

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.23.005

文章编号: 1005-8982(2017)23-0023-08

黄芩素抑制白血病细胞增殖的分子机制研究

钱燕

(武汉理工大学医院 公共卫生科,湖北 武汉 430070)

摘要:目的 探讨黄芩素抑制白血病细胞增殖的分子机制。**方法** 用不同终浓度的黄芩素处理多种白血病细胞,通过细胞计数获得不同时间的活细胞数,绘制细胞的生长曲线。采用对黄芩素处理最敏感的 6133/MPL W515L 细胞,探讨黄芩素抑制白血病细胞增殖的分子机制、细胞周期分布及凋亡情况。**结果** 黄芩素能抑制实验中所有白血病细胞的增殖,但对来自小鼠胚胎干细胞非恶变的 G1ME 细胞却无效果,提示黄芩素可能特异性抑制恶变白血病细胞增殖。细胞周期分析显示,不同浓度的黄芩素对 6133/MPL W515L 细胞凋亡的作用不同($P < 0.05$),提示可能导致 6133/MPL W515L 细胞凋亡和将细胞周期阻滞于 G₁ 期。另外,黄芩素可能通过抑制 MAPK/Erk 通路,激活 Caspase-3 的方式诱导细胞凋亡。单独 Z-VAD 不影响细胞增殖,但也不能拯救黄芩素导致的细胞增殖抑制,提示 Caspase 活化可能不是黄芩素抑制细胞增殖的关键通路。**结论** 黄芩素能诱导白血病细胞凋亡和细胞周期阻滞,从而抑制其增殖,可能是有效的抗白血病候选药物。

关键词: 白血病;黄芩素;增殖;凋亡;细胞周期

中图分类号: R285.5;R733.7

文献标识码: A

Study on molecular mechanism by which baicalein inhibits leukemic cell proliferation

Yan Qian

(Department of Public Health, Wuhan University of Technology, Wuhan, Hubei 430070, China)

Abstract: Objective To investigate the molecular mechanism of baicalein inhibiting proliferation of leukemic cells. **Methods** A variety of leukemia cells were treated with different concentrations of baicalein, and the number of viable cells was obtained by cell counting. 6133/MPL W515L cells were used to study the molecular mechanism of baicalein inhibition of cell proliferation, cell cycle distribution and apoptosis. **Results** Baicalein could inhibit the proliferation of all the tested leukemia cells, except for the non malignant G1ME cells from mouse embryonic stem cells, suggesting that baicalein might specifically inhibit the proliferation of malignant leukemia cells. Cell cycle analysis showed that the different concentrations of baicalein had different effect on apoptosis of 6133/MPL W515L cells ($P < 0.05$), suggesting that may lead to the apoptosis of 6133/MPL W515L cells and cell cycle arrest in G₁ phase. In addition, baicalein may induce apoptosis by inhibiting MAPK/Erk pathway and activating caspase-3. Z-VAD alone did not affect cell proliferation, but it could not save the cell proliferation inhibition induced by baicalein, suggesting that caspase activation may not be the key pathway of baicalein inhibiting cell proliferation. **Conclusions** Baicalein can induce apoptosis and cell cycle arrest and inhibit the proliferation of leukemia cells. It may be an effective candidate for anti-leukemia drugs.

Keywords: leukemia; baicalein; proliferation; apoptosis; cell cycle

白血病是威胁人类健康的重大疾病,白血病致病的分子机制和治疗一直是生物医学研究的热点^[1-4]。

从天然物质中寻找毒副作用小,安全有效的治疗白血病的药物,已经成为近些年的研究热点^[5-7]。黄芩

素是黄芩的主要有效成分,具有多种药理作用,如抗氧化、抗肿瘤、抑制醛糖还原酶及抗病毒等,其抗肿瘤作用一直是国内外研究的热点。本文主要探讨黄芩素抑制白血病细胞增殖的分子机制。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 细胞系 6133、6133/MPL W515L、K562、CMK (原始巨核细胞白血病细胞系)、HL-60、HEL、Jurkat (人外周血白血病 T 细胞)、Raji (人淋巴瘤)、U937 (人巨噬细胞系)、G1ME 等细胞系为武汉理工大学医学院实验室所保藏,培养于含 10%胎牛血清的无血清细胞冻存培养基 (roswell park memorial institute 1640, RPMI 1640) 中。

1.1.2 试剂 黄芩素为美国 Sigma 公司产品,纯度为 99.00%,其他化学试剂均为分析纯。

1.1.3 仪器设备 恒温水浴锅 (上海精宏试验设备有限公司),细胞培养箱、小型离心机及高速冷冻离心机购自香港 Healforce 公司,生物安全柜 (苏州安泰空气技术有限公司),基因扩增仪 (美国 Thermo 公司),流式细胞仪 (美国 Beck-man & Coulter 公司生产 Epics XL 流式细胞仪),实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 仪 (美国 ABI7500 定量 PCR 仪),琼脂糖凝胶电泳仪 (北京君意东方设备有限公司),液氮罐 (成都市洪达化工责任有限公司),-80℃、-20℃ 和 4℃ 冰箱均购自青岛海尔集团,XFS-280A 高压灭菌锅 (长沙科怡仪器设备有限公司),DGG-9023AD 电热恒温烘箱 (济南恒旭试验机技术有限公司),凝胶成像分析系统 (北京六一生物科技有限公司),磁力搅拌器 (德国 IKA 公司),XS-205 电子天平、pH 计购自瑞士 Mettler Toledo 公司。

