

本文引文格式:刘智丹,吴发印,程昊.姜黄素联合顺铂通过内质网应激信号通路抑制腺样囊性癌 ACC-M 细胞增殖作用的研究[J].右江民族医学院学报,2021,43(1):28-32,40.

【论著与临床报道】

姜黄素联合顺铂通过内质网应激信号通路抑制腺样囊性癌 ACC-M 细胞增殖作用的研究

刘智丹,吴发印,程昊

[遵义医科大学第五附属(珠海)医院口腔颌面外科,广东 珠海 519100]

摘要:目的 探讨姜黄素与顺铂联合使用对人腺样囊性癌细胞(ACC-M)的抗肿瘤作用及其可能机制。方法 使用不同浓度的姜黄素(5 μM 、10 μM 、20 μM 、40 μM)单独或联合顺铂(8 μM)处理腺样囊性癌 ACC-M 细胞 24 h 后,使用噻唑蓝和乳酸脱氢酶试剂盒检测细胞存活率和细胞毒性。采用 20 μM 姜黄素、8 μM 顺铂及 20 μM 姜黄素+8 μM 顺铂进行药物干预,并设立对照组(0.1% DMSO),24 h 后倒置显微镜下观察各种细胞形态,蛋白质印迹法检测各组 GRP78、p-eIF2 α 、CHOP、p-JNK 蛋白的表达水平。结果 联合用药组的 ACC-M 细胞生长存活率均低于姜黄素组、顺铂组($P < 0.05$);联合组乳酸脱氢酶释放量均高于姜黄素、顺铂组($P < 0.05$)。与对照组相比,姜黄素组、顺铂组、联合用药组的 GRP78、p-eIF2 α 、CHOP 表达水平升高($P < 0.05$)。联合用药组 GRP78、p-eIF2 α 、CHOP、p-JNK 蛋白水平高于姜黄素组、顺铂组($P < 0.05$)。结论 与单独用药相比,姜黄素联合顺铂能更有效地抑制 ACC-M 增殖,其机制可能与上调内质网应激相关蛋白 GRP78、p-eIF2 α 、CHOP、p-JNK 的表达有关。

关键词:腺样囊性癌;姜黄素;顺铂;内质网应激;癌细胞

中图分类号:R739.87

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2021)01-0028-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.01.006

Inhibitory effect of curcumin combined with cisplatin on proliferation of ACC-M cells in adenoid cystic carcinoma through endoplasmic reticulum stress signaling pathway

Liu Zhidan, Wu Fayin, Cheng Hao

[Department of Oral and Maxillofacial Surgery, the Fifth Affiliated (Zhuhai) Hospital of Zunyi Medical University, Zhuhai 519100, Guangdong, China]

Abstract: **Objective** To explore the anti-tumor effect of curcumin and cisplatin on human adenoid cystic carcinoma cell line (ACC-M) and the possible mechanism. **Methods** After treating ACC-M cells with different concentrations of curcumin (5 μM , 10 μM , 20 μM , 40 μM) alone or in combination with cisplatin (8 μM) for 24 hours, we detected the viability and cytotoxicity of these cells by MTT assay and lactate dehydrogenase kits. 20 μM curcumin, 8 μM cisplatin and 20 μM curcumin+8 μM cisplatin were used as medicine intervention, and a control group (0.1% DMSO) was established. Twenty-four hours later, we observed the cell morphology under inverted microscope and detected the protein expressions of GRP78, p-eIF2 α , CHOP and p-JNK by Western blotting. **Results** The survival rate of ACC-M cells in the combined-medicine group was lower than that in the curcumin group as well as that of the cisplatin group ($P < 0.05$), while the release of lactate dehydrogenase of the combined-medicine group was higher than that of the curcumin group as well as that of

基金项目:珠海市医学科研基金项目(ZH3310200020PJL)

第一作者简介:刘智丹(1992-),男,在读硕士研究生,研究方向:口腔颌面部肿瘤,E-mail:774776540@qq.com

通讯作者简介:吴发印(1966-),男,硕士,教授,硕士研究生导师,研究方向:口腔颌面部肿瘤,E-mail:wufy0515@163.com

the cisplatin group ($P < 0.05$). Compared with those in the control group, the expressions of GRP78, p-eIF2 α and CHOP in the curcumin group, the cisplatin group and the combined-medicine group all increased ($P < 0.05$). The protein levels of GRP78, p-eIF2 α , CHOP and p-JNK in the combined-medicine group were higher than those in the curcumin group and those in the cisplatin group ($P < 0.05$). **Conclusion** Compared with treatment with single medicine, curcumin combined with cisplatin could inhibit ACC-M proliferation more effectively. The mechanism may be related to the up-regulation of GRP78, p-eIF2 α , CHOP, and p-JNK proteins related to endoplasmic reticulum stress.

