

小叶莲提取物抗乳腺肿瘤活性研究[△]

郭帅^{1*}, 王璐¹, 苏丹¹, 孔越^{1,2}, 尚明英^{1#}, 蔡少青¹(1. 北京大学医学部药学院天然药物学系生药研究室, 北京 100191; 2. 国家知识产权局专利局专利审查协作北京中心, 北京 100190)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)07-0577-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.07.01

摘要 目的: 研究小叶莲提取物抗乳腺肿瘤活性。方法: 培养人乳腺癌细胞 MCF-7 和 MDA-MB-231, 每孔分别加入 1、25、50、100 μg/ml 小叶莲乙醇提取物(X₁)、乙酸乙酯提取物(X₂)、正丁醇提取物(X₃), 6.25、12.5、25、50、100 μmol/L 8, 2'-二异戊烯基槲皮素-3-甲醚(S₁)、槲皮素(S₂), 测定各成分对癌细胞的抑制率。裸小鼠腋下注射 MCF-7 人乳腺癌细胞以复制荷瘤小鼠模型。模型小鼠分别灌胃给予等容生理盐水(模型组)、15 mg/kg 环磷酰胺(环磷酰胺组)、500 mg/kg X₁(X₁组)、500 mg/kg X₂(X₂组)、500 mg/kg X₃(X₃组), 每天 1 次, 连续 15 d, 测定小鼠体重、瘤质量, 计算瘤质量抑制率。模型小鼠分别灌胃给予等容生理盐水(模型组)、15 mg/kg 环磷酰胺(环磷酰胺组)、15 mg/kg S₁(S₁组)、15 mg/kg S₂(S₂组), 每天 1 次, 连续 9 d, 测定小鼠瘤体积, 计算瘤体积抑制率。结果: 1、25、50、100 μg/ml X₁、X₂ 与 12.5、25、50、100 μmol/L S₁、S₂ 对 MCF-7 人乳腺癌细胞有较强抑制作用; 各成分对 MDA-MB-231 细胞抑制作用均较弱。与模型组比较, X₁组、X₂组、X₃组小鼠瘤质量抑制率升高, 差异有统计学意义(P<0.05 或 P<0.01)。与模型组比较, S₁组、S₂组小鼠瘤质量抑制率、瘤体积抑制率升高, 差异有统计学意义(P<0.05 或 P<0.01)。结论: 小叶莲提取物有一定的抗乳腺肿瘤活性。

关键词 小叶莲提取物; 8, 2'-二异戊烯基槲皮素-3-甲醚; 槲皮素; 人乳腺癌细胞; 裸鼠移植瘤

Study on Anti-breast Tumor Activity of *Sinopodophyllum hexandrum* Extracts

GUO Shuai¹, WANG Lu¹, SU Dan¹, KONG Yue^{1,2}, SHANG Ming-ying¹, CAI Shao-qing¹(1. Division of Pharmacognosy, Dept. of Natural Medicine, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China; 2. Patent Examination Cooperation Center, State Intellectual Property Office, Beijing 100190, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the anti-breast tumor activity of *Sinopodophyllum hexandrum* extracts. METHODS: Human breast cancer cell line MCF-7 and MDA-MB-231 were treated by 1, 25, 50 and 100 μg/ml ethanol extract of *S. hexandrum*(X₁), ethyl acetate extract of *S. hexandrum*(X₂) and n-butanol extract of *S. hexandrum*(X₃), 6.25, 12.5, 25, 50 and 100 μmol/L 8, 2'-diprenylquercetin-3-methyl ether(S₁) and quercetin(S₂). The inhibitory rate of tumor was detected. Tumor bearing mice was induced by subaxillary injection of human breast cancer cell line MCF-7. Tumor bearing mice were given constant volume of normal saline intragastrically (model group), 15 mg/kg cyclophosphamide(cyclophosphamide group), 500 mg/kg X₁(X₁ group), 500 mg/kg X₂(X₂ group), 500 mg/kg X₃(X₃ group), once a day for consecutive 15 days. Inhibitory rate of tumor weight, body weight, tumor weight and inhibitory rate were determined. Tumor bearing mice were divided into model group(constant volume of normal saline), cyclophosphamide group(15 mg/kg), S₁ group(15 mg/kg) and S₂ group(15 mg/kg). They were given relevant medicines intragastrically once a day for consecutive 9 days. Inhibitory rate of tumor volume, tumor volume of mice was detected. RESULTS: 1, 25, 50, 100 μg/ml X₁ and X₂, 12.5, 25, 50, 100 μmol/L S₁ and S₂ significantly inhibited the growth of human breast cancer cell line MCF-7, while they inhibited MDA-MB-231 slightly. Compared with model group, inhibitory rate of X₁ group, X₂ group and X₃ group were all increased significantly; there was statistically significance(P<0.05 or P<0.01). Compared with model group, inhibitory rate of tumor volume and tumor weight of S₁ group and S₂ group were decreased significantly; there was statistical significance(P<0.05 or P<0.01). CONCLUSIONS: *S. hexandrum* extracts show some anti-breast tumor activity.