1.1.4 试剂及溶液 胎牛血清 (美国 Hyclone 公司),诱导剂 TPA (美国 Sigma 公司),人源 CD61-FITC 抗体 (美国 Bdbioscience 公司),焦碳酸二乙酯水 (日本 TaKaRa 公司),Trizol (美国 Invitrogen 公司),盐酸 HCl (美国 Sigma 公司),氯仿,异丙醇,乙醇。磷酸盐缓冲溶液 (phosphate buffer saline, PBS) 的配置:称取 0.2 g 氯化钾 KCl、8 g 氯化钠 NaCl、0.24 g 磷酸二氢钾 KH_2PO_4 及 1.44 g 磷酸氢二钠 Na_2HPO_4 溶于 800 ml 蒸馏水中,充分搅拌混匀,溶解后用 HCl 调节溶液 pH 值至 7.4,最后加蒸馏水定容至 1 L。在 103.4 kPa 高压下湿热灭菌 20 min,保存于室温或 4℃ 冰箱中。

RPMI 1640 培养基的复制:将 1 L RPMI 1640 粉末溶于 800 ml 去离子水中,4℃ 搅拌 2 h,加 2.5g 碳酸氢钠 NaHCO_3 ,继续搅拌 30 min。2.5 mol/L HCl 调节 pH 值至 7.0。0.22 μm 无菌滤膜过滤,分装 2 瓶,500 ml/瓶,每瓶取 4 ml 于小青瓶,置于细胞培养箱中培养 48 h,溶液若清澈透明即可使用。RPMI 1640 细胞培养液的配制:将 500 ml RPMI 1640 培养基移出 50 ml,加入胎牛血清 50 ml,并加入 5 ml 青霉素 - 链霉素双抗母液,相同方向摇匀,置于 4℃ 冰箱冷藏备用。

1.2 方法

1.2.1 黄芩素溶液的制备 称取适量黄芩素溶于二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 中制备成 100 mmol/L 储存母液,用 0.22 μm 的一次性针头过滤器过滤,置入 -20℃ 避光保存备用,根据需要 will 母液稀释。

1.2.2 白血病肿瘤细胞的培养 细胞在含 10%胎牛血清、100 IU/L 青霉素 - 链霉素的 RPMI 1640 培养基中,将其置于 37℃、5%二氧化碳 CO_2 的培养箱中培养。

1.2.3 白血病肿瘤细胞的生长曲线 将对数生长的 6133、6133/MPL W515L、6133、K562、CMK、HEL、HL-60、U937、Raji、Jurkat 等白血病细胞,以及 G1ME 细胞制成单细胞悬液,0.5 $\times 10^6$ 个细胞 / 孔接种于 12 孔板中,1 ml/孔;在 37℃、5% CO_2 培养箱中孵育 1 h;加入终浓度为 0、10、20 和 40 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素溶液,每个浓度设 3 个复孔,以不含黄芩素培养基的细胞作为阴性对照,继续培养 24、48 和 72 h,进行细胞计数。

1.2.4 BrdU 渗入法 细胞生长至指数期时,向培养液中加入 BrdU,使最终浓度为 10 $\mu\text{g/ml}$ 。44 h 加秋水仙素 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 。48 h 后常规消化细胞至离心管中,注意培养上清的漂浮细胞也要收集到离心管中。常规染色体制片。染色体玻片置 56℃ 水浴锅盖上,铺上 2 \times SSC 液,距紫外灯管 6 cm 处紫外照射 30 min。弃去 2 \times SSC 液,流水冲洗。Giemsa 液染色 10 min,流水冲洗,晾干。镜检 100 个分裂相,记录第 1 ~ 4 细胞期分裂指数。细胞周期 = $48 / [(M_1 + 2M_2 + 3M_3 + 4M_4) / 100]$ 。

1.2.5 Annexin-V 和碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 染色 将 6133/MPLW 515L 细胞 1 500 r/min 离心 5 min。用 PBS 将细胞洗涤 2 次,1 500 r/min 离心 5 min,收集 2 $\times 10^6$ 个细胞,加入 500 μl Binding Buffer 重悬细胞,加入 5 μl Annexin V-FITC 混匀后再加入 5 μl PI 充分混匀。于室温、避光条件下反

应 5 ~ 15 min。在 1 h 内于激发波长 488 nm,发射波长 530 nm 条件下用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.2.6 PI 染色 将 6133/MPL W515L 细胞 1 500 r/min 离心 5 min, 预冷 PBS 洗涤细胞 2 次, 1 500 r/min 离心 5 min, 收集 2×10^6 个细胞, 加入预冷的 70% 乙醇, 4℃ 固定过夜, 或置入 -20℃ 长期固定。细胞染色, 离心收集细胞, 用 1 ml PBS 洗涤细胞 1 次, 加入 500 μ l PBS(含 50 μ g/ml PI、100 μ g/ml Rnase A、0.2% Triton X-100), 4℃ 避光条件下孵育 30 min。在标准程序条件下用流式细胞仪进行检测, 一般计数 2 ~ 3104 个细胞, 用 Flowjo 软件分析细胞周期。

1.2.7 Western blot 检测 ①蛋白质样品获得: 每个样品收集 10×10^6 个细胞, 1 500 r/min 离心, 去上清液, 用 PBS 重悬洗 2 次, 加 1 ml 放射免疫分析裂解液 Buffer (含有 1/1 000 的蛋白酶抑制剂苯甲基磺酰氟), 裂解 30 min。为使细胞充分裂解, 培养瓶要经常来回摇动。4℃、13 000 r/min 离心 15 min, 取上清液作为样品; ②电泳: 根据目的蛋白大小选择适当浓度的分离胶来制备电泳凝胶, 并进行十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳。将胶片进行扫描或拍照, 用凝胶图象处理系统分析目标带的分子量和净光密度值, 根据净光密度值分析数据。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组比较用 *t* 检验, 多组

