

黄芩苷对脑胶质瘤 U251 体外增殖、迁移及凋亡的影响

郑寿招¹ 党 源²¹ 古田县医院 福建古田 352200² 福建省肿瘤医院 福建福州 350014

【摘要】背景与目的 神经胶质瘤是神经系统肿瘤中发病率最高且严重危害人类健康的恶性肿瘤。本研究分析不同浓度黄芩苷对体外培养人脑胶质瘤 U251 细胞的增殖、迁移及凋亡的作用, 探讨黄芩苷对肿瘤细胞增殖、迁移及凋亡的调控作用, 以期开发黄芩苷作为肿瘤抑制药物的重要潜能。**方法** 将 0 μ m/L, 50 μ m/L, 100 μ m/L, 200 μ m/L, 400 μ m/L 和 800 μ m/L 的黄芩苷处理细胞, 应用 CCK-8, 划痕实验, 流式细胞仪检测细胞凋亡、Western Blot 等细胞学方法检测不同浓度的黄芩苷对细胞增殖、迁移及凋亡及相关蛋白表达的影响。**结果** 与对照组相比, 不同浓度的黄芩苷均能抑制神经胶质瘤 U251 细胞的增殖和迁移, 且抑制作用呈剂量依赖效应, 200 μ m/L, 400 μ m/L 和 800 μ m/L 黄芩苷能显著抑制胶质瘤细胞的增殖 ($P<0.01$); 并且促进 U251 细胞的凋亡, 也呈剂量依赖效应, 200 μ m/L, 400 μ m/L 和 800 μ m/L 黄芩苷能显著促进胶质瘤细胞的凋亡 ($P<0.01$)。**结论** 黄芩苷对人胶质瘤细胞 U251 的增殖和迁移具有抑制作用, 凋亡具有促进作用, 且抑制及促进效果与药物使用剂量正相关。黄芩苷对于肿瘤治疗效果的研究具有重要意义, 有望成为高效抑制肿瘤发生的候选药物。

【关键词】 黄芩苷; 神经胶质瘤; 增殖; 凋亡**【中图分类号】** R96**【文献标识码】** A**【文章编号】** 1671-4083 (2022) 10-001-05

【Abstract】Background and purpose Glioma is a malignant tumor with the highest incidence and serious harm to human health. Accumulating evidence has demonstrated that baicalin exhibits potent antitumor properties by suppressing cell growth and inducing apoptosis in tumor cell lines. However, whether or not glioma cell U251 is involved in baicalin-induced apoptosis and baicalin-inhibit proliferation underlying the antitumor activity of baicalin remain unclear. This study aim to suggest baicalin was a tumor suppressor drugs with different concentration could effect on human glioma U251 of cells proliferation, migration and apoptosis. **Methods** The cells were treated with baicalin at 0, 50, 100, 200, 400 and 800 μ m/L. The effects of baicalin at different concentrations on cell proliferation, migration, apoptosis and related protein expression were detected by CCK-8, scratch test, flow cytometry and Western Blot. **Results** It was show that compared with the control group, different concentration of baicalin can inhibit U251 glioma cell proliferation and migration in dose dependent inhibition effect, higher contraction baicalin as 200 μ m/L, 400 μ m/L and 800 μ m/L can significantly inhibit the proliferation and migration of glioma cells efficiency ($p<0.01$); In addition, the apoptosis of U251 cells which with baicalin processing was promoted upon the dose and time-dependent, 200 μ m/L, 400 μ m/L and 800 μ m/L of baicalin can significantly promote the apoptosis efficiency of glioma cells ($p<0.01$). **Conclusion** Baicalin can inhibit U251 glioma cells the proliferation and migration, promoting effects of apoptosis in vitro, baicalin was a great significance for tumor treatment research, is expected to become effective inhibition of tumor drug candidates.

【Key words】 Baicalin; Glioma; Proliferation; Apoptosis

人的中枢神经系统原发恶性肿瘤中胶质瘤占 80% 左右, WHO 分类将胶质瘤分为 I~IV 级, 其恶性程度随等级递增^[1]。其中低级别胶质瘤有 WHO I 级和 WHO II 级, 高级别胶质瘤有 WHO III 级和 WHO IV 级, 尽管每个等级的胶质瘤都有其相对特异性预后可指导临床治疗, 但在临床诊断上绝大部分胶质瘤是高级别胶质瘤, WHO III 级的间变性胶质细胞瘤和 WHO IV 级的胶质母细胞瘤的患者基本上是很难治愈的, 中位生存期分别只有 2~5 年和 12~15 个月^[2]。现今治疗该疾病只能手术切除或替莫唑胺辅助化疗联合化疗^[3]。胶质瘤本身对放疗具有抵抗性, 从而导致其复发率较高, 患者治疗效果不佳。

