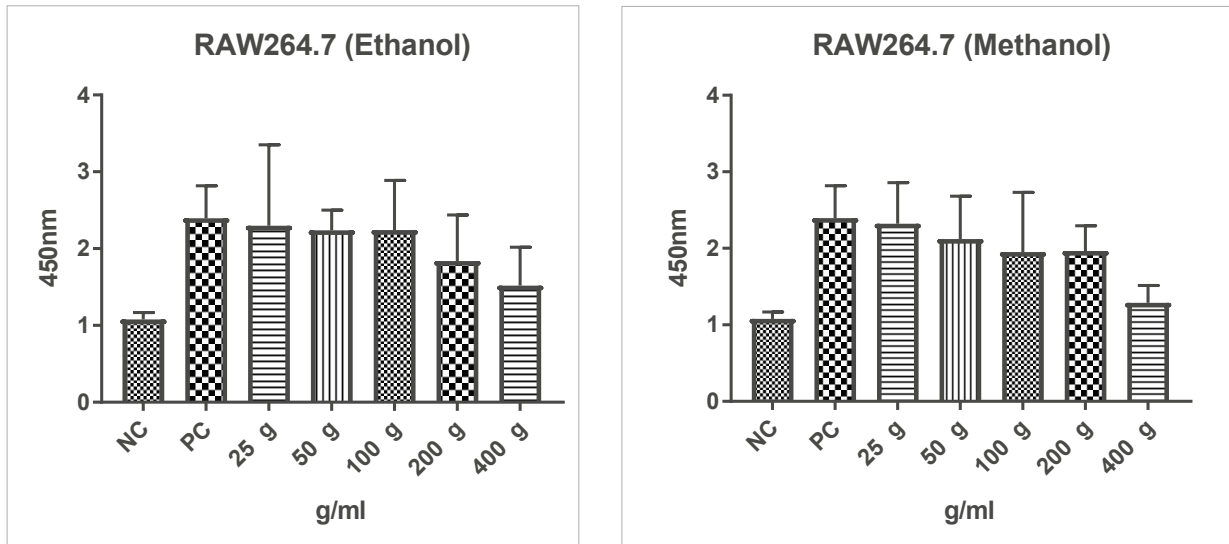


Figure 3. Cell viability of RAW264.7 macrophage cells, after treatment 24hours

Хавдрын эсийн уургийн нийлэгжлийг Western Blot-арга зүйгээр тодорхойлсон дүн:

Хорт хавдрын эсрэг үйлчлэлийг PARP, p-AKT, BCL2, BAX, B-Actin маркер генүүдийн

нийлэгжлийн хөдлөл зүйг Western blot-ийн аргаар тодорхойлоход BAX, Akt уургуудын нийлэгжил Долгионтсон гишүүний этанолон хандын нөлөөгөөр буурсан (Figure4).

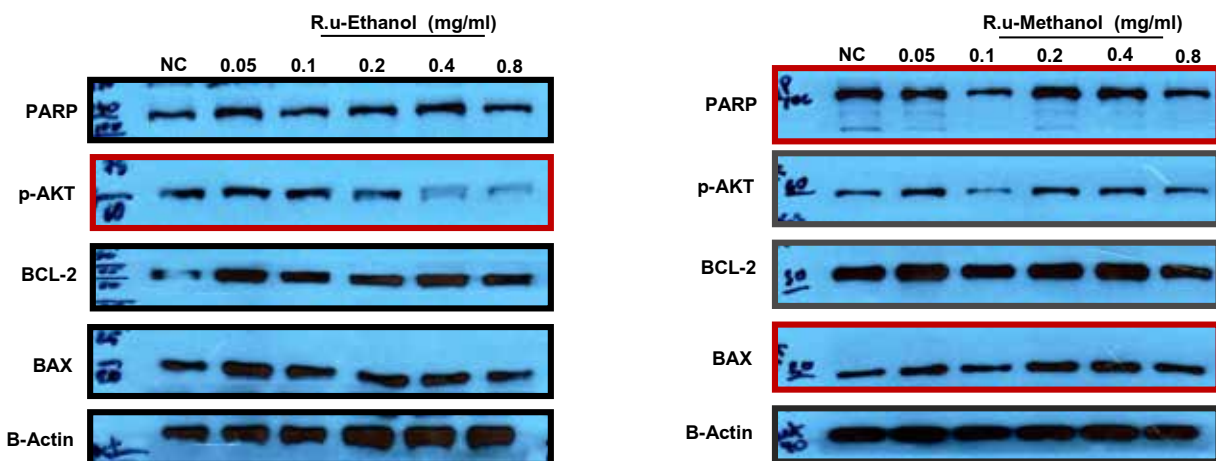


Figure 4. Protein expression of B16F10 murine melanoma cells, after treatment 24 hours