间比较用方差分析, *P* < 0.05 为差异统计学意义。

2 结果

2.1 黄芩素对白血病细胞增殖的影响

用终浓度为 40 μ mol/L 的黄芩素处理 6133/MPL W515L、6133、CMK、K562、HL-60、HEL、Jurkat、U937 及 Raji 细胞 48h 后, 发现其细胞增殖率分别为 0.100%、0.150%、0.160%、0.790%、0.955%、0.575%、0.115%、1.055% 及 0.625%, 表明黄芩素对不同组织来源的白血病细胞均有抑制作用。其中 6133/MPL W515L 细胞对其最敏感。此外, 黄芩素对来自胚胎干细胞永生化的 G1ME 细胞却无效果, 表明黄芩素可能特异性地抑制恶变白血病细胞的增殖。见图 1、2。

2.2 黄芩素对 6133/MPL W515L 细胞周期的影响

用终浓度为 0、10 和 20 μ mol/L 的黄芩素作用 6133/MPL W515L 细胞 12 h 后, 其 S 期细胞分别为 56.2、28.4 和 13.8 个, 其 G₁/G₀ 期细胞分别为 21.4、43.0 和 53.8 个, 其 G₂/M 期细胞分别为 10.4、14.3 和 18.4 个。由此可见, 黄芩素处理 6133/MPL W515L 细胞可导致细胞周期阻滞在 G₁/S 期, 相应降低 S 期细胞数, G₂/M 期则没有变化。另外, 通过 PI 染色的方法, 并利用流式细胞仪分析软件 Flowjo 中细胞周期分析功能, 同样可以看到黄芩素处理导致 G₁/G₀ 期细胞增多, S 期细胞减少, G₂/M 期细胞没有变化。由此可见, 黄芩素处理能导致 6133/MPL W515L 细胞

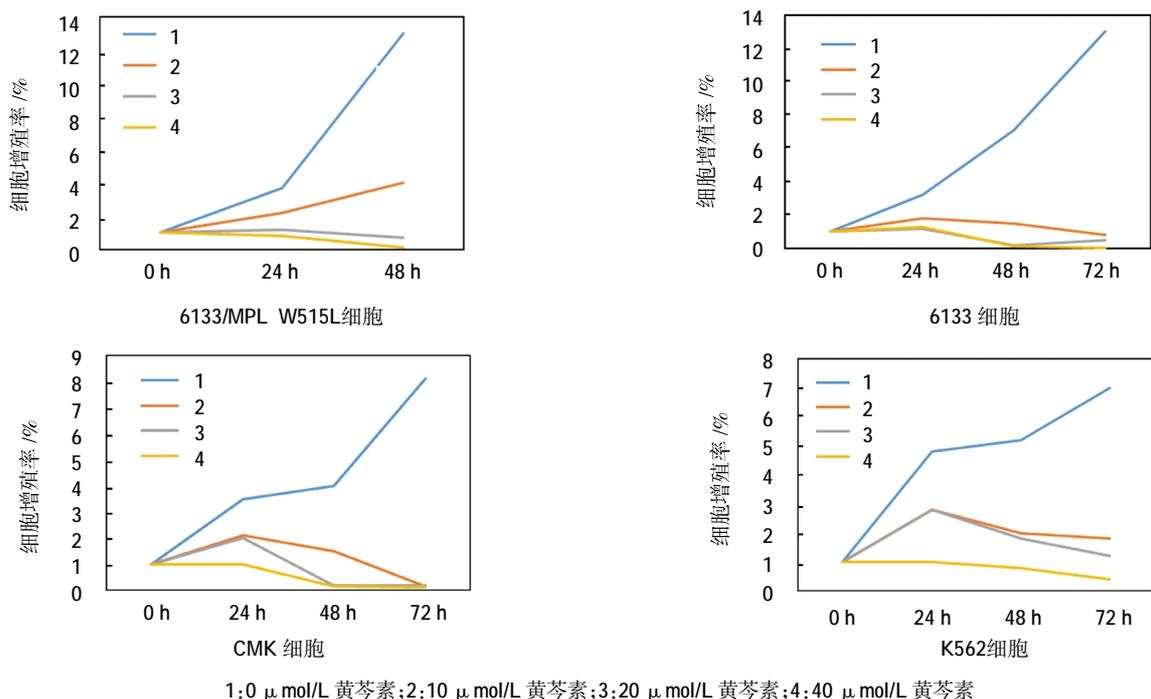
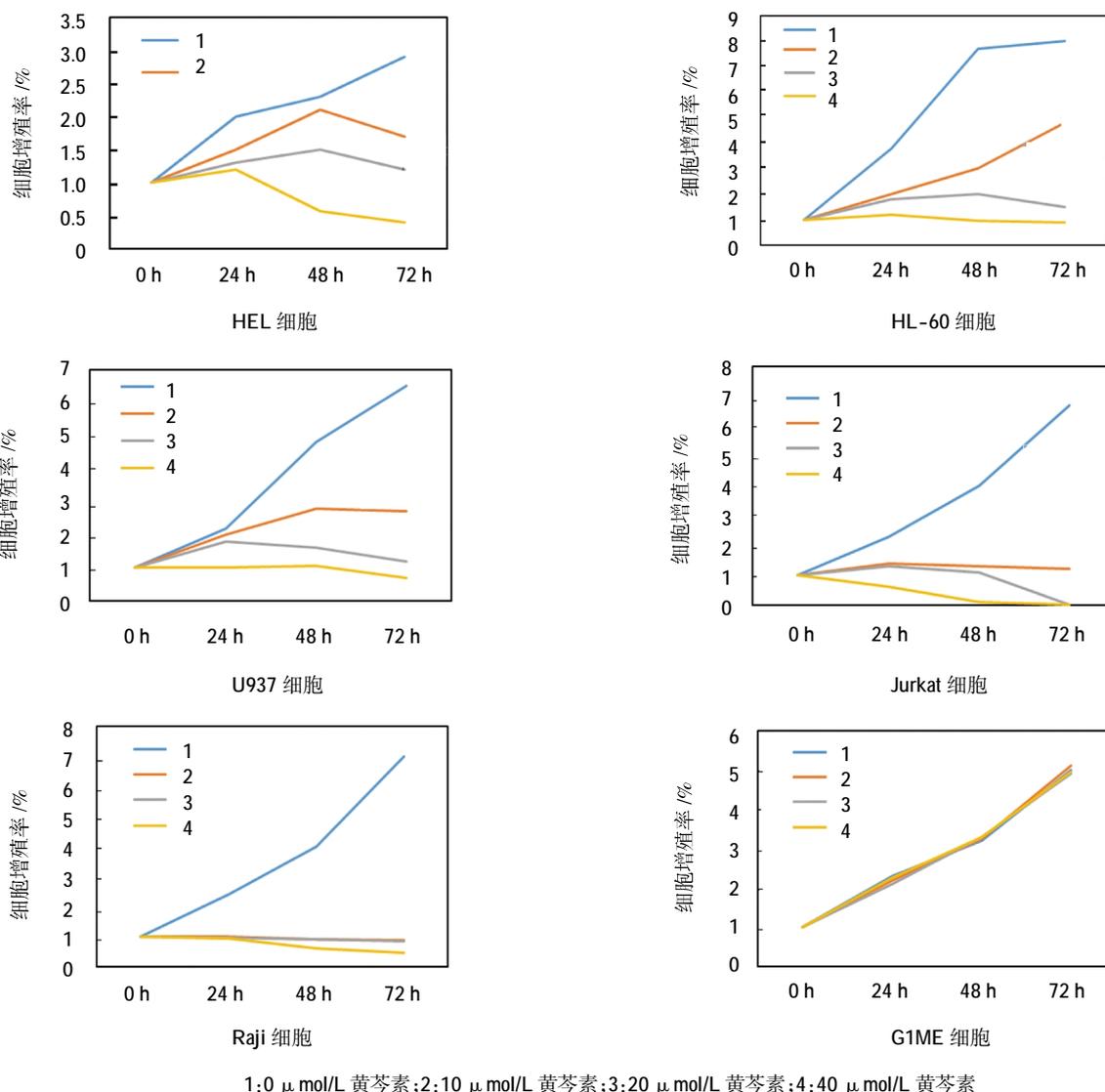