Key words: adenoid cystic carcinoma; curcumin; cisplatin; endoplasmic reticulum stress; cancer cell

涎腺腺样囊性癌(salivary adenoid cystic carcinoma, SACC)是口腔颌面部常见的唾液腺恶性肿瘤,目前治疗方法仍以手术为主,辅以放化疗。顺铂是治疗腺样囊性癌常见的化疗药物,然而,它的应用受到耐药性和副作用的限制。因此,开发与顺铂协同作用并减少副作用的新药物具有重要意义。研究表明,姜黄素联合顺铂在多种肿瘤中发挥协同作用^[1-2]。本研究探讨姜黄素联合顺铂对腺样囊性癌 ACC-M 细胞的抗肿瘤作用及其对内质网应激相关蛋白 GRP78、p-eIF2 α 、CHOP、p-JNK 蛋白表达的影响。

1 材料与方法

1.1 主要材料和仪器 ACC-M 细胞株购自广州华拓生物科技有限公司,姜黄素(Curcumin, Cur)、顺铂(cisplatin, DDP)、胎牛血清、二甲基亚砷(DMSO)均购自合肥博美生物科技有限责任公司(批号:458-37-7、批号:15663-27-1、批号:15140-122、批号:67-68-5)、RPMI-1640 均购自美国 Gibco 公司(批号:15140-122),MTT 试剂盒(批号:C0009S)、LDH 试剂盒购自江苏碧云天生物研究所(批号:C00016)、GRP78(批号:#3177)、p-eIF2 α (批号:#3398)、eIF2 α (批号:#5324)、CHOP(批号:#2895)、p-JNK(批号:#9255)、GAPDH(批号:#5174)均购自美国 CST 公司,鼠源二抗、兔源二抗购自美国 CST 公司(批号分别为:#7076、#7074)。酶标仪购自美国 ThermoScientific 公司,细胞培养箱购自力康生物医疗科技控股集团,96 孔板细胞培养板购自 Corstor 公司(型号:3300),电子天平购自德国艾科勒公司(型号:ALC-210.4)。尼康 ECKIPSE TS100/TS100 倒置显微镜购自 Nikon 公司。

1.2 实验分组及细胞培养 将 ACC-M 细胞分为姜黄素组、顺铂组、联合用药组、对照组,用实验笔标记分组名称、时间。将 ACC-M 细胞置于含 10% 胎牛血清及 1% 双抗(青霉素、链霉素)的 RPMI-1640 培养基中,于 37℃、5%CO₂ 培养箱中培养,并进行传代,待细胞贴壁后取对数生长期细胞进行实验。

1.3 MTT 法测定细胞存活率 取对数生长期的 ACC-M 细胞,加入 0.25% 胰蛋白酶消化制备成单细

胞悬液,计数并调整细胞浓度为 1×10^4 个/毫升,每孔加入 100 μ l 细胞悬液接种于 96 孔板,每组设置 5 个复孔,置于培养箱培养过夜,然后分组给药。实验分组如下:对照组:加入 0.1% DMSO;顺铂组(DDP 组):加入 DDP(8 μ M),姜黄素组:Cur(5 μ M、10 μ M、20 μ M、40 μ M);联合用药组:不同浓度(5 μ M、10 μ M、20 μ M、40 μ M)Cur 联合 DDP(8 μ M)。加药处理 24 h 后弃上清,每孔加入 1 mg/ml 的 MTT 溶液 100 μ l,于培养箱中继续孵育 4 h,吸去上清,每孔加入 100 μ l 的 DMSO,选择 495 nm 波长,在酶标仪上测定各孔吸光度值(OD 值),实验重复 3 次。细胞存活率=(药物干预组 OD 值-空白组 OD/对照组 OD 值-空白组 OD 值) $\times 100\%$ 。

