

小檗碱及其亲脂性衍生物抑制恶性胶质瘤 C6 细胞的增殖及迁移与侵袭

付胜楠¹, 张国光¹, 庾 珏¹, 杨小晓², 朱文博², 颜光美², 胡海燕^{1*}

(中山大学 1. 药学院//药物制剂工程研究开发中心, 广东 广州 510006; 2. 中山医学院药理教研室, 广东 广州 510081)

摘要:【目的】考察小檗碱及其亲脂性衍生物对大鼠 C6 胶质瘤细胞增殖、迁移与侵袭的影响。【方法】合成四种小檗碱衍生物 9-O-十二烷基小檗碱(B3)、9-O-十六烷基小檗碱(B4)、9-O-十八烷基小檗碱(B5)、9-O-苄基小檗碱(B6)。采用 ¹H NMR、¹³C NMR 及 ESI-MS 确证其结构。四唑盐(MTT) 比色法检测化合物在不同浓度下作用 24、48、72 h 后对 C6 细胞增殖活性的影响; 细胞划痕实验和 transwell 迁移实验检测对细胞迁移能力的影响, transwell 侵袭实验检测对细胞侵袭能力的影响。【结果】MTT 结果显示, 衍生物抑制细胞增殖作用显著强于对照组与小檗碱组($P < 0.05$); 其中, B3 的抑制作用最强。划痕实验、transwell 迁移与侵袭实验结果显示, 与对照组比较, 小檗碱及其衍生物能明显抑制 C6 细胞的迁移与侵袭($P < 0.05$); 其中, B3 与 B4 抑制作用最强。【结论】小檗碱的亲脂性衍生物能有效地抑制 C6 胶质瘤细胞的增殖、迁移与侵袭, 为开发新的恶性胶质瘤治疗方法提供新的思路。

关键词:小檗碱; 恶性胶质瘤; 迁移; 侵袭; 增殖

中图分类号:R73 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2013)04-0531-06

Berberine and Its Lipophilic Derivatives Inhibit Proliferation, Migration and Invasion of Malignant Glioma C6 Cells

FU Sheng-nan¹, ZHANG Guo-guang¹, TUO Jue¹, YANG Xiao-xiao², ZHU Wen-bo²,
YAN Guang-mei², HU Hai-yan^{1*}

(1. School of Pharmaceutical Science//R & D Center of Pharmaceutics, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China; 2. Department of Pharmacology, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510089, China)

Abstract:【Objective】To evaluate the effect of berberine and its lipophilic derivatives on proliferation, migration and invasion of rat C6 glioma cells. 【Methods】Four berberine derivatives, 9-O-dodecyl-berberine (B3), 9-O-cetyl-berberine (B4), 9-O-octadecyl-berberine (B5), and 9-O-benzyl-berberine (B6) were synthesized and confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR, and ESI-MS. The effect of the derivatives at various concentrations on proliferative capability of C6 cells was detected by MTT method after treated for 24 h, 48 h, and 72 h. Effect on migrating capability was evaluated with the wound scratch and transwell migration assays. Effect on invasiveness was investigated with transwell invasion assays. 【Results】Compared with the control and berberine itself, berberine derivatives could significantly inhibit the proliferation of C6 glioma cells ($P < 0.05$), among which B3 shows the strongest action. Compared with the control, both berberine and its derivatives could obviously suppress the migration and invasion of C6 cells, supported by wound-scratch, transwell migration and invasion assays($P < 0.05$), among which B3 and B4 are the strongest ones. 【Conclusion】Lipophilic berberine derivatives could effectively restrain the proliferation, migration and invasion of C6 glioma cells, which provided a novel strategy for the malignant glioma therapy.