Хавдрын эсийн ДНХ-задралын фракцийн дүн:

B16F10 хорт хавдрын эсэд Долгионтсон гишүүний этанолон хандыг 50, 100, 200, 400, 800 µг/мл тунгаар нэмж 24, 48 цагийн дараа

эсээс ДНХ ялган задралыг 1.5%-ийн гел бэлтгэн электрофорез гүйлгэхэд тун өсөх тусам хавдрын эсийн ДНХ уусалтыг зурагт үзүүлсэн ба хавдрын эсийн ДНХ-д Долгионтсон гишүүнэ ургамлын ханд нь нөлөөлж задралыг үүсгэж байна (Figure 5).

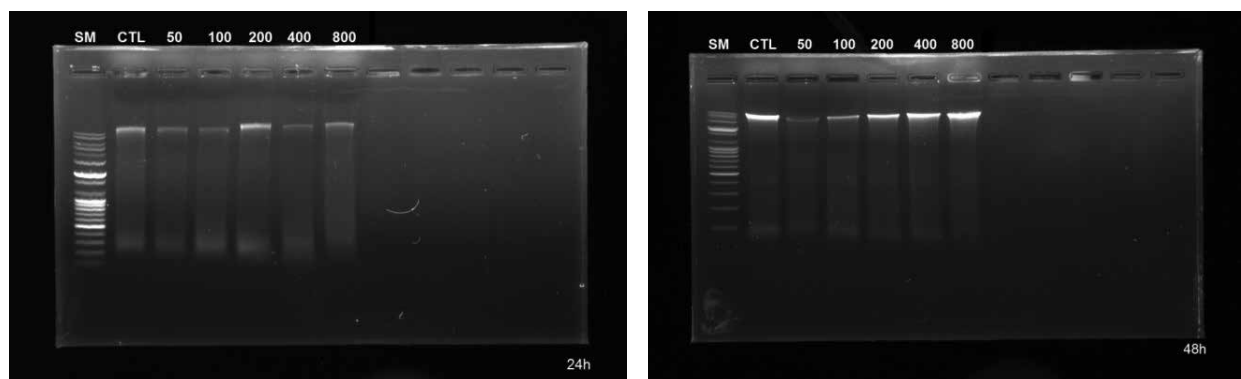


Figure 5. DNA-fragmentation of R.u extract- treated B16F10 murine melanoma cells

Хэлцэмж:

Hyun-Sun Lee, Jeong-Keun Kim, Keun-Tae Park, Young-Hee Lim нарын 2012 онд Долгионтсон гишүүнээс ялгасан рапонтин-ийг цэвэршүүлж рапонтигенинийг гарган авсан. Хархны арьсны хорт хавдрын B16F10-эсийг MHS (меланоцит-ийг өдөөгч гормон)-р өдөөж гишүүний метанолон хандыг нэмэхэд тирозины идэвхжил буурч рапонтигенин нь рапонтиноос илүү нөлөөтэй байсан байна [9].

Уламжлалт анагаах ухаанд гишүүний эм бэлдмэлийг гарган авахын тулд энэхүү судалгааг мөн дээрхи судалгааны дагуу хавдрын эсрэг үйлчилгээтэй бодисыг тусгайлан ялган авч хавдрын эсэд үйлчлүүлж үргэлжлүүлэн судлах шаардлагатай юм.

Дүгнэлт:

1. Долгионтсон гишүүний (*Rheum undulatum*. L) этанол болон метанолон ханд нь хархны арьсны хорт хавдрын B16F10 эсийн олшролт ба үсэрхийллийн эсрэг үйлчилгээ үзүүлж байна.
2. Мөн LPS- ээр өдөөгдсөн үрэвслийн RAW264.7 эсэд үрэвслийн эсрэг үйлчилгээг үзүүлж байна.
3. Долгионтсон гишүүний (*Rheum undulatum*. L) этанолон ханд нь хавдрын эсийн ДНХ-г гэмтээж задралыг үүсгэж байна.
4. Долгионтсон гишүүний (*Rheum undulatum*. L) этанол болон метанолон ханд нь B16F10-хархны арьсны хорт хавдрын эсийн апоптозис үхэл үүсгэх уургийн нийлэгжлийг дэмжиж, олшролтыг дэмжих уургийн нийлэгжлийг бууруулж байв.