1.4 LDH 法测定细胞毒性 ①按实验分组给药,取上清液,400 g 离心 5 min,每组分别取 120 μ l 置于 96 孔板;②配置 INT 溶液:将 10 \times INT 溶液稀释至 $\times 1$ 。按酶溶液:INT 溶液:乳酸溶液=1:1:1 比例配置 LDH 工作液,避光放置;③每组加入 60 μ l LDH 工作液,混匀,室温避光孵育 30 min,490 nm 测定每组吸光度。计算公式:LDH 释放量(%)=(处理组样品 OD 值-处理组对照孔 OD 值)/(空白组样品 OD 值-空白组对照孔 OD 值) $\times 100\%$ 。

1.5 倒置显微镜下观察用药后各组细胞生长情况 取对数生长期的 ACC-M 细胞,接种于 6 孔板中过夜,在姜黄素组、顺铂组、联合用药组中分别加入 20 μ mol/L 姜黄素、8 μ mol/L 顺铂、20 μ mol/L 姜黄素+8 μ mol/L 顺铂进行干预,对照组中加入 0.1% DMSO 的完全培养基,作用 24 h 后,倒置显微镜下观察各组细胞形态。

1.6 蛋白质印迹法测定 GRP78、p-eIF2 α 、CHOP、p-JNK 蛋白的表达 倒置显微镜下观察各种细胞形态后,分组加入细胞裂解液,4℃离心,12 000 r/min,离心 5 min,吸取上清,测定蛋白浓度,使每孔上样蛋白总量均一化(20 μ g),然后在 10% SDS-PAGE 凝胶上分离,转膜,使用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h,然后孵育目的蛋白 GRP78、p-eIF2 α 、CHOP 和 p-JNK 一抗(1:1000 稀释),甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作为内参,4℃

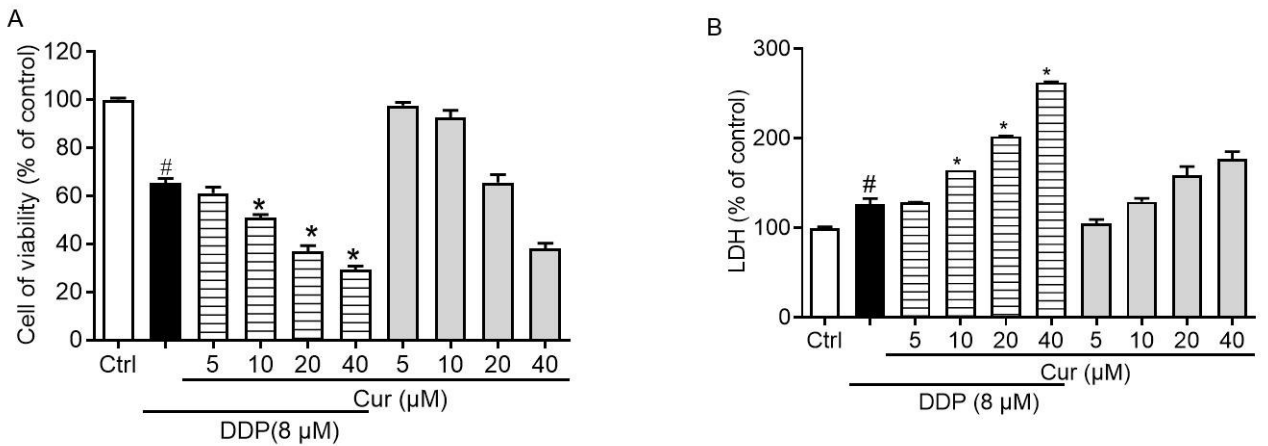
孵育过夜;震荡洗膜 3 次,孵育二抗,4℃孵育 2 h;最后采用 Bio-Rad 凝胶处理系统采集结果,图片并用 image J 软件对结果进行定量分析。

1.7 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),两两比较采用 LSD-*t* 检验;方差不齐采用秩和检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 姜黄素联合顺铂对 ACC-M 细胞的细胞存活率和 LDH 释放量的影响 用不同浓度的姜黄素单独或联合处理 ACC-M 细胞 24 h,MTT 实验测定细胞存活率,收集上清液测定 LDH 释放量。结果表明:见图 1,