Key words: berberine; malignant glioma; migration; invasion; proliferation

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2013, 34(4): 531-536]

收稿日期: 2013-04-17

基金项目: 广东省自然科学基金(S2012010009237)

作者简介: 付胜楠, 在读硕士生, E-mail: fsn459738568@126.com; * 通信作者: 胡海燕, 副教授, E-mail: lsshhy@mail.sysu.edu.cn

恶性胶质瘤(malignant glioma)是中枢神经系统中最常见的原发性恶性肿瘤,发病率占颅内肿瘤的46%。手术是首选的治疗方法,但由于其呈浸润性生长,与正常脑组织无明显界限,手术难以切除,术后复发率高达96%^[1]。即使辅以放疗和化疗,术后平均生存期也不超过14个月^[2],预后极差。恶性胶质瘤的不可治愈性与其强迁移和侵袭能力密切相关。因此,抑制胶质瘤细胞的迁移与侵袭对恶性胶质瘤的治疗极为关键。然而,现存治疗手段并不能有效地抑制恶性胶质瘤的迁移与侵袭,导致治疗效果不佳。并且还存在着神经毒性、血液毒性^[3]、耐药性^[4]等诸多缺陷。因此,亟需开发一种安全、有效、低毒的化疗药物,控制恶性胶质瘤细胞的迁移与侵袭。小檗碱(berberine)是从黄连等中药材中提取分离得到的一种异喹啉类生物碱,口服安全性高,长期大量服用无血液、心血管及肝肾毒性^[5]。更重要的是,小檗碱可以抑制多种肿瘤的迁移与侵袭^[6-8],对胶质瘤有潜在的治疗作用^[9]。然而,小檗碱脂溶性较差,透膜效率低,使其难以到达肿瘤部位或进入肿瘤细胞,导致药效不理想。本研究设计合成了系列小檗碱的亲脂性衍生物(长链烷基或苄基取代),并考察了小檗碱及其衍生物对胶质瘤C6细胞增殖、迁移与侵袭的影响,以期获得同时抑制恶性胶质瘤增殖、迁移与侵袭的新方法。

1 材料与方 法

1.1 材 料

盐酸小檗碱购于西安小草植物科技有限公司,纯度97%;溴代十二烷、溴代十六烷、溴代十八烷、溴化苄均为分析纯,购于阿拉丁试剂有限公司;N,N-二甲基甲酰胺(DMF)为分析纯,用分子筛干燥处理,购于天津富宇精细化工有限公司;层析用中性氧化铝为国药集团产品;DMEM培养基(R10-013-cv)、胎牛血清(FBS)、胰蛋白酶、青霉素及链霉素均购于美国 cellgro 公司;四甲基偶氮唑盐(MTT)及二甲基亚砜(DMSO)均购于美国 Sigma 公司;实验用水为超纯水。大鼠胶质瘤 C6 细胞来自美国 ATCC 细胞库。Millicell Cell Culture Inserts (8.0 μm PET) 为美国 Millipore 公司产品。Avance^{III} 400 MHz 核磁共振谱仪为美国 Bruker 公司产品;超高效液相色谱串联质谱仪 UPLC-MS/

MS (TSQ Quantum Access Max) 为美国 Thermo scientific 公司产品;高速冷冻离心机(LEGEND MICRO 17R)为美国 Thermo scientific 公司产品;酶标仪(Microplate Reader)为美国 BIO-RAD 公司产品;倒置研究级显微镜(IX 71)为日本 OLYMPUS 公司产品;水套式 CO₂ 培养箱(HEPA class100)为美国 Thermo Scientific 公司产品。

1.2 小檗红碱的合成与鉴定

采用高温裂解法合成中间体小檗红碱(Berberrubine, B2)^[10]。取干燥的盐酸小檗碱 10 g (0.0269 mol),在 N₂ 保护下 190 °C 高温裂解 5 h。冷却至室温,丙酮 50 mL 清洗,得红色晶体 7.48 g,产率 87%。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 3.05–3.14 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 4.52–4.62 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 6.02 (s, 2H), 6.81 (s, 1H), 6.83 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.48 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 9.22 (s, 1H); ¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ: 28.96, 55.53, 56.79, 103.25, 105.81, 108.17, 109.20, 119.63, 121.71, 122.90, 124.21, 130.66, 133.74, 135.54, 147.31, 149.47, 150.85, 151.11; ESI-MS *m/z*: 322 [M+H]⁺。