黄芩苷是从黄芩的根中提炼出来的一种黄酮类化合物, 具有抗菌、消炎、清除自由基和保护血管等功能^[4,5], 同时参与多种细胞生命活动的相关分子信号通路调节, 在临床研究和应用中有着重要意义。越来越多的证据表明黄芩苷通过抑制细胞生长, 阻止细胞周期和诱导分化或凋亡^[6,7], 但并不影响宿主细胞和正常细胞^[8]。黄芩苷对肿瘤的生长具有负调控作用, 但其具体的作用机制还有待进一步研究。

本研究通过脑胶质瘤细胞的体外模型实验, 探讨不同剂量的黄芩苷对肿瘤细胞的增殖、迁移和凋亡的影响。为进一步研究黄芩苷在肿瘤调控中的分子机制的阐明提供实验依据,

并为药用植物在肿瘤治疗中的应用及推广提供实践基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及细胞株

人神经胶质瘤细胞 U251 来源于 ATCC 细胞库; 黄芩苷购自于北京索莱宝科技有限公司 (s90016), 用 DMSO (Sigma) 配置成 200mmol/L 浓度的储存液, 至于 -20℃ 冰箱储存备用; CCK-8 试剂盒由无锡碧云天生物技术有限公司供应; 胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司; 高糖 DMEM 购于 HyClone 公司; AnnexinV Alexa Fluor647/PI 凋亡检测试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司; SDS-PAGE 凝胶配置试剂盒及脱脂奶粉购于北京鼎国昌盛生物技术有限公司; 山羊抗人 β -Actin、Bax、Capases-8、HRP 标记的山羊抗兔 IgG 均购于 Servicebio 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人神经胶质瘤细胞 (U251) 用含 10%FBS DMEM+100U/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素完全培养基, 至于含 5% CO₂, 37℃ 恒温培养箱培养。2~3d 待铺满瓶壁 80%~90% 时, 用胰酶消化传代培养。

1.2.2 细胞增殖实验 将消化后的 U251 细胞, 用完全培养基重悬细胞后, 吸取 50 μ l 细胞与 150 μ l 的台盼蓝混合, 进而

用细胞计数进行计数。确定细胞浓度，配置 $2.5 \times 10^4/\text{mL}$ 细胞悬液，而后在 96 孔板中每孔加入 100 μL 细胞。过夜培养后，每孔更换终浓度为 0、50、100、200、400 和 800 $\mu\text{m/L}$ 的完全培养液，且每孔中含相同浓度的 DMSO。培养 0d、1d、3d、5d 及 7d 后，除去含有黄芩苷的培养液，PBS 洗一次后，每孔加入 100 μL 新鲜的完全培养基，进而加入 10 μL LCK-8 至各孔，震荡 15s 后，至于 37℃ 恒温培养箱孵育 1h，酶标仪 450nm 处的读取吸光度值。

1.2.3 细胞划痕实验消化后进行细胞计数，调整细胞浓度 $5 \times 10^5/\text{mL}$ ，并接种 6 孔板中。待细胞融合度至 90% 时。将消毒过的尺子至于细胞培养板上，用 200 μL 的枪头沿着尺子划取三条痕迹，而后用 PBS 洗一次。并加入黄芩苷终浓度为 0 $\mu\text{m/L}$ 、50 $\mu\text{m/L}$ 、100 $\mu\text{m/L}$ 、200 $\mu\text{m/L}$ 、400 $\mu\text{m/L}$ 和 800 $\mu\text{m/L}$ 的 2% FBS MEM 维持液。培养 0h、24h、48h 后，于倒置显微镜下拍照记录，分别记录 0h、24h、48h 的细胞划痕愈合情况，计算细胞迁移距离。

1.2.4 细胞凋亡实验将神经胶质瘤细胞 U251 消化并接种到 6 孔板中，待细胞融合度至 60–70% 时。换含有黄芩苷终浓度为 0、50、100、200、400 和 800 $\mu\text{m/L}$ 完全培养液。黄芩苷作用细胞 24h 后，胰酶消化并离心，用 0.5ml 的结合缓冲液悬浮细胞，而后分别向每管中加入 5 μL Annexin V-FITC，用移液管充分混匀，而后加入 5 μL Propidium Iodide，用移液管充分混匀，避光反应 5–15min，在 1h 内用流式细胞仪进行检测。凋亡百分比 = 早期凋亡百分比 + 晚期凋亡百分比