用 8 μM 顺铂作用细胞 24 h 后,与对照组相比,ACC-M 细胞存活率明显降低(见图 1A);用不同浓度的 Cur (5 μM 、10 μM 、20 μM 、40 μM)联合 DDP(8 μM)处理 ACC-M 细胞,与 DDP 组相比,联合用药组的细胞存活率进一步降低($P < 0.05$);在 LDH 释放量得到类似的结果,其中 Cur 能显著增加由 DDP 引起的 LDH 释放量(见图 1B)。本实验采用金正均法判断两种药是否存在协同作用, $Q = E(a+b)/(Ea+Eb-Ea \times Eb)$,当 Q 值 > 1.15 时,说明具有协同增效作用,本实验结果显示,当 8 μM 顺铂与 10 μM 姜黄素联用时,计算 Q 值为 1.24,表明两者存在协同作用;当 8 μM 顺铂与 20 μM 姜黄素联用时,计算 Q 值为 1.18,表明两者存在协同作用;其余各组 Q 值为 0.95~1.06,见表 1。



注:与空白组比较,#: $P < 0.05$;与顺铂组比较,*: $P < 0.05$;Ctrl:空白对照;DDP:顺铂;Cur:姜黄素。

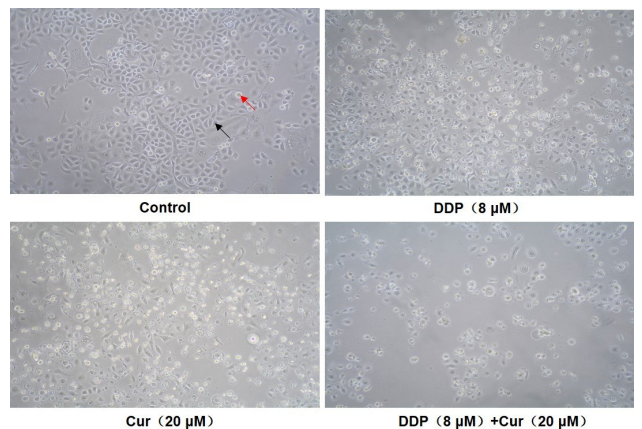
图 1 姜黄素联合顺铂对腺样囊性癌 ACC-M 细胞的细胞存活率(A)和 LDH 释放量(B)的影响

表 1 不同浓度联合用药作用 24 h 后对 ACC-M 细胞 Q 值的影响

组别	Q
DDP 8 μM +5 μM Cur	1.06
DDP 8 μM +10 μM Cur	1.24
DDP 8 μM +20 μM Cur	1.18
DDP 8 μM +40 μM Cur	0.95

注:DDP:顺铂;Cur:姜黄素。

2.2 姜黄素联合顺铂作用 24 h 后对 ACC-M 细胞生长情况的影响 各组细胞在加药后 24 h,倒置显微镜下观察,对照组 ACC-M 细胞呈梭形,胞质较为丰富,细胞核位于中央。而加入姜黄素(20 μM)、顺铂(8 μM)后,细胞由梭形变为不规则形,细胞体积增大,细胞核往边上移动,但细胞膜尚完整。同时,细胞贴壁数量减少,脱落漂浮于培养液的细胞增多,尤其在联合用药组(20 μM Cur+8 μM DDP),细胞贴壁细胞明显减少,而脱落于培养液的细胞明显增多。见图 2。