图 1 黄芩素对各种白血病细胞的抑制作用



1:0 μmol/L 黄芩素;2:10 μmol/L 黄芩素;3:20 μmol/L 黄芩素;4:40 μmol/L 黄芩素

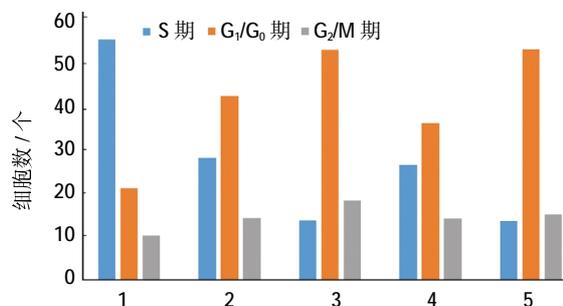
图 2 黄芩素对各种白血病细胞和 G1ME 细胞的抑制作用

周期阻滞。本研究共平行进行 50 次实验,同一时间的 50 次实验结果差异较小,组内各时间比较,经方差分析,差异有统计学意义($F=43.754, P=0.000$)。见图 3、4。

2.3 黄芩素对 6133/MPL W515L 细胞凋亡的影响

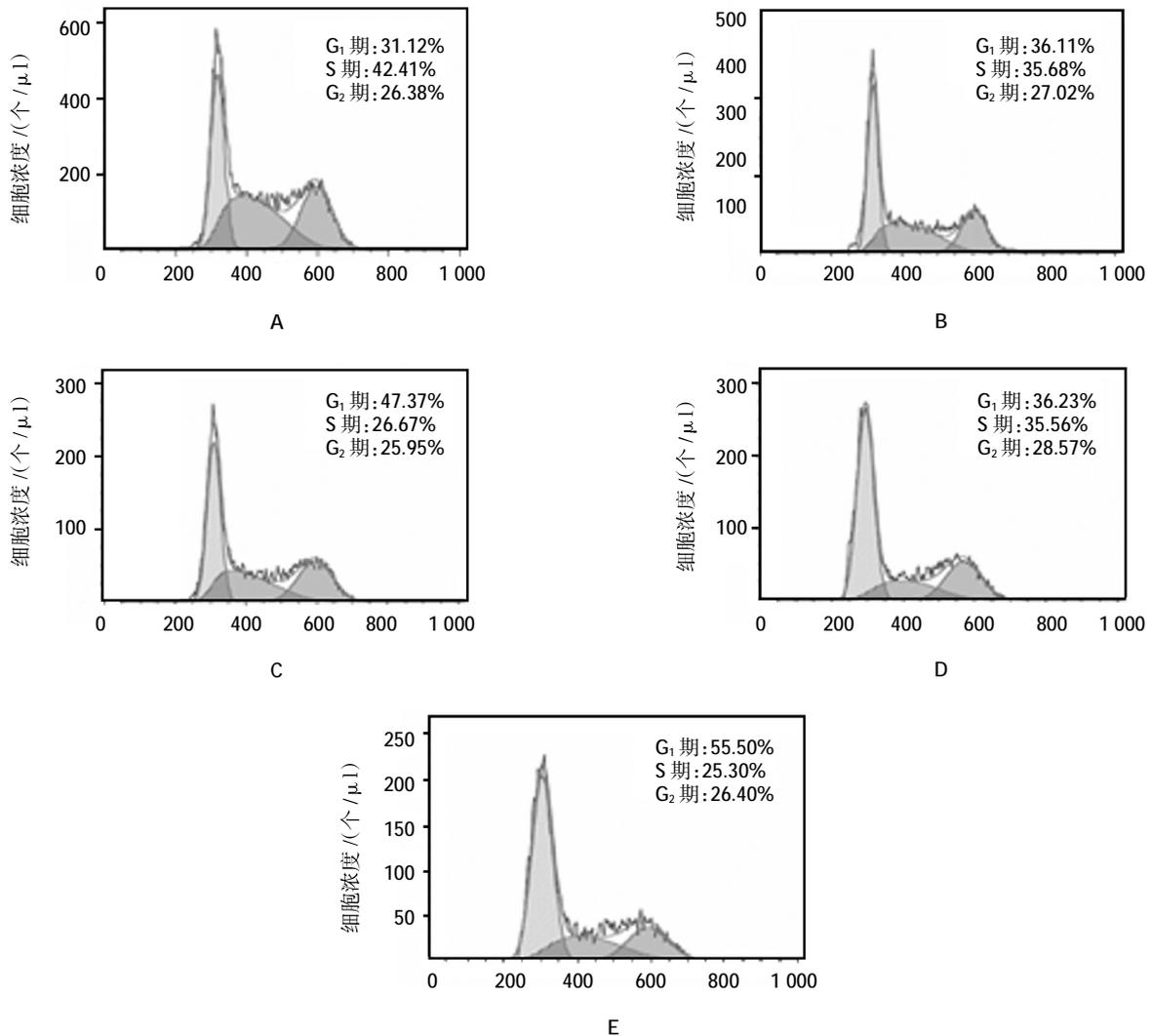
随着黄芩素浓度的增加,细胞凋亡率由黄芩素终浓度为 0 μmol/L 时的 1.62%, 到 20 μmol/L 时的 7.69%,以及在 40 μmol/L 时的 14.3%,表现为剂量依赖性的凋亡现象。用终浓度为 0、10 和 20 μmol/L 的黄芩素作用 6133/MPL W515 细胞 12 h 后,其 DNA 含量低于 2 倍体的细胞凋亡率,分别为 1.23%、1.44% 和 3.95%,表明黄芩素对细胞凋亡具有剂量依赖性。用终浓度为 10 μmol/L 的黄芩素处理 6133/MPL W515L 细胞 12、24 和 48 h 后,其细胞凋亡率分别为

1.44%、5.19%和 9.33%,用终浓度为 20 μmol/L 的黄芩素处理 6133/MPL W515L 细胞 12、24 和 48 h 后,其细胞凋亡率分别为 3.95%、10.3%和 13.9%,表明



1:0 μmol/L 黄芩素作用 12 h;2:10 μmol/L 黄芩素作用 12 h;3:20 μmol/L 黄芩素作用 12 h;4:10 μmol/L 黄芩素作用 24 h;5:20 μmol/L 黄芩素作用 24 h

图 3 黄芩素处理后的细胞周期变化



A:0 μmol/L 黄芩素作用 12 h;B:10 μmol/L 黄芩素作用 12 h;C:20 μmol/L 黄芩素作用 12 h;D:0 μmol/L 黄芩素作用 24 h;E:20 μmol/L 黄芩素作用 24 h

图 4 黄芩素诱导 6133/MPL W515L 细胞周期阻滞

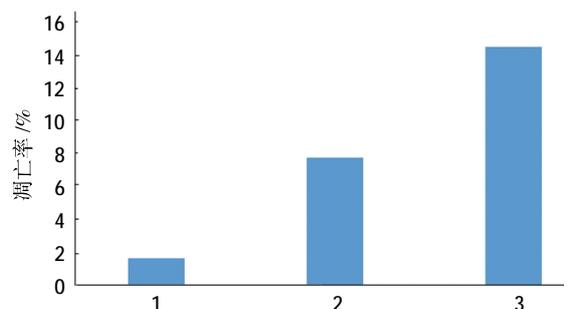
黄芩素对 6133/MPL W515L 细胞的凋亡不仅具有剂量依赖性,而且具有时间依赖性。组内各时间比较,经方差分析,差异有统计学意义($F=13.754, P=0.000$)。见图 5~7。

2.4 芩素抑制 6133/MPL W515L 细胞增殖

随着黄芩素浓度的增加,p-IκBα 磷酸化降低,IκBα 总蛋白无变化,说明 IκBα 磷酸化和降解受到抑制,抑制核转录因子-κB (nuclear transcription factor-κB,NF-κB)释放出来进入细胞核。见图 8。