1.2.5 Western Blot 检测 Bax、Caspase-8 蛋白水平变化 0.25% 胰蛋白酶消化对照组和 200、800 $\mu\text{m/L}$ 浓度黄芩苷作用 24h 后的 U251 细胞，预冷 PBS 洗涤 2 遍，按照 1×10^6 细胞：99 μL 裂解缓冲液 + 1 μL 蛋白酶抑制剂的比例裂解细胞，4℃ 孵育 30min 后，于 4℃，12000g 离心 2min，收集上清，-80℃ 分装保存。配制浓缩胶及分离胶，每孔加 30 μg 蛋白样品，SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白后，将蛋白转移至 PVDF 膜上，脱脂奶粉摇床上封闭 1h，分别加入兔抗人 β -Actin、Bax、Caspase-8 多克隆抗体（稀释浓度分别为 1:2000、1:1000、1:1000），于 4℃ 冰箱过夜，1xTBS/T 洗涤 3 次，再与 HRP 标记的山羊抗兔 IgG（稀释浓度为 1:3000）室温反应 1h，1xTBS/T 洗涤 3 次，封膜进行曝光。采用 Image J 软件对曝光结果进行定量分析，结果以目的蛋白与 β -Actin 的累积吸光度比值表示。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 21.0 及 Graphpad7.0 软件进行统计分析，组间 $P < 0.05$ 表示统计有显著差异。

2 结果与分析

2.1 黄芩苷对细胞增殖的影响

应用 CCK-8 法检测黄芩苷对细胞增殖的影响，低浓度的黄芩苷只能轻微抑制 U251 细胞的增殖，而高浓度组抑制增殖较明显，增殖的被抑制程度受黄芩苷浓度影响，具有浓度依赖性（图 1）。黄芩苷可以抑制细胞的增殖，其可能有助于体内抑制肿瘤组织的增殖。

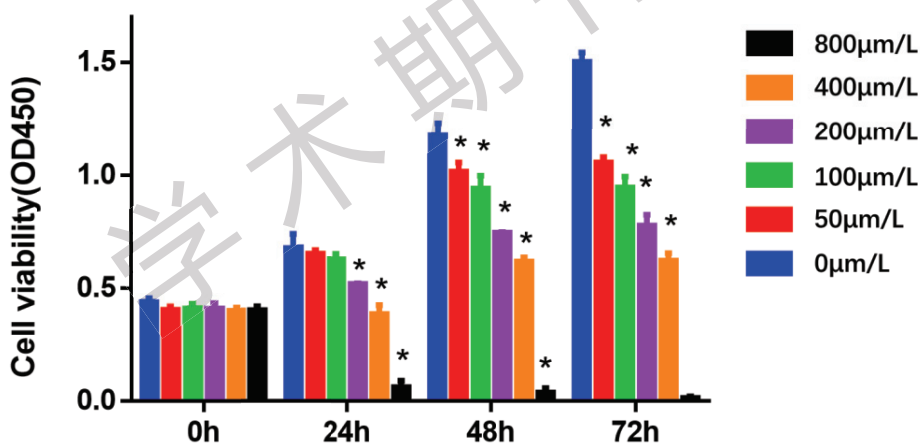


图 1：黄芩苷影响胶质瘤 U251 细胞增殖

Fig 1. The influence of baicalin on the proliferation rate of U251 cell at the concentration of 0 $\mu\text{m/L}$, 50 $\mu\text{m/L}$, 100 $\mu\text{m/L}$, 200 $\mu\text{m/L}$, 400 $\mu\text{m/L}$ and 800 $\mu\text{m/L}$, respectively

2.2 黄芩苷对细胞迁移的影响

胶质瘤细胞 U251 经 200 μL 枪头划痕后，经 0 $\mu\text{m/L}$ 、50 $\mu\text{m/L}$ 、100 $\mu\text{m/L}$ 、200 $\mu\text{m/L}$ 、400 $\mu\text{m/L}$ 和 800 $\mu\text{m/L}$ 的黄芩苷作用不同的时间，0h、24h、48h 后，拍照并测定细胞迁移距离，并将其与对照组（0 $\mu\text{m/L}$ ）迁移距离相比，黄芩苷作用组迁移受到明显的抑制（图 2）。对照组在 48h 时已经完全愈合，说明迁移速度最快，迁移距离最长。而低浓度（50 $\mu\text{m/L}$ 和 100 $\mu\text{m/L}$ ）黄芩苷组对 U251 细胞有一定的抑制，与对照组相比差异显著。高浓度组抑制非常明显，特别是 400 $\mu\text{m/L}$ 和 800 $\mu\text{m/L}$ 组。