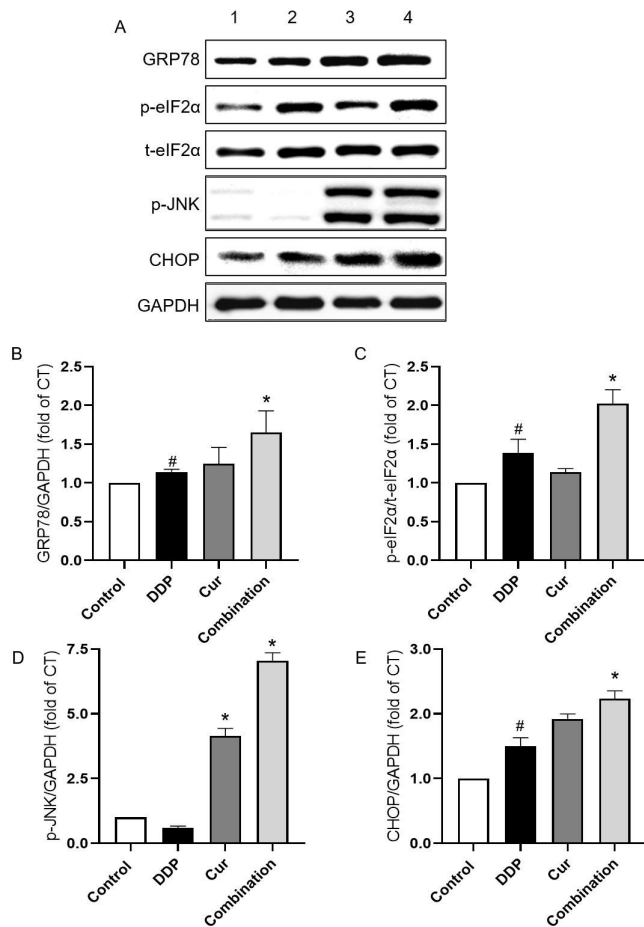


注:黑色色箭头代表贴壁 ACC-M 细胞,红色代表死亡 ACC-M 细胞;Control:空白对照;DDP:顺铂;Cur:姜黄素。

图 2 姜黄素联合顺铂作用 24 h 后对腺样囊性癌 ACC-M 细胞的细胞生长情况的影响($\times 200$)

2.3 姜黄素与顺铂单独及联合使用对 ACC-M 细胞

GRP78、p-eIF2 α 、CHOP、p-JNK 蛋白表达水平的影响。使用 8 μ M 的 DDP 和 20 μ M Cur 单独或联合处理 ACC-M 细胞 24 h 后,收集蛋白检测内质网应激相关蛋白 GRP78、p-eIF2 α 、eIF2 α 、p-JNK 和内参蛋白 GAPDH 的表达。与空白对照组相比,8 μ M DDP 处理 24 h 后,DDP 组的内质网应激相关蛋白 GRP78、p-eIF2 α 、CHOP 上调,差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 20 μ M Cur 联合 DDP (8 μ M) 处理 24 h 后,GRP78、p-eIF2 α 、CHOP、p-JNK 蛋白表达明显上调,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),表明姜黄素能进一步增强由顺铂诱导的内质网应激反应,见图 3。



注:与空白组比较, # $P < 0.05$;与顺铂组比较, * $P < 0.05$; Control(空白对照), DDP(顺铂), Cur(姜黄素), Combination(联合用药)。

图 3 姜黄素联合顺铂对腺样囊性癌 ACC-M 细胞的内质网应激蛋白 GRP78(B)、p-eIF2 α (C)、p-JNK(D)和凋亡蛋白 CHOP(E)的影响

3 讨论

SACC 是颌下腺和舌下腺最常见的上皮性涎腺恶性肿瘤,占腮腺恶性肿瘤的 7%~18%,占小涎腺恶性肿瘤的 35%~58%。SACC 可发生在所有年龄段,在 50~60 岁中老年患者中出现频率更高,临床上以神经浸

润和多发性局部复发为特征^[3-4]。目前,SACC 的治疗以手术为主,即使进行根治性手术治疗,5~10 年的复发率仍较高^[5],所以目前多主张术后辅以放疗。术后放疗被认为可以局部控制肿瘤进展,但 5 年后复发率仍可达到一半^[6]。此外,即使局部控制的病人仍可能在辐射场外或远处复发,术后辅以化疗越来越得到研究者的认可。顺铂是治疗癌症的传统一线化疗药物^[7-8],其可以诱导 DNA-蛋白质以及链间和链内 DNA 交联,尽管这种交联可以诱导细胞凋亡并抑制细胞增殖,但是顺铂的有效性受到细胞耐药性及毒性的限制,包括遗传毒性、肾毒性和急性骨髓毒性^[9-10]。为了减少顺铂的耐药及其毒副作用,增强顺铂的抗肿瘤效果,临床上常将顺铂与其他药物联合使用,中药因其药理作用广,同时毒副作用小而成为理想选择。