1.3 小檗碱衍生物 B3, B4, B5 和 B6 的合成与鉴定

将 B2 与相应溴代物反应分别得到 B3, B4, B5 和 B6(图 1)。取 B2 0.32 g (1 mmol) 溶于 5 mL DMF 中,在 N₂ 保护下,80 °C 分别与相应溴代物反应 12 h (24 h 或 2 h),中性氧化铝柱纯化(氯仿-甲醇 100 ~ 200:1),分别得黄色结晶 B3, B4 (B5 或 B6),产率 70%~80%。

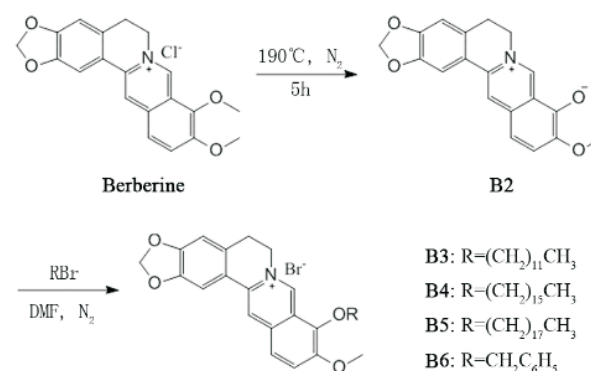


图 1 小檗碱衍生物的合成

Fig.1 Synthesis of berberine derivatives

9-O-十二烷基小檗碱 (B3) ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ : 0.85 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H), 1.39–1.22 (m, 16H), 1.42–1.52 (m, 2H), 1.81–1.94 (m, 2H), 3.24 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 4.05 (s, 3H), 4.28 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 4.91 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 6.17 (s, 2H), 7.09 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.99 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.19 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.95 (s, 1H), 9.76 (s, 1H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ : 13.87, 22.03, 25.21, 26.30, 28.65, 28.77, 28.97, 29.43, 31.23, 55.30, 57.00, 74.22, 102.03, 105.38, 108.35, 120.16, 120.37, 121.61, 123.26, 126.62, 130.58, 133.01, 137.36, 142.84, 145.20, 147.62, 149.76, 150.34; ESI-MS m/z : 490 $[\text{M}-\text{Br}]^+$.

9-O-十六烷基小檗碱 (B4) ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ : 0.85 (t, $J = 3.4$ Hz, 3H), 1.24 (s, 24 H), 1.48–1.58 (m, 2H), 1.87–1.96 (m, 2H), 3.23 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 4.05 (s, 3H), 4.29 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 4.95 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 6.18 (s, 2H), 7.09 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 8.00 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 8.20 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 8.94 (s, 1H), 9.75 (s, 1H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ : 13.87, 22.03, 25.22, 26.31, 28.64, 28.78, 28.99, 29.43, 31.23, 55.29, 57.01, 74.21, 102.05, 105.39, 108.36, 120.18, 120.40, 121.63, 123.24, 126.68, 130.62, 133.02, 137.40, 142.86, 145.23, 147.65, 149.78, 150.36; ESI-MS m/z : 546 $[\text{M}-\text{Br}]^+$.

9-O-十八烷基小檗碱 (B5) ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ : 0.86 (t, $J = 4.9$ Hz, 3H), 1.39–1.25 (m, 28H), 1.42–1.52 (m, 2H), 1.83–1.92 (m, 2H), 3.23 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H), 4.05 (s, 3H), 4.28 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.95 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 6.17 (s, 2H), 7.09 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 8.00 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.19 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.94 (s, 1H), 9.75 (s, 1H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ : 13.87, 22.01, 25.21, 26.31, 28.62, 28.75, 28.95, 29.41, 31.21, 55.30, 57.01, 74.22, 102.04, 105.39, 108.37, 120.18, 120.40, 121.65, 123.26, 126.70, 130.63, 133.03, 137.44, 142.87, 145.22, 147.66, 149.80, 150.37; ESI-MS m/z : 574 $[\text{M}-\text{Br}]^+$.

9-O-苄基小檗碱 (B6) ^1H NMR (400 MHz,

DMSO) δ : 3.21 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 4.08 (s, 3H), 4.91 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 5.36 (s, 2H), 6.17 (s, 2H), 7.08 (s, 1H), 7.38 (dt, $J = 8.5$, 5.1 Hz, 3H), 7.59 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.78 (s, 1H), 8.00 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.21 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.93 (s, 1H), 9.73 (s, 1H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ : 26.31, 55.33, 57.03, 75.32, 102.04, 105.39, 108.36, 120.15, 120.32, 121.77, 123.71, 126.49, 128.31, 128.37, 128.75, 130.57, 132.89, 136.40, 137.30, 141.95, 145.24, 147.63, 149.78, 150.66; ESI-MS m/z : 412 $[\text{M}-\text{Br}]^+$.