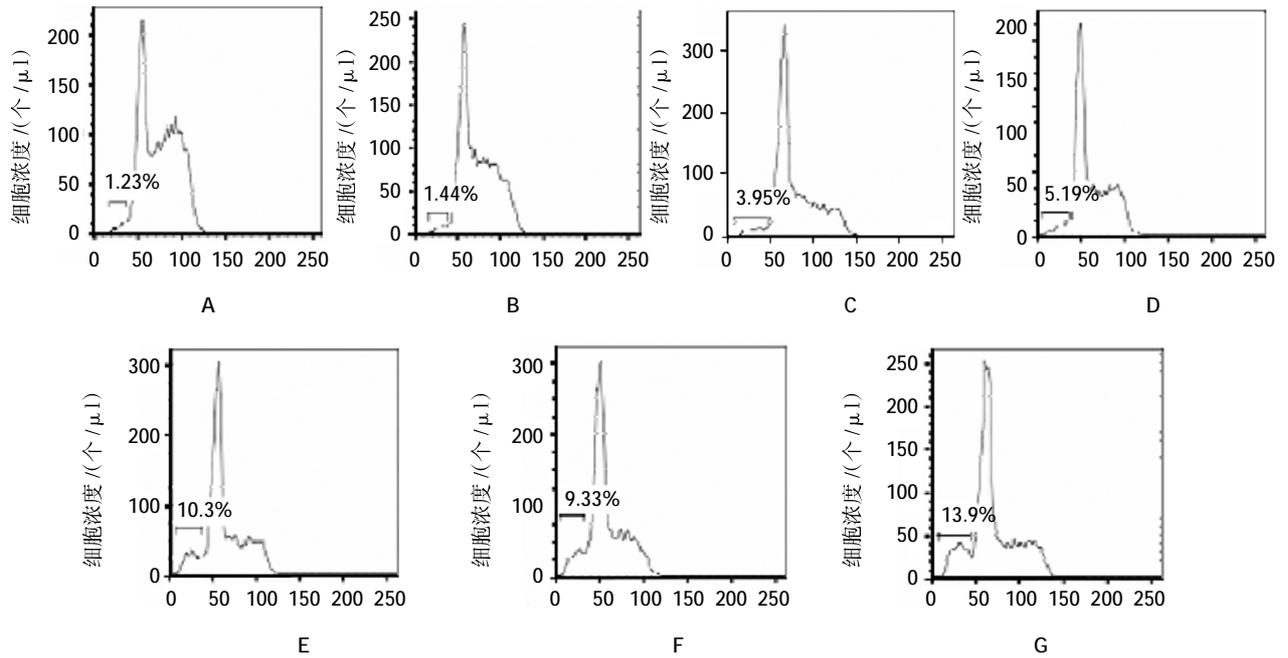
黄芩素抑制 Erk 磷酸化但激活 Akt。从 Western blot 检测结果可以看出,与对照组终浓度 0 μmol/L 相比,终浓度为 10、20 和 40 μmol/L 的黄芩素作用

6133/MPL W515L 细胞 12 h,其细胞中 Erk 和 Akt 总蛋白含量无变化;但 p-Erk 的含量随着黄芩素浓度的增加而降低,p-Akt 的含量却随着黄芩素浓度



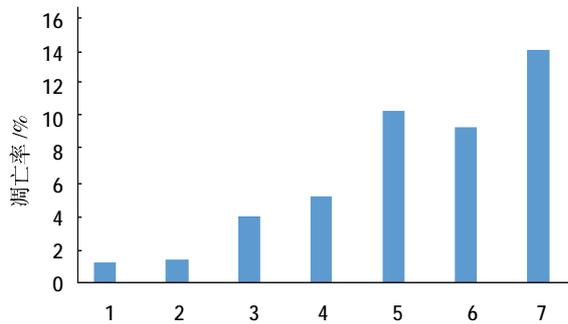
1:0 μmol/L 黄芩素作用 12 h;2:20 μmol/L 黄芩素作用 12 h;3:40 μmol/L 黄芩素作用 12 h

图 5 黄芩素诱导 6133/MPL W515L 细胞凋亡



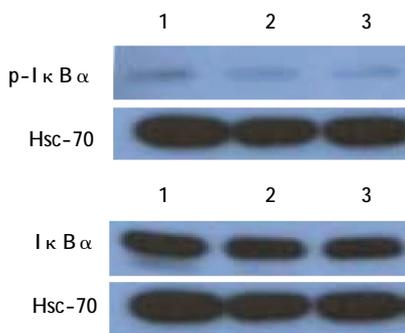
A:0 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素作用 12 h;B:10 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素作用 12 h;C:20 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素作用 12 h;D:10 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素作用 24 h;E:20 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素作用 24 h;F:10 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素作用 48 h;G:20 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素作用 48 h

图 6 黄芩素诱导 6133/MPL W515L 细胞凋亡



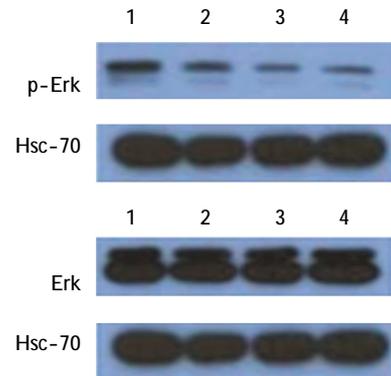
1:0 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素作用 12 h;2:10 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素作用 12 h;
3:20 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素作用 12 h;4:10 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素作用 24 h;
5:20 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素作用 24 h;6:10 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素作用 48 h;
7:20 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素作用 48 h

图 7 黄芩素诱导 6133/MPL W515L 细胞凋亡

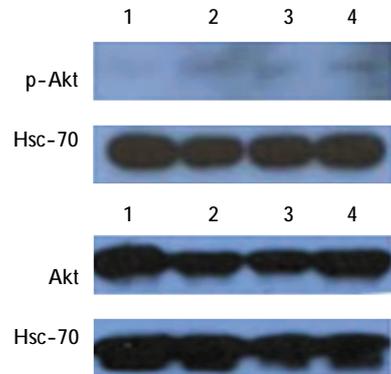


1:0 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素;2:10 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素;3:20 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素