KEYWORDS *Sinopodophyllum hexandrum* extracts; 8, 2'-diprenylquercetin-3-methyl ether; Quercetin; Human breast cancer cell; Nude mice transplantable tumor

小叶莲系常用藏药, 为小檗科桃儿七 *Sinopodophyllum*

△ 基金项目: 国家科技重大专项重大新药创制项目(No. 2013ZX09103002-006)

* 硕士研究生。研究方向: 天然药物化学。E-mail: 384603212@qq.com

通信作者: 副教授, 博士。研究方向: 生药学。电话: 010-82802534。E-mail: myshang@bjmu.edu.cn

hexandrum (Royle) Ying 干燥成熟果实, 不但具有活血调经的功能^[1], 还有明显的抗肿瘤活性^[2]。笔者所在课题组前期研究发现, 小叶莲乙醇提取物(X₁)以及主要成分 8, 2'-二异戊烯基槲皮素-3-甲醚(S₁)对于人乳腺癌细胞增殖有抑制作用^[3-4]。为此, 拟继续对 X₁、小叶莲的乙酸乙酯提取物(X₂)、小叶莲正丁醇提取物(X₃)以及小叶莲主要成分 S₁ 和槲皮素(S₂)进行体内、外抗乳腺肿瘤活性研究, 旨在阐明小叶莲抗乳腺癌活性作用

和其物质基础,为新药研发和临床用药提供依据。其中,小叶莲不同极性提取物和异戊烯基黄酮类化合物的体内抗乳腺癌肿瘤研究尚属首次报道。

1 材料

1.1 仪器

超净工作台(北京伟达净化厂);CP214型电子天平(美国Ohaus公司);培养箱(德国Binder公司);流式细胞仪(美国BD Pharmingen公司);VersaMax型酶标仪(美国Molecular Devices公司);CKX31型倒置显微镜(日本Olympus公司);96孔板(美国Corning Costar公司)。

1.2 药材

小叶莲,2009年10月购于青海晶珠藏药公司,产地为青海,凭证标本(编号:6339)存放于北京大学医学部药学院生药标本室。

1.3 药品与试剂

磷酰胺(CTX,美国Acros Organics公司,批号:A1064185);碘化丙锭(PI)、磺酰罗丹明B、核糖核酸酶RNase(美国Sigma公司);1640培养基、胎牛血清(美国Gibco公司);二甲基亚砜(DMSO)、羧甲基纤维素钠(CMC-Na)均为分析纯,购自北京化工厂。

1.4 动物与细胞株

Balb/c裸小鼠,♀,4~6周龄,体质量(19.0±2.5)g,由北京大学医学部实验动物中心提供[实验动物使用许可证:SCXK(京)2011-0012]。人乳腺癌细胞株MCF-7、MDA-MB-231均由北京大学医学部药学院药剂学系吕万良教授惠赠。