1.4 细胞培养

C6 胶质瘤细胞培养于 100 mL/L 胎牛血清 (FBS) 的 DMEM 高糖培养基, 在体积分数 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 的条件下培养。每隔 48 h 换培养液, 传代培养。

1.5 MTT 法检测细胞的生存率

设对照组及 4 个不同浓度药物组, 每组 3 个复孔。取对数生长期的 C6 细胞消化、计数, 按细胞数 10000/孔接种于 96 孔板, 培养于 37 $^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱 24 h 后, 加入不同浓度的药物溶液。继续培养 24、48、72 h 后, 每孔加入四唑盐溶液 (MTT, 5 mg/mL) 20 μL 继续培养 4 h, 吸弃上清液, 每孔加入 DMSO 100 μL , 振荡 10 min, 酶标仪上测定 570 nm 的吸光度 (A)。细胞存活率 = $A_{\text{药物组}}/A_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。

1.6 细胞划痕试验

取对数生长期的 C6 细胞并接种于 6 孔板, 置于培养箱, 待细胞长满单层约 90% 后, 用灭菌的 20 μL 枪头均匀地做细胞划痕, 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer solution, PBS) 冲洗细胞碎片 3 次, 更换为无血清 DMEM 培养液, 设对照组和药物组, 药物组培养液含药物浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 。24 h 后用倒置显微镜 ($\times 40$) 观察细胞的迁移程度并拍照。用 Image J2x (2.1.4.7 版) 软件测量细胞迁移距离。按照细胞相对迁移距离 = (0 h 划痕宽度 - 24 h 划痕宽度) / 0 h 划痕宽度 $\times 100\%$, 计算各组的相对迁移距离, 然后以对照组的相对迁移距离为 100%, 计算药物组的相对迁移率。

1.7 Transwell 迁移试验

胰蛋白酶消化并收集细胞, 含 100 mL/L FBS 的 DMEM 培养液洗涤 3 次, 无血清的 DMEM 培养液重悬 (细胞数 1×10^6 /mL)。均匀加入 200 μL 细胞悬液至上室, 同时加入相同浓度 (5 $\mu\text{mol/L}$) 的

不同药物溶液;下室加入含 100 ml/L FBS 的 DMEM 培养液 700 μ L, 37 $^{\circ}$ C 培养 24 h。取出上室,用棉签擦去上室细胞,多聚甲醛固定 5 min,弃固定液,0.1% 结晶紫染液染色 30 min, PBS 洗 3 遍,显微镜($\times 200$)下摄片并计数;同时,用以评估总细胞数的 96 孔板进行 MTT 检测。每组平行设 3 个小孔,实验重复 3 次。最终,细胞的迁移能力用迁移率评价,迁移率=迁移细胞数/等浓度下 MTT 的吸光度值 $\times 100\%$ 。各组迁移率与对照组迁移率的比值即相对迁移率。

1.8 Transwell 侵袭试验

4 $^{\circ}$ C 溶解 Matrigel 过夜,用 4 $^{\circ}$ C 预冷的无血清 DMEM 培养液稀释至 1 mg/mL,取稀释的 Matrigel 50 μ L 加入预冷的 Transwell 上室,37 $^{\circ}$ C 温育 4 h 使凝胶形成。以下操作同 1.7 所述。最终,细胞的侵袭能力用侵袭率评价,侵袭率=侵袭细胞数/等浓度下 MTT 的吸光度值 $\times 100\%$ 。各组侵袭率与对照组侵袭率的比值即相对侵袭率^[11]。

1.9 统计学分析

应用 SPSS 13.0 统计学软件分析。均值检验采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 衍生物对细胞增殖的影响