图 8 黄芩素抑制 I κ B α 磷酸化



黄芩素抑制 Erk 磷酸化



黄芩素激活 Akt

1:0 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素;2:10 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素;3:20 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素;
4:40 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素

图 9 黄芩素抑制 Erk 磷酸化激活 Akt

的增加而升高,推测黄芩素可能通过MAPK-Erk 和 PI3K-Akt 信号通路发挥作用。见图 9。

终浓度 10、20 和 40 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素处理 6133/MPL W515L 细胞后,加工后的 Caspase-3 与对照组终浓度 0 $\mu\text{mol/L}$ 相比,剪切水平逐渐增高。与此相对应,细胞内总 Caspase-3 下降。黄芩素可能通过激活 Caspase 诱导细胞凋亡。Z-VAD 是一种 Caspase 的广谱抑制剂。为验证 Caspase 活化在黄芩素抑制细胞增殖中的作用,本实验在黄芩素处理细胞的同时加入 Z-VAD。Z-VAD 单独处理 6133/MPL W515L 细胞,不影响增殖;用黄芩素和 Z-VAD 共同处理 6133/MPL W515L 细胞后,也未能拯救黄芩素导致的细胞增殖抑制,提示 Caspase 通路活化可能在黄芩素抑制细胞增殖中未起关键作用。见图 10。

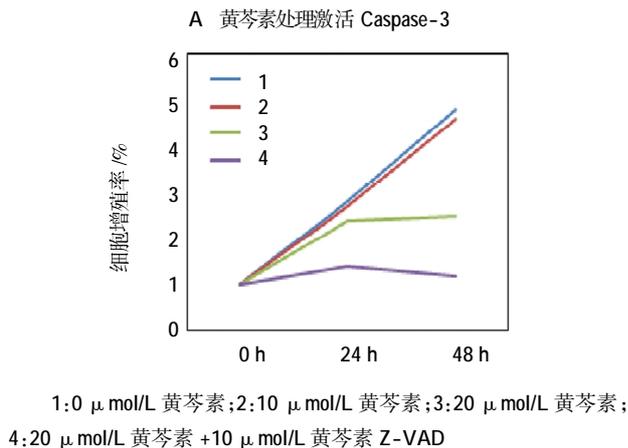
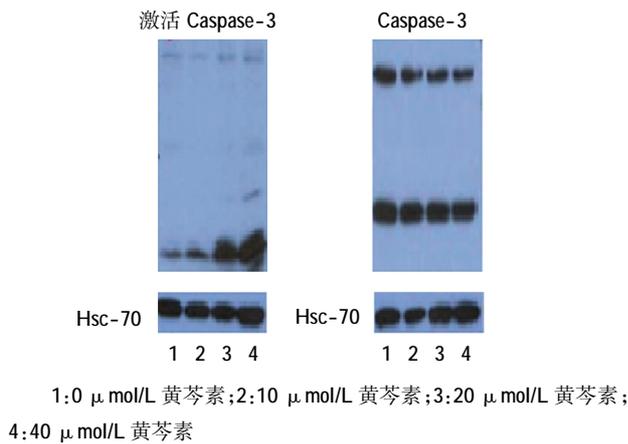


图 10 黄芩素激活 Caspase 诱导细胞凋亡

3 结论

黄芩素对白血病肿瘤细胞的增殖抑制是一个复杂的过程。该过程牵涉很多因素,包括多个信号通路

途径、活性氧及细胞周期等^[8-10]。并且这些途径之间可能不是一个相对独立的过程,而是一个相互作用的网络^[11-13]。本研究主要探讨 NF- κ B、Caspase-3、Ras/Raf/Mek/Erk 通路对白血病增殖和凋亡的影响。

凋亡是在基因的调控下进行的,相关基因分为促凋亡基因、抑制凋亡基因及凋亡过程表达基因,与肿瘤的发生、发展及预后密切相关,黄芩素诱导肿瘤细胞凋亡可能与上述基因、蛋白的表达有关。黄芩素可以诱导癌细胞中的 6133/MPL W515L、6133、HL-60、K562、CMK、HEL、Jurkat、U937、Raji 及永生化的胚胎干细胞 G1ME 细胞的凋亡和衰竭,黄芩素的浓度与各型癌细胞间存在着一定的比例关系。

因此,本研究以白血病肿瘤细胞中的 6133/MPL W515L、6133、HL-60、K562、CMK、HEL、Jurkat、U937、Raji 及永生化的胚胎干细胞 G1ME 细胞作为体外模型,通过细胞计数法实验研究黄芩素对上述细胞增殖的抑制作用。结果显示,黄芩素对所有受试白血病细胞均有抑制作用,但对于不同组织来源的细胞其抑制强度不尽相同,并且对上述白血病细胞的作用具有剂量和时间依赖性。实验结果表明,黄芩素对来自于永生化的胚胎干细胞 G1ME 细胞几乎没有抑制作用,提示黄芩素可以作为一种特异性抑制恶变白血病细胞增殖的药物。细胞增殖受到抑制可能是细胞周期阻滞或细胞凋亡导致^[14-15]。

本实验通过用黄芩素处理 6133/MPL W515L 细胞的 PI 染色结果显示,随着黄芩素作用浓度和作用时间的增加,S 期细胞减少,G₁/G₀ 期和 G₂/M 期细胞增加。由此推测,黄芩素可能导致 6133/MPL W515L 的细胞周期阻滞在 G₁/S 期。Annexin-V 和 PI 染色检测细胞凋亡的结果表明,黄芩素对 6133/MPL W515L 细胞的凋亡不仅具有剂量依赖性,而且具有时间依赖性。多种因素可以造成细胞凋亡或周期阻滞。