2 方法

2.1 小叶莲提取物的制备

取小叶莲干燥药材17.5 kg,粉碎为粗粉,以8倍量的95%乙醇回流提取2次,每次2 h,50%乙醇提取1 h,提取液合并后浓缩至基本无醇味,得到4.17 kg X₁。取4.01 kg X₁,加蒸馏水12 L至完全悬浮后,依次用等倍体积乙酸乙酯、水饱和正丁醇各提取5次。提取液分别减压回收溶剂,得各提取物。其中,X₂为深棕色浸膏1150.0 g,X₃为红棕色浸膏794.8 g。分别取X₁、X₂、X₃各10 g,制成冻干粉,备用。每1 g X₁相当于原生药4.19 g,每1 g X₂相当于原生药14.5 g,每1 g X₃相当于原生药20.9 g。S₁和S₂为笔者从小叶莲中分离得到并经结构鉴定,二者纯度>98.0%。

2.2 溶液的制备

2.2.1 小叶莲提取物溶液的制备 取X₁、X₂、X₃冻干粉适量,以蒸馏水制备成质量浓度为100 mg/ml的蒸馏水贮备液(供动物实验用);以DMSO制备成质量浓度为10 mg/ml的DMSO贮备液(供体外细胞实验用)。

2.2.2 S₁和S₂溶液的制备 取S₁和S₂适量,以0.5% CMC-Na制备成质量浓度为1.5 mg/ml的0.5%溶液(供动物实验用);以DMSO制备成浓度为10 μmol/ml的DMSO贮备液(供体外细胞实验用)。

2.3 小叶莲提取物对人乳腺癌细胞MCF-7、MDA-MB-231的抑制作用

人乳腺癌细胞MCF-7、MDA-MB-231复苏后,于37℃、5% CO₂细胞培养箱中培养,2~3 d传代培养。将处于对数生长期的贴壁肿瘤细胞以200 μl/孔接种于96孔培养板,每孔

8 000个细胞。贴壁生长24 h后给药。制备4种质量浓度的X₁、X₂、X₃溶液(1、25、50、100 μg/ml)和4种浓度的S₁和S₂溶液(12.5、25、50、100 μmol/L)。每个浓度设3个复孔。48 h取出培养板,每孔加入10% (m/V)的三氯乙酸(TCA) 100 μl固定细胞,4℃放置1 h。弃固定液,用蒸馏水洗涤5次,空气中自然干燥,每孔加磺酰罗丹明B溶液100 μl,室温下放置10~30 min。用1%醋酸洗涤5次,自然干燥。最后加入150 μl/孔 Tris溶液,在平板振荡器上振荡5 min。用酶标仪在515 nm波长处测定光密度(OD),用空白对照调零。以细胞内加DMSO作模型对照。按下式计算肿瘤细胞生长的抑制率:抑制率=(OD_{模型对照}-OD_{给药})/OD_{515模型对照}×100%。

2.4 小叶莲提取物对荷瘤小鼠MCF-7移植瘤的抑制作用

2.4.1 模型的复制 人乳腺癌细胞MCF-7复苏后,置37℃、5% CO₂细胞培养箱中培养,2~3 d传代培养。将贴壁细胞用PBS洗2次,用0.25%胰酶消化,1640培养基(含10%血清)终止消化后,吹打成细胞悬液,计数,离心收集,PBS洗2次,离心收集。加入PBS,使细胞密度为5×10⁷ ml⁻¹,每只裸小鼠腋下注射200 μl。正常喂养4 d后,裸小鼠腋下长出肿瘤块。处死裸小鼠,无菌操作下取瘤块,除去边缘坏死组织部分。将取下的瘤块以相同大小(3 mm³)包埋于每只裸小鼠右侧腋窝皮下。