图 2 A 表示不同浓度的小檗碱及其衍生物(B3, B4, B5 和 B6)作用 24 h 后,C6 细胞的生存

率变化。由图可见,小檗碱及其衍生物对 C6 细胞的增殖抑制作用呈剂量依赖性,不同浓度组(0、5、10、20、40 μ mol/L)之间细胞存活率差异具有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组相比,小檗碱在浓度大于 20 μ mol/L 时呈现明显的增殖抑制作用($P < 0.05$)。小檗碱衍生物(B3, B4, B5 和 B6)对细胞增殖的抑制作用较小檗碱显著($P < 0.05$)。其中,B3 的增殖抑制作用最强,5 μ mol/L 即对细胞的增殖活性产生明显影响,且各浓度的细胞生存率均明显低于小檗碱及其他衍生物($P < 0.05$)。小檗碱及其衍生物的增殖抑制作用由强到弱依次为:B3 > B6 > B4 > B5 > 小檗碱 > 对照组($P < 0.05$)。

图 2 B、C、D、E 为不同浓度的 B3, B4, B5 和 B6 作用于 C6 细胞 24 h、48 h 及 72 h 后细胞生存率的变化。小檗碱衍生物对 C6 细胞增殖的抑制作用呈明显的剂量和时间依赖性($P < 0.05$)。

2.2 衍生物对细胞迁移的影响

划痕实验结果(图 3 A)显示,对照组及小檗碱组的细胞划痕于 24 h 后几乎被迁移过来的细胞所覆盖,覆盖面积达 90% 以上;而各衍生物组的划痕区域仍明显可见。比较各组间的相对迁移率(图 3 B),药物组与对照组间有显著性差异,而衍生物对迁移的抑制作用明显强于原料药小檗碱($P < 0.05$)。其中,B3 对 C6 细胞的迁移抑制作用最强,相对迁移率($13.75\% \pm 4.86\%$)明显低于其他衍生物组($P < 0.05$)。B4 组的相对迁移率为 $23.56\% \pm 8.67\%$,对细胞迁移的抑制作用仅次于 B3,而强于

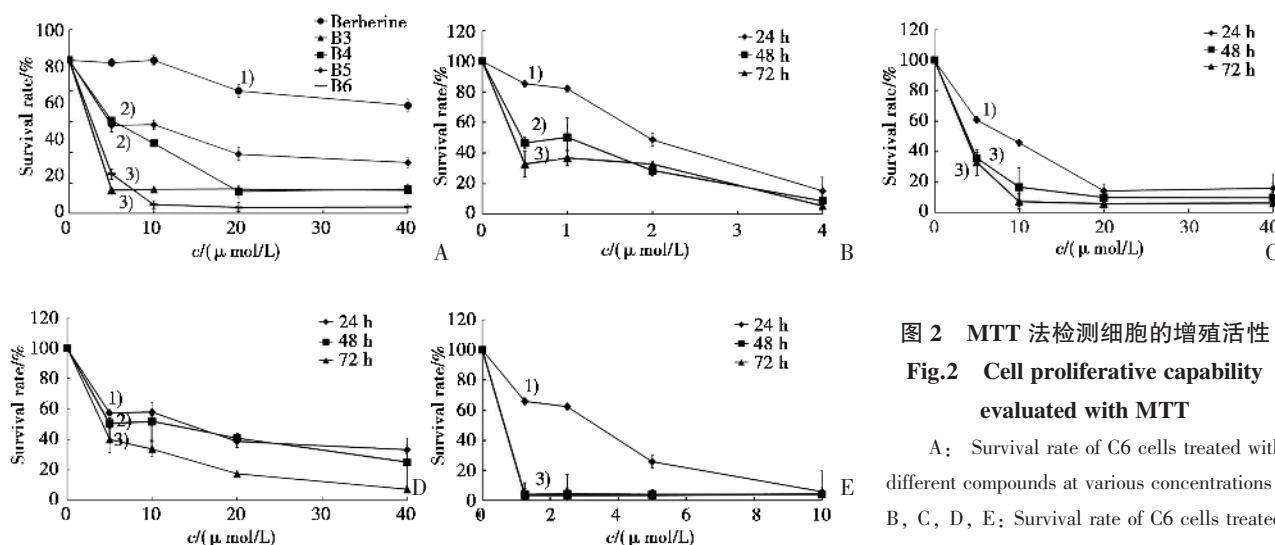


图 2 MTT 法检测细胞的增殖活性
Fig.2 Cell proliferative capability evaluated with MTT

A: Survival rate of C6 cells treated with different compounds at various concentrations; B, C, D, E: Survival rate of C6 cells treated with B3, B4, B5 or B6 respectively at various