姜黄素是从姜黄根茎中提取的脂溶性多酚类衍生物,具有抗炎、抗氧化、降血脂、抗肿瘤等多方面的药理作用^[11-13]。在膀胱癌细胞系中,与单独使用姜黄素或顺铂相比,10 μ M 姜黄素和 10 μ M 顺铂联合使用可明显降低膀胱癌细胞系的生存能力,促使其凋亡明显增加^[14]。Zhu X 等^[15]发现,与单纯顺铂相比,姜黄素和顺铂联合应用可通过调节 Twist1 上调 miR-186 表达,增强顺铂对卵巢癌的抑制作用。本实验 MTT 及 LDH 试验结果显示,与单独顺铂组相比,姜黄素联合顺铂可明显抑制 ACC-M 细胞增殖,增强顺铂对 ACC-M 细胞毒性,姜黄素联合顺铂具有较好的协同作用,姜黄素可增强顺铂的抗肿瘤效果。

生理或病理条件下的多种刺激可诱导内质网中未折叠蛋白的积累,这将激活一种进化上保守的适应性反应,称为内质网应激,如果刺激严重或持续,则会导致细胞死亡^[16-17]。葡萄糖调节反应蛋白 78 (glucose regulated protein 78, GRP78) 又称为免疫球蛋白重链结合蛋白 (immunoglobulin heavy chain-binding protein, Bip), 正常情况下,GRP78 与内质网三种跨膜蛋白(蛋白激酶 R 样内质网激酶(RNA dependent protein kinase-like ER kinase, PERK)、肌醇需求酶 1 (inositol requiring enzyme 1- α , IRE1 α) 和活化转录因子 6 (activating transcription factor 6- α , ATF6 α) 结合并使其失活。发生 ERS 时,未折叠蛋白或错误折叠蛋白与 GRP78 /Bip 的亲合力较高,内质网腔内 GRP78 表达增加^[18]。本实验发现用姜黄素或联合顺铂处理后,ACC-M 细胞中 GRP78 表达增加,表明内质网应激激活,而联合用药后细胞内 GRP78 表达增加明显,表明姜黄素联合顺铂可增强内质网应激反应。PEAK 通路是内质网应激发生时一条重要的信号通路,据报道其与多种肿瘤的增殖及存活有关,通过靶向 PEAK 信号通路而诱导细胞凋亡或自噬被认为是一个新的治疗策

略^[19]。在这项研究中我们发现姜黄素联合顺铂作用后 ACC-M 细胞内 p-eIF2 α 表达上调,提示姜黄素联合顺铂可能通过 PERK /eIF2 α 信号通路激活内质网应激。

CHOP 蛋白又称为生长抑制 DNA 损伤基因 153 (growth arrest and DNA damage-inducible gene 153, GADD 153), 内质网应激三条信号通路均能诱导 CHOP 的表达。ATF6、ATF4 或 XBP1S 表达上调通过与 CHOP 基因启动子内的结合位点相互作用诱导细胞凋亡。我们的研究表明姜黄素或顺铂通过诱导内质网应激以激活 ACC-M 细胞内 CHOP 的表达,且联合用药后细胞内 CHOP 表达明显增加,表明姜黄素联合顺铂通过内质网应激诱导的 CHOP 信号通路从而诱导 ACC-M 细胞凋亡。目前,CHOP 诱导细胞凋亡的下游机制仍在探索之中。其可介导 Bcl-2 下调和 Bim 上调,还可诱导促凋亡蛋白 ERO1 α 和 Puma 的表达,持续的内质网应激最终导致线粒体功能障碍、细胞色素 c 释放和 caspase-3 活化^[20]。白亮等^[21]研究发现姜黄素作用腺样囊性癌后,细胞内 caspase-3 明显增加,其认为将姜黄素诱导细胞凋亡的机制可能与 caspase-3 有关。而本实验发现姜黄素联合顺铂作用后细胞内 CHOP 蛋白明显增加,因而我们认为姜黄素可能通过诱导 CHOP 表达而激活下游的 caspase-3 表达,而诱发 ACC-M 细胞凋亡。

JNK 同样是内质网应激诱导细胞凋亡中重要的信号转导因子,在内质网应激中起重要的调控作用。当细胞发生内质网应激时,IRE1 α 信号通路激活,其可通过刺激凋亡信号调节激酶 1 (apoptosis signal regulating kinase-1, ASK1) 的激活,而后者可引起应激激酶 Jun-N-末端激酶 (JNK) 下游激活,进而引发细胞凋亡^[22]。本实验发现姜黄素作用 24 h 后,ACC-M 细胞内 p-JNK 增加,顺铂组 p-JNK 变化不明显,而联合组 p-JNK 蛋白表达大于单药组,差异具有统计学意义,说明姜黄素联合顺铂可通过介导 P-JNK 诱导 ACC-M 细胞凋亡。