2.3 黄芩苷对细胞凋亡的影响

黄芩苷作用后，应用流式细胞术检测，各组细胞调

亡率分别为：0 $\mu\text{m/L}$ 组（ $15.53 \pm 2.233\%$ ）、100 $\mu\text{m/L}$ 组（ $26.05 \pm 0.7611\%$ ）、400 $\mu\text{m/L}$ 组（ $46.74 \pm 3.959\%$ ）和 800 $\mu\text{m/L}$ 组（ $77.92 \pm 2.222\%$ ）（图 3）。随着黄芩苷浓度的增加，细胞凋亡率也增加，并且黄芩苷 100 $\mu\text{m/L}$ 组、400 $\mu\text{m/L}$ 组和 800 $\mu\text{m/L}$ 组的细胞凋亡率同对照组相比，差异均有统计学意义。

2.4 黄芩苷对 U251 细胞 Bax、Caspase-8 蛋白表达的影响

Western Blot 分析显示，不同浓度的黄芩苷作用于 U251 细胞 48h 后，Bax、Caspase-8 蛋白表达水平明显升高，具有明显的剂量依赖关系（图 4， $p < 0.05$ ），表明高浓度黄芩苷可以明显上调 U251 细胞 Bax 及 Caspase-8 的表达，促进肿瘤细胞的凋亡。