concentrations for 24 h, 48 h and 72 h; B3: 9-O-dodecyl-berberine; B4: 9-O-cetyl-berberine; B5: 9-O-octadecyl-berberine; B6: 9-O-benzyl-berberine; $\bar{x} \pm s$, $n=3$. 1) $P < 0.05$, versus control; 2) $P < 0.01$, versus control; 3) $P < 0.001$, versus control.

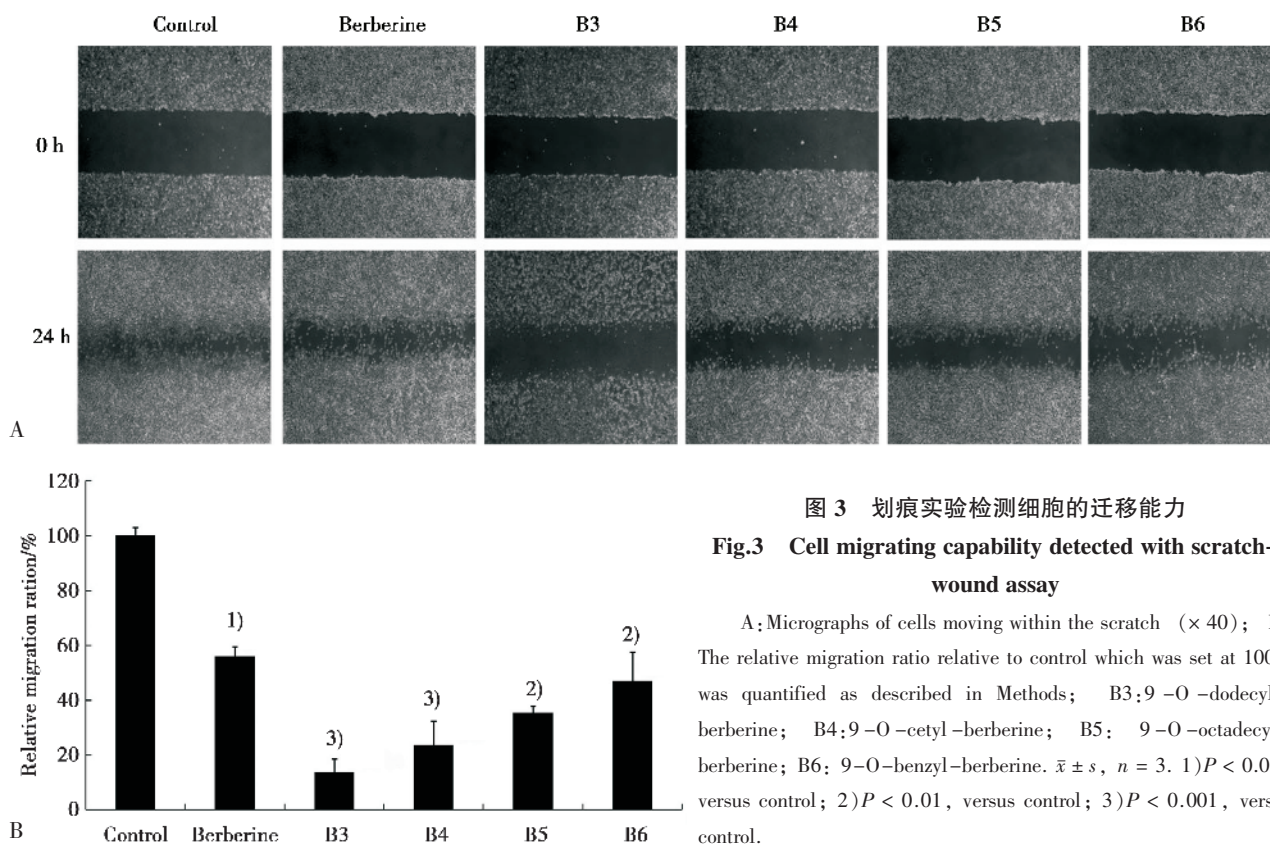


图3 划痕实验检测细胞的迁移能力

Fig.3 Cell migrating capability detected with scratch-wound assay

A: Micrographs of cells moving within the scratch ($\times 40$); B: The relative migration ratio relative to control which was set at 100% was quantified as described in Methods; B3: 9-O-dodecyl-berberine; B4: 9-O-cetyl-berberine; B5: 9-O-octadecyl-berberine; B6: 9-O-benzyl-berberine. $\bar{x} \pm s$, $n = 3$. 1) $P < 0.05$, versus control; 2) $P < 0.01$, versus control; 3) $P < 0.001$, versus control.

B5 和 B6 (相对迁移率分别为 $35.46\% \pm 2.33\%$ 和 $46.89\% \pm 10.56\%$)。

Transwell 迁移实验结果(图 4, 见封 2)显示, B3 与 B4 组迁移至下室的细胞数最少, 而小檗碱、B5、B6 组细胞数相当($P > 0.05$), 但均少于对照组($P < 0.05$)。而 B3 与 B4 的迁移细胞数间差异不具有统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 衍生物对细胞侵袭的影响