综上所述,姜黄素联合顺铂可对 ACC-M 细胞产生抑制作用,其机制可能与内质网应激相关。姜黄素联合顺铂可通过诱发 ACC-M 细胞内 GRP78 表达增加,可能通过活化 PEAK-eIF2 α 及 IRE1 α 信号通路,进而促进 CHOP 及 JNK 介导的细胞凋亡。姜黄素属于多靶点的生物活性药物,其联合顺铂对 ACC 的抗肿瘤作用机制是否还有其它信号通路,有待于进一步的研究。

参考文献:

[1] He W, Xia YQ, Cao PH, et al. Curcuminoid WZ35 syner-

gize with cisplatin by inducing ROS production and inhibiting TrxR1 activity in gastric cancer cells[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1):207.

- [2] Kütük SG, Gökçe G, Kütük M, et al. Curcumin enhances cisplatin-induced human laryngeal squamous cancer cell death through activation of TRPM2 channel and mitochondrial oxidative stress[J]. Sci Rep, 2019, 9(1):17784.
- [3] Coca-Pelaz A, Rodrigo JP, Bradley PJ, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck-An update[J]. Oral Oncol, 2015, 51(7):652-661.
- [4] Weert SV, Waal IVD, Witte BI, et al. Histopathological grading of adenoid cystic carcinoma of the head and neck: analysis of currently used grading systems and proposal for a simplified grading scheme [J]. Oral Oncol, 2015, 51(1):71-76.
- [5] Chen AM, Bucci MK, Weinberg V, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck treated by surgery with or without postoperative radiation therapy: prognostic features of recurrence [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2006, 66(1):152-159.
- [6] Oplatek A, Ozer E, Agrawal A, et al. Patterns of recurrence and survival of head and neck adenoid cystic carcinoma after definitive resection [J]. Laryngoscope, 2010, 120(1):65-70.
- [7] Cerda T, Sun XS, Vignot S, et al. A rationale for chemoradiation (vs radiotherapy) in salivary gland cancers? On behalf of the REFCOR (French rare head and neck cancer network) [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2014, 91(2):142-158.
- [8] Papaspyrou G, Hoch S, Rinaldo A, et al. Chemotherapy and targeted therapy in adenoid cystic carcinoma of the head and neck; a review [J]. Head Neck, 2011, 33(6):905-911.
- [9] Kawakami H, Takeno A, Endo S, et al. Randomized, Open-Label Phase II Study Comparing Capecitabine-Cisplatin Every 3 Weeks with S-1-Cisplatin Every 5 Weeks in Chemotherapy-Naive Patients with HER2-Negative Advanced Gastric Cancer: OGS1105, HERBIS-4A Trial [J]. Oncologist, 2018, 23(12):1411-1417.
- [10] Wang JW, Xu RH, Li J, et al. Randomized multicenter phase III study of a modified docetaxel and cisplatin plus fluorouracil regimen compared with cisplatin and fluorouracil as first-line therapy for advanced or locally recurrent gastric cancer [J]. Gastric cancer, 2016, 19(1):234-244.
- [11] Han FY, Luo BW, Shi RC, et al. Curcumin ameliorates rat experimental autoimmune neuritis [J]. J Neurosci Res, 2014, 92(6):743-750.

(下转第 40 页)

正丁醇部位对清除羟自由基的清除能力效果较好;整合 Fe^{2+} 的能力在提取物浓度为 $4\mu\text{g}/\text{ml}$ 时 BHT 最强,草果在一定浓度范围内随提取物浓度的增加而增强。综上所述,表明了不同极性溶剂的草果提取物具有良好的抗氧化活性和抗自由基清除能力。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 509-510.
- [2] 代敏, 彭成. 草果的化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中药与临床, 2011, 2(4): 55-59.
- [3] 彭美芳. 草果抑菌活性物质作用机制及分离纯化的研究[D]. 海口: 海南大学, 2014.
- [4] 杨再波, 谌连桃, 吴应红, 等. 密蒙花花蕾不同提取部位的抗氧化活性研究[J]. 中国药房, 2016, 27(1): 32-34.
- [5] 陈乃东, 周守标, 王春景, 等. 春花胡枝子黄酮类化合物的提取及清除羟自由基作用的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(1): 86-91.
- [6] 罗爱月, 农建聃, 吕金萍, 等. 广西茉莉花叶不同极性部位提取物的抗氧化活性[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(6): 703-706.
- [7] 李冉, 谢国勇, 韩宇, 等. 密蒙花与其替代品结香总提物体

外抗氧化活性作用的比较研究[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(2): 225-230.