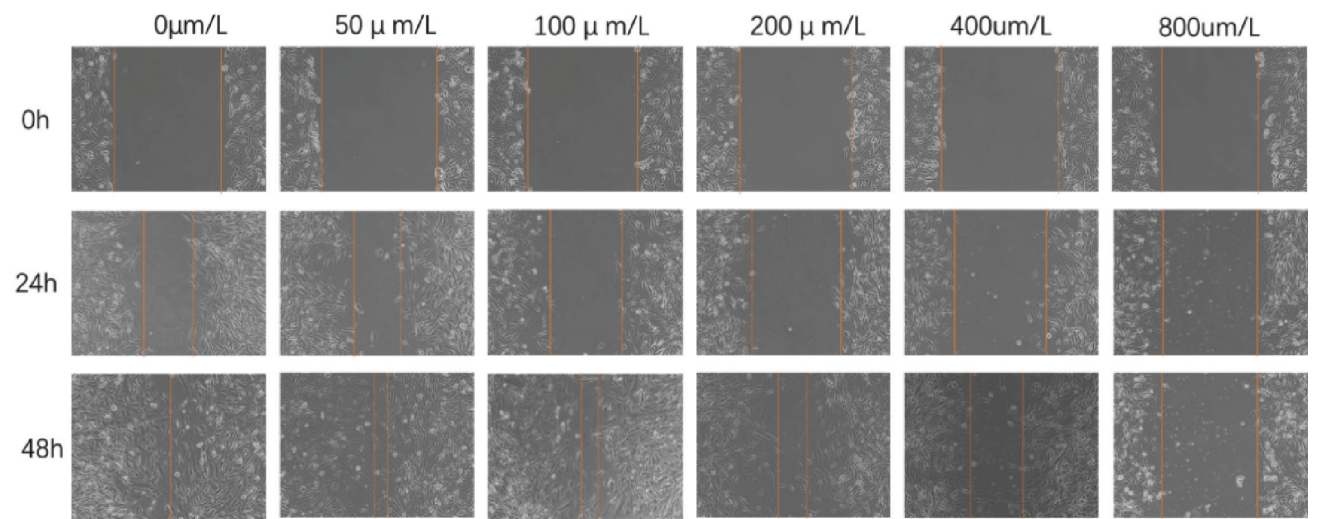
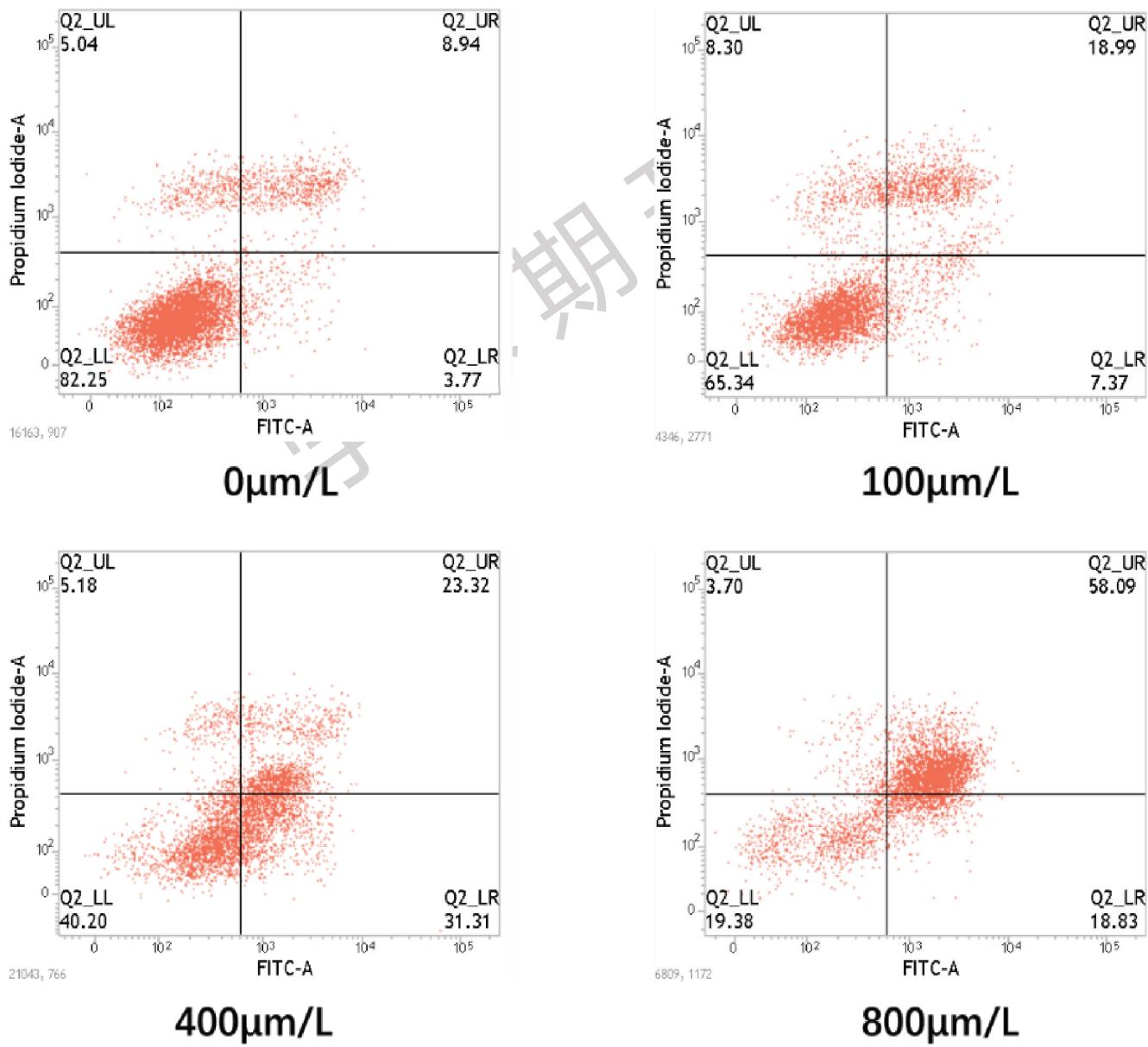


图 2: 黄芩苷对胶质瘤细胞 U251 迁移影响

Fig 2.The influence of baicalin on the migration of U251 cell at the concentration of 0 μm/L, 50 μm/L, 100 μm/L, 200 μm/L, 400 μm/L and 800 μm/L, respectively



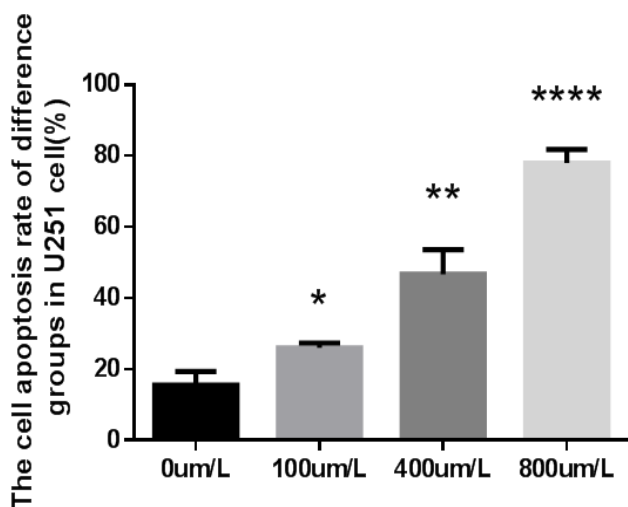


图 3: 黄芩苷影响胶质瘤 U251 细胞凋亡

Fig 3. The influence of baicalin on the apoptosis of U251 cell at the concentration of 0 μm/L, 100 μm/L, 400 μm/L and 800 μm/L, respectively.