经药物处理后, C6 细胞穿过重组人工基底膜的细胞数明显少于对照组, 侵袭能力受到抑制, 差异具有统计学意义($P < 0.05$, 图 5, 见封 2)。其中, B3 与 B4 (相对侵袭率分别为 $40.78\% \pm 3.72\%$ 和 $20.36\% \pm 5.84\%$) 对侵袭的抑制作用明显强于原料药小檗碱 (相对迁移率为 $56.17\% \pm 4.00\%$), 而 B4 对侵袭的抑制作用更加明显。B5、B6 对侵袭的抑制作用与小檗碱相当。对侵袭的抑制作用由强到弱依次为: B4 > B3 > B5 \approx B6 \approx 小檗碱 > 对照。

3 讨论

强迁移与侵袭能力是制约恶性胶质瘤患者

获得长生存期的关键因素。然而, 目前的大量细胞毒性药物不仅不能有效地抑制胶质瘤的迁移与侵袭, 相反耐药性、骨髓抑制效应限制了其临床应用。

小檗碱作为黄连等传统中药材中的主要有效成分, 以其突出的抗肿瘤活性及口服安全性, 逐渐引起人们的关注。有研究表明, 小檗碱可以有效抑制肝癌^[6]、人舌鳞癌^[7]、黑色素瘤^[8]、乳腺癌^[12]、膀胱癌^[13]等的迁移与侵袭, 但未见对胶质瘤迁移与侵袭的影响的报道。本研究通过实验发现, 与对照相比, 小檗碱不仅能有效地抑制胶质瘤 C6 细胞的增殖, 更能同时有效地抑制细胞的迁移与侵袭能力。

但考虑到小檗碱的脂溶性较差, 很难有效地透过生物膜运送到病变部位和细胞内, 这可能是影响其药效的主要原因。因此, 本研究采用化学合成的方法将亲脂性基团(长链烷基或苄基)与母体药物小檗碱以醚键结合形成脂溶性衍生物, 通过提高跨膜转运, 增强药效。

实验结果表明, C-9 氧原子引入十二烷基(B3)后, 对 C6 细胞的增殖抑制作用最为明显, 随着碳链增长, 作用逐渐减弱, 但均强于母体药物小

槲碱;引入十二烷基(B3)或十六烷基(B4)时,对迁移抑制作用的提高最为明显,引入更长碳链或苜基对迁移的抑制作用与母体药物小槲碱相比无明显改善;引入十六烷基(B4)时,对侵袭的抑制作用最强,而引入更长碳链或苜基对侵袭的抑制作用与母体药物小槲碱相比无明显改善。

可见,小槲碱的C-9氧原子上引入适宜长度的烷基链是提高其对胶质瘤细胞增殖、迁移与侵袭的同时抑制作用的关键。相比之下,引入苜基虽可以明显改善增殖抑制作用,但对迁移与侵袭的抑制作用无明显改善。故推测,该类化合物的细胞毒性与其对迁移和侵袭的抑制作用之间无相关性。