Ном зүй:

1. Н.Алимаа “Химийн хорт бодисыг ашиглан хулганад арьсны хавдрын загварыг үүсгэн

фотодинамик аргаар оношлосон дүн”, Анагаах ухааны магистрын зэрэг горилсон бүтээл, 2015, х9-15

2. Г.Мөнгөнбагана, С.Отгонпүрэв “Гишүүнэ (*Rheum undulatum*.L)-ийн полисахаридын бүтэц шинж чанар ба хүнсний нэмэлтээр ашиглах нь”, Хөдөө аж ахуйн их сургууль, магистрын зэрэг горилсон бүтээл, 2015, х2-5
3. Монгол улсын хорт хавдраар өвчлөгсдийн тайлан, Нийгмийн эрүүл мэндийн хүрээлэн, 2015, х14-18
4. Монгол улсын үндэсний фармакопей, Улаанбаатар, 2011, х465
5. Б.Цэнгэл, П.Батхуяг “Гишүүнэ 3 тангийн хорон чанарын судалгаа” Онош сэтгүүл 2006.No3,(031), х2-3
6. BaatartsogtOyungerel, Heekyong Lim, Chi-Ho Lee, Eun-Hee Choi, Guan-Hao Li and Kang-Duk Choi “Anti-inflammatory Effects of *Magnolia sieboldii* Extract in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW264.7 Macrophages” *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* December 2013; 12 (6): 905-912
7. BaatartsogtOyungerel, P.K. Mandal, K. Choi, Hee-kyong Lim, Chi-Hoo Lee, Jung-heon Lee and Kang-duk, Choi. Differential Expression of Immuno-inflammatory Genes in Synovial Cells from Knee after Inducing Post-traumatic Arthritis in Swine. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2011. 6: 333-343.
8. BaatartsogtOyungerel, Seungyun Chung, Do-Young Yoon, Tae-Young Han, Il-Young Han, Kee-Tae Kweon, Kyeng-Min Kim, Gwang-Joo Jeon & Kang-Duk Choi “C5 extract induces apoptosis in B16F10 murine melanoma cells through extrinsic and intrinsic pathways and Sub-G1 phase arrest” *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* June 2015; 14 (6): 967-976

9. Baasanjav Batmunkh, Emil Joseph S. Vergara, Baatartsogt Oyungerel and Seong Gu Hwang "Chemotherapeutic potential of snow lotus (*Saussurea involucreata*) crude ethanol extracts against human colorectal cancer through anti proliferative and anti-inflammatory activities in HT-29 colorectal cancer and RAW 264.7 murine macrophage cells" *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; August 2015; 1819-1828
10. Hyun-Sun LEE, Jeong-Keun KIM, Keun-Tae PARK & Young-Hee LIM "Rhapontigenin converted from Rhapontin purified from *Rheum undulatum* enhances the inhibition of melanin synthesis" *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* ISSN: 0916-8451, 1347-6947
11. Ji-Young Hong, Hwa-Jin Chung, Song Yi Bae, Trinh Nam Trung, KiHwan Bae, Sang Kook Lee "Induction of Cell Cycle Arrest and Apoptosis by Physcion, an Anthraquinone Isolated From Rhubarb (Rhizomes of *Rheum tanguticum*), in MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cells" *Journal of cancer prevention* Vol. 19, No. 4, December, 2014; 19:2 73-278
12. Lee HZ, Hsu SL, Liu MC, Wu CH "Effects and mechanisms of aloe-emodin on cell death in human lung squamous cell carcinoma" *Eur J Pharmacol* November 2001; 23;431(3):287-95.
13. Sun M, Wang X, Tu C, Wang S, Qu J, Xiao S "MicroRNA-216b inhibits cell proliferation and migration in human melanoma by targeting FOXM1 in vitro and in vivo" *Cell Biol Int*. 2017 Feb 22. 10.1002/cbin.10754
14. Yesol Bak, Sunyoung Ham, O. Baatartsogt, Seunghyun Jung, Kang-Duk Choi, Tae-Young Han, Il-Young Han, Do-Young Yoon "A1E inhibits proliferation and induces apoptosis in NCI-H460 lung cancer cells via extrinsic and intrinsic pathways" *Molecular Biology Reports* 2013. 40:4507–4519.
15. Yu HM, Liu YF, Cheng YF, Hu LK, Hou M "Effects of rhubarb extract on radiation induced lung toxicity via decreasing transforming growth factor-beta-1 and interleukin-6 in lung cancer patients treated with radiotherapy" *Lung cancer* February 2008; 59(2):219-26

*Танилцаж, нийтлэх санал өгсөн:
Анагаах ухааны доктор, профессор
Ч.Чимэдрагчаа*