3 讨论

传统化疗药物的治疗效果之所以不理想,是因为神经胶质瘤具有异质性、耐药性、血脑屏障及全身副作用等因素。

神经胶质瘤综合治疗中最重要的环节就是术后化疗,其重要作用就是进一步歼灭体内残留肿瘤细胞,防止其复发。现在越来越多的研究旨在探求一些新的药物来治疗神经胶质瘤。这些药物可以通过诱导细胞分化、凋亡和坏死等方式抑制来对肿瘤细胞生长。最终作用于肿瘤细胞生长繁殖的不同环节上,起到了抑制或杀死肿瘤细胞。

前人实验结果中显示,黄芩苷作用组和未处理组相比,其可以抑制很多肿瘤细胞的生长和迁移,包括卵巢癌细胞系^[9],肺癌细胞^[10],乳腺癌细胞^[11],人类骨肉瘤细胞^[12],肝癌细胞系^[13,15],子宫颈癌细胞^[16],胆囊癌^[17],具有剂量依赖性,但黄芩苷对正常细胞无影响。黄芩苷抑制 A2780 增殖,促进细胞凋亡^[9]。黄芩苷对人结肠癌细胞具有显著的抗增殖作用,使 HCT-116 细胞 S 期细胞周期阻滞和促凋亡作用^[13]。黄芩苷可以在体内抑制肿瘤生长,诱导 HepG2 细胞凋亡,使细胞周期停滞在 G2-M 期,同时诱导 HepG2 细胞凋亡^[15]。

本研究中,我们应用不同浓度的黄芩苷作用人神经胶质瘤 U251 细胞,发现黄芩苷可以有效抑制 U251 细胞的增殖和迁移,促进凋亡,且具有浓度和时间的依赖性。50 μm/L 及 100 μm/L 黄芩苷虽然也有抑制作用,但是需要时间较长,200 μm/L 以上黄芩苷对 U251 具有显著的效果。未来我们将其用于体内实验研究,探寻更适宜的浓度及给药方式,以有效治疗神经胶质瘤,及探寻黄芩苷治疗神经胶质瘤的分子机制。

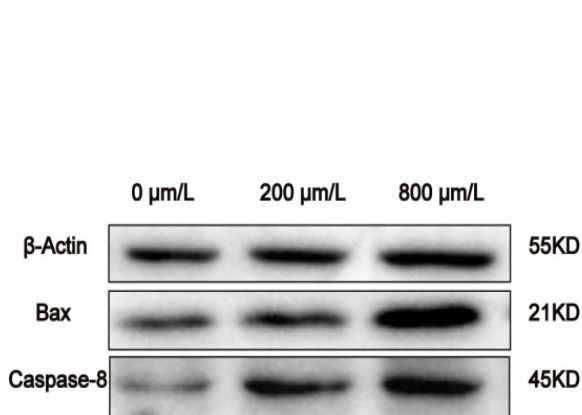
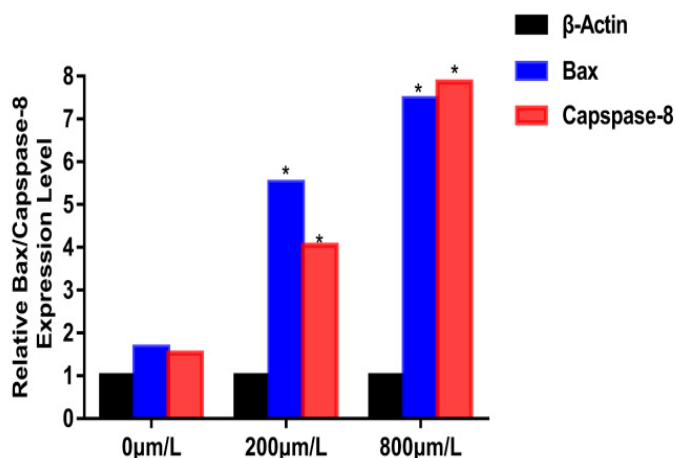