2.4.2 分组与给药 (1)X₁对荷瘤小鼠移植瘤的抑制作用:实验分为3组,即模型组(等容生理盐水)组、X₁(500 mg/kg)组、CTX(15 mg/kg)组。复制模型第2天后ig给药,每天1次,连续15 d。末次给药1 d后处死小鼠,先称体质量,后解剖皮下瘤块,称瘤质量。裸小鼠实际体质量为所称体质量减去瘤质量。计算瘤质量抑制率[瘤质量抑制率(%)=(1-用药组平均瘤质量/模型组平均瘤质量)×100%]。(2)X₂、X₃对荷瘤小鼠移植瘤的抑制作用:实验分为4组,即模型(等容生理盐水)组、X₂(500 mg/kg)组、X₃(500 mg/kg)组、CTX(15 mg/kg)组。给药与指标检测同“2.4.2(1)”项下方法。(3)S₁和S₂对荷瘤小鼠移植瘤的抑制作用:实验分为4组,即模型组(等容生理盐水)组、S₁(15 mg/kg)组、S₂(15 mg/kg)组、CTX(15 mg/kg)组,ig给药,每天1次,连续9 d。瘤质量抑制率计算方法同“2.4.2(1)”项下。给药后第3、6、9天分别测量瘤体积。以数显游标卡尺分别测量移植瘤的长径和短径,计算平均瘤体积[肿瘤体积=(长径×短径²)/2。]和瘤体积抑制率[瘤体积抑制率(%)=(1-用药组平均瘤体积/模型组平均瘤体积)×100%]^[5-6]。

2.5 统计学方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 21.0统计学软件进行数据分析。多组间单因素比较先用单因素分析其正态分布,后以LSD法进行统计。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 小叶莲提取物对人乳腺癌细胞MCF-7、MDA-MB-231的抑制作用

X₁、X₂可较强抑制人乳腺癌细胞MCF-7,X₃的抑制作用较弱,3种提取物的半数抑制浓度(IC₅₀)分别为39.51、55.18、89.10 μg/ml。X₁、X₂、X₃对人乳腺癌细胞MDA-MB-231的抑制作用较弱,IC₅₀分别为101.70、96.09、196.00 μg/ml。S₁、S₂对人乳腺癌细胞MCF-7有较强抑制作用,IC₅₀分别为17.67、39.87 μmol/L;S₁、S₂对人乳腺癌细胞MDA-MB-231的抑制作用较弱,IC₅₀分别为36.33、58.76 μmol/L。小叶莲提取物、S₁、S₂对人乳腺癌细胞MCF-7和MDA-MB-231的抑制作用分别见表1、表2。

表1 小叶莲提取物对人乳腺癌细胞MCF-7和MDA-MB-231的抑制作用(% , $\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 1 Inhibitory effect of *S. hexandrum* extracts on human breast cancer cell line MCF-7 and MDA-MB-231 (% , $\bar{x} \pm s, n=3$)

质量浓度, μg/ml	人乳腺癌细胞MCF-7			人乳腺癌细胞MDA-MB-231		
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃
1	26.25±5.30	26.85±3.61	29.11±3.02	5.24±4.84	7.53±7.58	-5.34±6.72
25	38.63±6.80	34.94±4.76	34.10±7.10	14.32±6.37	13.29±5.16	24.80±6.01
50	52.63±3.79	44.33±4.83	44.01±6.94	37.36±4.17	42.12±3.78	33.58±7.69
100	59.47±2.11	59.52±5.23	53.76±8.89	55.13±4.85	52.09±4.25	45.77±4.92

表2 S₁、S₂对人乳腺癌细胞MCF-7和MDA-MB-231的抑制作用(% , $\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 2 Inhibitory effect of S₁, S₂ on human breast cancer cell line MCF-7 and MDA-MB-231 (% , $\bar{x} \pm s, n=3$)

浓度, μmol/L	人乳腺癌细胞MCF-7		人乳腺癌细胞MDA-MB-231	
	S ₁	S ₂	S ₁	S ₂
12.5	42.13±8.37	28.89±4.40	18.75±6.77	13.75±4.44
25	62.45±6.33	42.64±3.96	23.01±2.74	13.01±2.74
50	65.39±8.61	45.62±5.54	51.95±5.89	26.95±5.61
100	87.05±3.46	72.50±3.32	81.34±8.62	76.34±3.93