- [8] 郭森, 宋江峰, 豆海港. 超声波辅助提取草果精油及其抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(16): 58-61.
- [9] 邱珊莲, 林宝妹, 张少平, 等. 嘉宝果嫩叶提取物不同极性部位抗氧化及抑制 α -葡萄糖苷酶活性研究[J]. 热带作物学报, 2019, 40(7): 1373-1378.
- [10] 梁荣, 吴继红, 周祥山, 等. 枣果的抗氧化活性成分研究进展[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(24): 211-218.
- [11] Sun H, Wang HX, Zhang PZ, et al. Changes in phenolic content, antioxidant activity, and volatile compounds during processing of fermented sorghum grain tea[J]. Cereal Chemistry, 2020, 97(3): 612-625.
- [12] R. Manivannan, D. Shiamala Devi. Structure Elucidation of New Flavone and Antioxidant, Anti-Inflammatory Activities from Leaves of *Vitex negundo* Linn[J]. Asian Journal of Chemistry, 2020, 32(5): 1043-1047.
- [13] Fernandes L, Casal S, Pereira JA, et al. Freezing of edible flowers: Effect on microbial and antioxidant quality during storage[J]. J Food Sci, 2020, 85(4): 1151-1159.

收稿日期: 2020-08-17; 修回日期: 2020-12-20

(上接第 32 页)

- [12] Lee HY, Kim SW, Lee GH, et al. Curcumin and Curcuma longa L. extract ameliorate lipid accumulation through the regulation of the endoplasmic reticulum redox and ER stress [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 6513.
- [13] 袁倩, 吴发印, 周鹤峰, 等. 姜黄素联合 5-氟尿嘧啶对黏液表皮样癌细胞的增殖抑制和促凋亡作用及其机制[J]. 广西医学, 2018, 40(8): 939-943.
- [14] Park BH, Lim JE, Jeon HG, et al. Curcumin potentiates antitumor activity of cisplatin in bladder cancer cell lines via ROS-mediated activation of ERK1/2 [J]. Oncotarget, 2016, 7(39): 63870-63876.
- [15] Zhu X, Shen H, Yin X, et al. miR-186 regulation of Twist1 and ovarian cancer sensitivity to cisplatin[J]. Oncogene, 2016, 35(3): 323-332.
- [16] Dicks N, Gutierrez K, Michalak M, et al. Endoplasmic reticulum stress, genome damage, and cancer[J]. Front Oncol, 2015, 5: 11.
- [17] 宋盈, 桂萍. 姜黄素通过内质网应激途径诱导肺癌 A549

细胞凋亡[J]. 武汉大学学报(医学版), 2018, 39(5): 705-707, 764.

- [18] Hetz C, Chevet E, Harding HP. Targeting the unfolded protein response in disease[J]. Nat Rev Drug Discov, 2013, 12(9): 703-719.
- [19] 徐晨阳, 覃月秋, 宋嗣恩, 等. PERK 通路与疾病关系的研究进展[J]. 右江民族医学院学报, 2020, 42(3): 365-368.
- [20] Li YM, Guo YS, Tang J, et al. New insights into the roles of CHOP-induced apoptosis in ER stress[J]. Acta Biochim Biophys Sin(Shanghai), 2014, 46(8): 629-640.
- [21] 白亮, 李耀辉, 王如. 姜黄素与 β -榄香烯联用对涎腺腺样囊性癌细胞株 SACC-LM 生长抑制和凋亡的协同作用[J]. 大连医科大学学报, 2010, 32(1): 26-30.
- [22] Iurlaro R, Muñoz-Pinedo C. Cell death induced by endoplasmic reticulum stress[J]. FEBS J, 2016, 283(14): 2640-2652.

收稿日期: 2020-10-28; 修回日期: 2020-11-24