在划痕实验条件下,小槲碱及其衍生物能明显抑制细胞的迁移能力,却并未引起大量细胞的死亡(图2)。并且,衍生物的取代基团与小槲碱母核之间以醚键连接,在体内相对稳定,分解产生新的毒性代谢产物的可能性较小。

本研究成功合成了四种小槲碱亲脂性衍生物,发现适当增加小槲碱的亲脂性可增强其对C6胶质瘤细胞的增殖、迁移与侵袭的抑制作用。主要原因可能为,相对于小槲碱,衍生物对生物膜的跨膜效应得到增强,从而提高了生理活性。小槲碱C-9位衍生化对胶质瘤细胞增殖、迁移与侵袭作用的构效关系及其作用机制,以及衍生物的安全性评价正在进一步研究中。

(致谢:衷心感谢中山大学药学院尹胜老师、黄玲老师、苏涛同学、李俊明同学和韦玮同学,及中山大学中山医学院肖晓同学、吴思涵同学在实验过程中提供的无私帮助!)

(本文图4、图5见封2)

参考文献:

- [1] Berens ME, Giese A. "…those left behind." Biology and oncology of invasive glioma cells[J]. *Neoplasia*, 1999, 1(3): 208-219.
- [2] Van Meir EG, Hadjipanayis CG, Norden AD, et al. Exciting new advances in neuro-oncology: the avenue to a cure for malignant glioma [J]. *CA Cancer J Clin*, 2010, 60(3): 166-193.
- [3] Lanzetta G, Minniti G. Treatment of glioblastoma in elderly patients: an overview of current treatments and future perspective[J]. *Tumori*, 2010, 96(5): 650-658.
- [4] Friedman HS, Kerby T, Calvert H. Temozolomide and treatment of malignant glioma [J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(7): 2585-2597.
- [5] Hu YS, Ehli EA, Kittelsrud J, et al. Lipid-lowering effect of berberine in human subjects and rats [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(10): 861-867.
- [6] Liu B, Wang GS, Yang J, et al. Berberine inhibits human hepatoma cell invasion without cytotoxicity in healthy hepatocytes[J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): e21416.
- [7] Ho YT, Yang JS, Li TC, et al. Berberine suppresses in vitro migration and invasion of human SCC-4 tongue squamous cancer cells through the inhibitions of FAK, IKK, NF- κ B, α -PA and MMP-2 and-9 [J]. *Cancer Lett*, 2009, 279(2): 155-162.
- [8] Hamsa TP, Kuttan G. Berberine inhibits pulmonary metastasis through down-regulation of MMP in metastatic B16F-10 melanoma cells[J]. *Phytother Res*, 2012, 26(4): 568-578.
- [9] Lin TH, Kuo HC, Chou FP, et al. Berberine enhances inhibition of glioma tumor cell migration and invasiveness mediated by arsenic trioxide [J]. *BMC Cancer*, 2008, 8: 58.
- [10] Iwasa K, Kamigauchi M, Ueki M, et al. Antibacterial activity and structure-activity relationships of berberine analogs[J]. *Eur J Med Chem*, 1996, 31(6): 469-478.
- [11] 王天宝, 林维浩, 石汉平, 等. Lenti-CXCR4-siRNA慢病毒对SW480结肠癌细胞株生长与侵袭的影响[J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2012, 33(6): 744-748.
Wang TB, Lin WH, Shi HP, et al. Influence of lenti-CXCR4-siRNA lentivirus to growth and invasion of SW480 colorectal cell[J]. *J Sun Yat-sen Uni: Med Sci*, 2012, 33(6): 744-748.
- [12] Kuo HP, Chuang TC, Tsai SC, et al. Berberine, an isoquinoline alkaloid, inhibits the metastatic potential of breast cancer cells via akt pathway modulation [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(38): 9649-9658.
- [13] Yan L, Yan KQ, Kun W, et al. Berberine inhibits the migration and invasion of T24 bladder cancer cells via reducing the expression of heparanase [J]. *Tumor Biol*, 2013, 34(1): 215-221.

(编辑 孙慧兰)