为探讨多个信号通路在该过程中的作用,本实验通过黄芩素处理 6133/MPL W515L 细胞后 Western blot 检测结果表明,随着黄芩素浓度的增加,I κ B α 、Akt、Caspase-3 及 Erk 总蛋白含量无明显变化,但 Akt 蛋白和剪切的 Caspase-3 含量升高,p-I κ B α 蛋白和 p-Erk 蛋白的含量降低,表明抑制 p-I κ B α 进入细胞核内,通过抑制 MAPK-Erk 和促进 PI3K-Akt 通路,以及激活 Caspase 的方式诱导细胞凋亡。为探讨 Caspase-3 在黄芩素诱导白血病细胞凋亡中的作用,用 Caspase 的光谱抑制剂 Z-VAD 单独处理 6133/MPL W515L 细胞,发现其细胞增殖不受影响。

用 Z-VAD 和黄芩素同时处理 6133/MPL W515L 细胞,发现 Z-VAD 不能解救黄芩素导致的细胞增殖抑制,表明黄芩素不只是通过 Caspase 通路起作用。

黄芩素作为传统中药应用临床,大量研究证实其具有广泛的抗肿瘤活性,作用机制主要有:①影响花生四烯酸系统代谢途径;②抑制细胞增殖,阻滞细胞周期;③诱导肿瘤细胞凋亡;④抗肿瘤新生血管生成等。目前有关其抗肿瘤作用的临床试验尚未广泛开展,随着对黄芩素抗肿瘤作用及机制研究的逐渐深入,可为中药抗肿瘤的应用提供广阔前景。

综上所述,黄芩素能通过多条途径诱导白血病细胞凋亡和细胞周期阻滞。黄芩素抑制白血病增殖是多因素共同作用的结果。黄芩素是有效的抗白血病候选药物。

参 考 文 献:

- [1] ANA R S, RIBEIRO, JOSÉN V, et al. The effects of baicalein on gastric mucosal ulcerations in mice: protective pathways and anti-secretory mechanisms[J]. Chem-Bio Int, 2016, 260(25): 33-41.
- [2] KAI C H, HUI J G, YI T W, et al. Baicalein attenuates α -synuclein aggregation, in inflammasome activation and autophagy in the MPP+ -treated nigrostriatal dopaminergic system in vivo[J]. J Eth, 2016, 194(24): 522-529.
- [3] TANG Q, JI F L, SUN W H, et al. Combination of baicalein and 10-hydroxy camptothecin exerts remarkable synergetic Anti-cancer effects[J]. Mat Sci Eng, 2016, 67(1): 336-344.
- [4] BALÁZS M, ZOLTÁN M, TÍMEA E, et al. Unexpected retention behavior of baicalin: hydrophilic interaction like properties of a reversed-phase column[J]. J Pharm Bio Ana, 2015, 111(10): 119-125.
- [5] ZHANG H Y, WANG T Y, QIN Y L, et al. Electrochemical behavior and determination of baicalin on a glassy carbon electrode modified with molybdenum disulfide nano-sheets[J]. J Elec Chem, 2016, 775(15): 286-291.
- [6] WANG P, CAO Y G, YU J, et al. Baicalin alleviates ischemia-induced memory impairment by inhibiting the phosphorylation of CaMKII in hippocampus[J]. Brain Res, 2016, 1642(1): 95-103.
- [7] ZHANG C H, YU R Y, LIU Y H, et al. Interaction of baicalin with berberine for glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes and HepG2 hepatocytes[J]. J Eth, 2014, 151(2): 864-872.
- [8] LI Y C, WANG L L, PEI Y Y, et al. Baicalin decreases SGK1 expression in the hippocampus and reverses depressive-like behaviors induced by corticosterone[J]. Neuroscience, 2015, 311(17): 130-137.
- [9] AKIHIRO M, KOHEI S, HIRONOBU N, et al. Neuronal differentiation of human iPS cells induced by baicalin via regulation of bHLH gene expression [J]. Bio and Bio Res Com, 2015, 465(2): 458-463.
- [10] WEI X L, ZHU X Y, HU N, et al. Baicalin attenuates angiotensin II -induced endothelial dysfunction [J]. Bio Bio Res Com, 2015, 465(1): 101-107.
- [11] ZHANG Y, WANG X J, WANG L, et al. Interactions of the baicalin and baicalein with bilayer lipid membranes investigated by cyclic voltammetry and UV-Vis spectroscopy[J]. Bioelectrochemistry, 2014, 95(2): 29-33.
- [12] LIU Z D, ZHANG L, HE Q S, et al. Effect of Baicalin-loaded PEGylated cationic solid lipid nanoparticles modified by OX26 antibody on regulating the levels of baicalin and amino acids during cerebral ischemia-reperfusion in rats [J]. Int J Pharm, 2015, 489(1/2): 131-138.
- [13] LUANG Y, CHAO S, JU Z Y, et al. Therapeutic effects of baicalin on monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension by inhibiting inflammatory response[J]. Int Immu, 2015, 26(1): 188-193.
- [14] 王宁,程琦,张延新. 黄芩素对人结肠癌细胞增殖、凋亡、侵袭的影响及机制[J]. 山东医药, 2016, 59(13): 10-12.
- [15] ZHANG J Y, CAI W, ZHOU Y, et al. Profiling and identification of the metabolites of baicalin and study on their tissue distribution in rats by ultra-high-performance liquid chromatography with linear ion trap-Orbitrap mass spectrometer [J]. J Chrom B, 2015, 985(15): 91-102.

(童颖丹 编辑)