图 4: 黄芩苷对 Bax、Caspase-8 蛋白表达的影响

Fig 4. Effect of Baicalin on Bax and Caspase-8 Protein Expression

参考文献

- [1]Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system[J]. Acta Neuropathol. 2007,114(2):97-109.
- [2]Wen PY, Kesari S. Malignant gliomas in adults[J]. N Engl J Med. 2008, 359(5):492-507.
- [3]Benesch M, Eder HG, Sovinz P, et al. Residual or recurrent cerebellar low-grade glioma in children after tumor resection: is re-treatment needed? A single center experience from 1983 to 2003[J]. PediatrNeurosurg. 2006;42(3):159-164.
- [4]Huang WH, Lee AR, Yang CH. Antioxidative and anti-inflammatory activities of polyhydroxyflavonoids of Scutellaria baicalensis GEORGI[J]. BiosciBiotechnolBiochem. 2006,70(10):2371-2380.
- [5]Shang X, He X, He X, et al. The genus Scutellaria



an ethnopharmacological and phytochemical review[J]. J Ethnopharmacol. 2010;128(2):279-313.

[6]Ikezoe T, Chen SS, Heber D, Taguchi H, Koeffler HP. Baicalin is a major component of PC-SPES which inhibits the proliferation of human cancer cells via apoptosis and cell cycle arrest[J]. Prostate. 2001;49:285-292.

[7]Zheng J, Hu JD, Chen YY, et al. A306 Baicalin induces apoptosis in leukemia HL-60/ADR cells via possible down-regulation of the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Asian Pac J Cancer Prev. 2012;13(4):1119-1124.

[8]Parajuli P, Joshee N, Rimando AM, Mittal S, et al. In vitro antitumor mechanisms of various Scutellaria extracts and constituent flavonoids[J]. Planta Med. 2009;75(1):41-48.

[9]Gao C, Zhou Y, Li H, et al. Antitumor effects of baicalin (下转第 6 页)

等不同恶性肿瘤患者均具有较高的肿瘤浸润与外周血淋巴细胞 CD4+CD25+Treg 比例, 说明肿瘤机体受损的细胞免疫和 CD4+CD25+Treg 免疫抑制功能相关。本研究结果表明, 晚期肺癌患者的外周血 CD4+CD25+T 细胞数量多于健康对照组 ($t=20.252, P<0.05$), 原因可能为升高的 CD4+CD25+Treg 能够对自身免疫耐受进行维持, 途径为对效应 T 细胞功能进行抑制, 进而减弱肺癌患者抗肿瘤免疫应答, 从而为肿瘤生长、转移提供有利条件。同时, 也有研究表明^[7], 机体抗肿瘤免疫能够在体内对抗 Treg 处理措施作用下显著获益, 原因可能为自身抗原是主要的肿瘤抗原。因此, 将 CD4+CD25+Treg 清除或将其免疫抑制作用阻断能够将机体抗肿瘤免疫应答增强。

本研究结果还表明, 晚期肺癌组患者化疗后的外周血 CD4+CD25+T 细胞数量少于化疗前 ($t=22.696, P<0.05$), 说明化疗能够将 Treg 对机体的免疫抑制减轻。有研究表明^[8], 将无免疫应答的小鼠体内 CD4+CD25+Treg 细胞、体外培养的肿瘤细胞悬液中 CD4+CD25+Treg 细胞去除分别能够将有利条件提供给有效抗同源肿瘤免疫反应的发生、为抗原提呈细胞有效提呈肿瘤细胞提供有利条件, 从而为免疫细胞产生提供有利条件。本研究结果还表明, 晚期肺癌组肺癌、鳞癌、小细胞癌患者的外周血 CD4+CD25+T 细胞数量之间的差异不显著 ($P>0.05$), 病理分期 IV a 期、分化程度高分化患者的外周血 CD4+CD25+T 细胞数量分别少于 IV b 期患者、中分化和低分化患者 ($P<0.05$), 说明随着疾病进展, 肿瘤患者体内 CD4+CD25+Treg 含量不断提升, 会造成肿瘤免疫逃逸。要想将有效依据提供给临床对肿瘤状态及疗效进行判定, 就必须对监测肿瘤患者肿瘤浸润淋巴细胞与外周血中 CD4+CD25+Treg 的力度进行强化。

4 结论

综上所述, CD4+CD25+ 调节性 T 细胞含量在晚期肺癌患者外周血中升高, 化疗能够将其降低, 与病理分期、分化程度相关。

参考文献

- [1] 程小珍, 谢宗宙, 崔荣花, 等. CD4+CD25+ 调节性 T 细胞对晚期肺癌患者免疫抑制作用的研究 [J]. 实用癌症杂志, 2017, 32(3):378-381.
- [2] 王志峰. 复方苦参注射液联合化疗对晚期肺癌患者外

周血调节性 T、B 淋巴细胞的影响 [J]. 哈尔滨医药, 2017, 37(6):509-511.