3.2 小叶莲提取物对荷瘤小鼠MCF-7移植瘤的抑制作用

与模型组比较, X₁组、X₂组、X₃组、S₁组、S₂组荷瘤小鼠MCF-7移植瘤质量减轻, 瘤质量抑制率明显升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。S₁、S₂对荷瘤小鼠MCF-7移植瘤体积的抑制作用相似。与模型组比较, 第3~6天, S₁组瘤体积抑制率大于CTX组及S₂组; 第6~9天, 模型组移植瘤体积继续增长, 而S₁组移植瘤体积未增大, S₂组移植瘤体积减小。X₁、X₂、X₃对荷瘤小鼠MCF-7移植瘤的抑制作用分别见表3、表4; S₁、S₂对荷瘤小鼠MCF-7移植瘤质量、体积的抑制作用分别见表5、表6。

表3 X₁对荷瘤小鼠MCF-7移植瘤的抑制作用($\bar{x} \pm s, n=7$)

Tab 3 Inhibitory effect of X₁ on MCF-7 transplantable tumor ($\bar{x} \pm s, n=7$)

组别	n	体质量/g			瘤质量/g	瘤质量抑制率,%
		给药前,g	给药后,g	增量,g		
模型组	7	18.36±0.48	21.29±0.86	2.93±1.13	0.61±0.18	
X ₁ 组	7	18.07±1.13	21.57±1.34	3.50±0.76	0.32±0.14**	47.54*
CTX组	7	18.57±1.37	20.93±1.54	2.36±1.68	0.33±0.08**	45.90*

与模型组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

vs.model group: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

表6 S₁、S₂对荷瘤小鼠MCF-7移植瘤体积的抑制作用($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 6 Inhibitory effect of S₁ and S₂ on tumor volume of MCF-7 transplantable tumor ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	n	第3天		第6天		第9天	
		瘤体积, mm ³	瘤体积抑制率, %	瘤体积, mm ³	瘤体积抑制率, %	瘤体积, mm ³	瘤体积抑制率, %
模型组	6	52.27±12.65		70.75±18.60		96.45±14.58	
S ₁ 组	6	15.69±2.81**	69.97±5.37	30.54±6.54**	57.12±14.20	29.31±9.33*	67.58±9.68**
S ₂ 组	6	28.36±6.47**	45.71±12.40	34.65±5.39*	51.01±7.62	31.34±10.94**	65.34±11.35*
CTX组	6	19.48±5.99**	62.71±11.46	30.32±10.05**	56.83±9.24	11.99±3.95**	86.74±4.10**

与模型组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

vs.model group: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

合物不仅在离体实验中活性较好, 同时在体内实验中也有较好的活性, 推测与异戊烯基黄酮的类雌激素作用相关。

从传统医药中寻找具有活性的天然产物作为先导化合物是创新药物的研究方向之一。本研究结果可为小叶莲的开发

表4 X₂、X₃对荷瘤小鼠MCF-7移植瘤的抑制作用($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 4 Inhibitory effect of X₂, X₃ on MCF-7 transplantable tumor ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	n	体质量,g			瘤质量,g	瘤质量抑制率,%
		给药前,g	给药后,g	增量,g		
模型组	6	20.05±1.26	23.31±1.10	3.27±0.48	2.56±0.60	
X ₂ 组	6	22.31±1.28	25.08±1.35	2.77±0.67	1.26±0.29**	50.98**
X ₃ 组	6	21.63±0.58	25.60±1.86	3.97±1.54	1.88±0.62**	26.56**
CTX组	6	19.85±1.3	23.38±2.16	3.53±1.11	1.50±0.31**	41.34**