[3] Roberto Ferrara, Laura Mezquita, Matthieu Texier, et al. Hyperprogressive Disease in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Treated With PD-1/PD-L1 Inhibitors or With Single-Agent Chemotherapy [J]. JAMA Oncol. 2018; 4(11): 1543-1552.

[4] 赵艳莉, 吴召利, 千维娜, 等. 扶正益气抗癌汤联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌对患者血清 MMP-9、VEGF、T 细胞亚群水平影响分析 [J]. 现代中药研究与实践, 2017, 31(6):68-71.

[5] 张伟萍, 应海峰, 贺茹依, 等. 细胞生物免疫治疗联合化疗对非小细胞肺癌患者凋亡相关基因和免疫功能的影响 [J]. 中国基层医药, 2021, 28(6):806-810.

[6] Anne Y Lai, Jessica A Sorrentino, Konstantin H Dragnev, et al. CDK4/6 inhibition enhances antitumor efficacy of chemotherapy and immune checkpoint inhibitor combinations in preclinical models and enhances T-cell activation in patients with SCLC receiving chemotherapy [J]. J Immunother Cancer. 2020; 8(2): e000847.

[7] 武劫, 季柏林, 徐丽霞. 肺岩宁方治疗晚期非小细胞肺癌临床研究 [J]. 新中医, 2019, 51(12):190-192.

[8] 朱婷, 江蓓蕾, 江茜, 等. 自体 CIK 细胞治疗对晚期非小细胞肺癌患者免疫功能及生活质量的影响 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2015, 22(1):84-88.

表 3: 晚期肺癌组不同病理特征患者的 CD4+CD25+T 细胞数量比较 ($\bar{x} \pm s$)

病理特征	分类	n	CD4+CD25+T 细胞数量 (%)	t	P
病理类型	腺癌	20	15.02±2.75	0.942	0.391
	鳞癌	13	14.45±2.32		
	小细胞癌	7	14.12±2.30		
病理分期	IV a 期	17	12.75±2.16	-7.848	22.696
	IV b 期	23	15.02±2.12		
分化程度	高分化	10	13.14±2.08	290.833	22.696
	中分化	13	14.45±2.10		
	低分化	17	16.75±2.06		

(上接第 4 页)

on ovarian cancer cells through induction of cell apoptosis and inhibition of cell migration in vitro [J]. Mol Med Rep. 2017, 16(6):8729-8734.

[10] Zhou T, Zhang A, Kuang G, et al. Baicalin inhibits the metastasis of highly aggressive breast cancer cells by reversing epithelial-to-mesenchymal transition by targeting β -catenin signaling [J]. Oncol Rep. 2017, 38(6):3599-3607.

[11] Zhang L, Wang X, Wang R, et al. Baicalin potentiates TRAIL-induced apoptosis through p38 MAPK activation and intracellular reactive oxygen species production [J]. Mol Med Rep. 2017, 16(6):8549-8555.

[12] Wang Y, Wang H, Zhou R, et al. Baicalin inhibits human osteosarcoma cells invasion, metastasis, and anoikis resistance by suppressing the transforming growth factor- β 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition [J]. Anticancer Drugs. 2017, 28(6):581-587.

[13] Wang CZ, Zhang CF, Chen L, et al. Colon cancer chemopreventive effects of baicalin, an active enteric microbiome metabolite from baicalin [J]. Int J Oncol. 2015, 47(5):1749-1758.

[14] Yu Y, Pei M, Li L. Baicalin induces apoptosis in hepatic cancer cells in vitro and suppresses tumor growth in vivo [J]. Int J Clin Exp Med. 2015, 8(6):8958-8967.

[15] Li X, Zou K, Gou J, et al. Effect of baicalin-copper on the induction of apoptosis in human hepatoblastoma cancer HepG2 cells [J]. Med Oncol. 2015, 32(3):72.

[16] Peng Y, Fu ZZ, Guo CS, et al. Effects and Mechanism of Baicalin on Apoptosis of Cervical Cancer HeLa Cells In vitro [J]. Iran J Pharm Res. 2015, 14(1):251-261.

[17] Shu YJ, Bao RF, Wu XS, et al. Baicalin induces apoptosis of gallbladder carcinoma cells in vitro via a mitochondrial-mediated pathway and suppresses tumor growth in vivo [J]. Anticancer Agents Med Chem. 2014, 14(8):1136-1145.