与模型组比较: ** $P<0.01$

vs.model group: ** $P<0.01$

表5 S₁、S₂对荷瘤小鼠MCF-7移植瘤质量的抑制作用($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 5 Inhibitory effect of S₁, S₂ on tumor weight of MCF-7 transplantable tumor ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	n	体质量,g			瘤质量,g	瘤质量抑制率,%
		给药前,g	给药后,g	增量,g		
模型组	6	16.90±0.70	18.50±1.06	1.68±0.50	0.150 3±0.022 7	
S ₁ 组	6	17.17±0.87	19.07±1.12	1.90±0.37	0.025 7±0.008**	66.47**
S ₂ 组	6	17.05±0.59	19.72±0.59	2.67±0.27	0.030 7±0.008**	68.10**
CTX组	6	16.98±0.88	19.32±1.12	2.33±0.38	0.014 8±0.004 9**	86.74**

与模型组比较: ** $P<0.01$

vs.model group: ** $P<0.01$

4 讨论

X₁、X₂对人乳腺癌细胞MCF-7、MDA-MB-231以及荷瘤小鼠移植瘤有较强的抑制作用, 与其主要成分为木质素和黄酮有关。而X₃对人乳腺癌细胞MCF-7、MDA-MB-231以及荷瘤小鼠移植瘤的抑制作用均较弱, 可能因为X₃虽然含有黄酮苷和木脂素苷类化合物, 但同时含有大量大分子物质, 掩盖了其活性, 因此抗肿瘤作用不明显。

黄酮类化合物被认为具有植物雌激素作用以及线粒体毒性^[7-8], 具有较好的抗肿瘤活性^[9]。S₁对人乳腺癌细胞MCF-7的抑制作用强于S₂, 可能是因为异戊烯基取代所致^[10]。而S₂为S₁的黄酮母核, 对于多种细胞株在体内、外均有较好的抑制作用^[11], 从而证明研究S₁的体内、外抗肿瘤活性有一定意义。

乳腺癌为女性常见肿瘤之一, 目前运用类雌激素替代治疗越来越受到重视。而黄酮类化合物具有类雌激素的生物活性, 并且对乳腺癌有抑制作用。通过比较S₁和S₂对激素依赖性人乳腺癌细胞株体外细胞增殖抑制作用以及对裸小鼠移植瘤的抑制作用, 初步得出结论: 具有异戊烯基取代的黄酮类化

和利用提供依据。

(致谢: 感谢北京大学医学部实验动物部张云凤老师对实验的支持!)

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010年

木犀草素对肝星状细胞迁移和增殖的影响^Δ

李 婕^{1,2*}, 李星霞¹, 霍 炎¹, 杨全军¹, 郭 澄^{1,2#}(1.上海交通大学附属第六人民医院药剂科, 上海 200233; 2. 上海交通大学药学院, 上海 200240)

中图分类号 R965;R979.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)07-0580-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.07.02

摘要 目的:研究木犀草素对肝星状细胞迁移的影响。方法:体外培养肝星状T6(HSC-T6)细胞,细胞计数Kit8(CCK-8)法检测0、10、20、40 μmol/L木犀草素对HSC-T6细胞增殖的影响;通过划痕实验、Transwell实验观察0、10、20、40 μmol/L木犀草素对HSC-T6细胞迁移能力的影响;蛋白印迹法检测木犀草素对细胞外信号调节激酶(ERK)5蛋白磷酸化水平的影响。结果:20、40 μmol/L木犀草素能明显抑制HSC-T6细胞的增殖($P<0.05$);10、20、40 μmol/L木犀草素能明显抑制HSC-T6细胞划痕的修复($P<0.05$);10、20、40 μmol/L木犀草素能明显抑制HSC-T6细胞穿膜($P<0.05$);10、20、40 μmol/L木犀草素能明显抑制细胞中由血清诱导的去磷酸化(p)-ERK5表达($P<0.05$)。结论:木犀草素呈浓度依赖性抑制HSC-T6细胞的增殖和迁移,其机制可能与抑制ERK5蛋白磷酸化水平有关。

关键词 木犀草素;肝星状细胞;迁移;细胞外信号调节激酶5

Effects of Luteolin on the Migration and Proliferation of Hepatic Stellate Cells

LI Jie^{1,2}, LI Xing-xia¹, HUO Yan¹, YANG Quan-jun¹, GUO Cheng^{1,2}(1.Dept. of Pharmacy, Shanghai Sixth People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China; 2.School of Pharmacy, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of luteolin on the migration of hepatic stellate cells cell line (HSC-T6 cells). METHODS: HSC-T6 cells were cultured in vitro. CCK-8 assay was used to measure the effects of 0, 10, 20, 40 μmol/L luteolin on the proliferation of HSC-T6 cells; Scratch test and Transwell metastasis experiment were applied to observe the effects of 0, 10, 20, 40 μmol/L luteolin on the migration ability of HSC-T6 cells; phosphorylation level of ERK5 was detected by Western blot. RESULTS: 20, 40 μmol/L luteolin could significantly inhibit the proliferation of HSC-T6 cells($P<0.05$); 10, 20, 40 μmol/L luteolin inhibited scratch repair of HSC-T6 cells significantly and decreased the number of HSC-T6 cells passing through cell membrane ($P<0.05$); the expression of p-ERK5 in HSC-T6 cells was inhibited by 10, 20, 40 μmol/L luteolin significantly($P<0.05$). CONCLUSIONS: Luteolin inhibit the proliferation and migration of HSC-T6 cells in dose-dependent manner, which may be associated with the inhibition of ERK5 phosphorylation in HSC-T6 cells.

KEYWORDS Luteolin; Hepatic stellate cells; Migration; ERK5

- 版.北京:中国医药科技出版社,2010:43.
- [2] 宗玉英,党合群,骆桂法,等.110种藏药抗肿瘤体外筛选实验研究[J].药学实践杂志,2000,18(5):290.
- [3] Kong Y, Xiao JJ, Meng SC, *et al.* A new cytotoxic flavonoid from the fruit of *Sinopodophyllum hexandrum* [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(5):367.
- [4] 尚明英,孔越,肖军军,等.一种异戊烯基黄酮及其应用:中国,101648934[P].2011-05-11.
- [5] 吴凯南,钟晓刚,马双慰,等.槲皮素对人乳腺癌裸鼠移植瘤的抑制作用及其对血管生成的影响[J].中国肿瘤临床,2003,30(6):434.
- [6] 赵益,孙有智,陈奇,等.肿节风注射液对裸鼠人胃癌SGC-7901移植瘤的抑制及诱导细胞凋亡作用研究[J].中国药房,2009,20(6):412.
- [7] Yadegarynia S, Pham A, Ng A, *et al.* Profiling flavonoid cytotoxicity in human breast cancer cell lines: determination of structure-function relationships [J]. *Nat Prod Commun*, 2012, 7(10):1 295.
- [8] 丛琳,秦占芬,周景明,等.植物雌激素对动物和人体健康的影响[J].环境与健康杂志,2006,23(2):176.
- [9] 尚明英,王庆辉,蔡少青,等.黄酮类化合物的抗乳腺癌用途:中国,102335165[P].2012-02-01.
- [10] Pedro M, lourenco CF, Cidade H, *et al.* Effects of natural prenylated flavones in the phenotypical ER(+)-MCF-7 and ER(-)-MDA-MB-231 human breast cancer cells [J]. *Toxicol Lett*, 2006, 164(1):24.
- [11] Li SZ, Li K, Zhang JH, *et al.* The effect of quercetin on doxorubicin cytotoxicity in human breast cancer cells [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2013, 13(2):352.

(收稿日期:2013-05-25 修回日期:2013-06-31)

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81072687);上海市第六人民医院院级科研基金

* 博士研究生。研究方向:分子药理。E-mail:lijieliqing@163.com

通信作者:主任药师,教授,博士研究生导师。研究方向:中药学。电话:021-24058098。E-mail:gboss@126.com