

# 甘草次酸-顺铂复合物的制备及其对人肝癌 Bel-7402 细胞的抗癌活性研究

木合布力·阿布力孜<sup>1</sup>, 王永波<sup>1</sup>, 高苗苗<sup>1</sup>, 徐方野<sup>1</sup>, 盛磊<sup>2</sup>, 热娜·卡斯木<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>新疆医科大学药学院药物化学有机教研室; <sup>2</sup>新疆医科大学 新疆地方病分子生物学重点实验室, 乌鲁木齐 830011

**摘要:**以天然活性成分 18 $\beta$ -甘草次酸和抗癌药顺铂为原料, 经缩合制备甘草次酸-顺铂(GA-Pt)复合物; 利用人肝癌细胞株 Bel-7402 做体外模型, 用 MTT 法观察 GA-Pt 对癌细胞增殖的抑制活性。发现目标化合物对肝癌 Bel-7402 细胞的增殖有明显的抑制活性, 浓度在 5~400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内, 对肿瘤细胞增殖的抑制率可达 29.31%~92.25%。此结果显示, 肝癌 Bel-7402 细胞对甘草次酸顺铂类复合物具有较好的敏感性; 甘草次酸与顺铂的偶合可提高顺铂的抗癌活性, 这可能是产生抗癌协同及化疗增敏作用的结果。此结果对新型肝靶向抗癌候选药物的筛选奠定了一定的基础。

**关键词:**甘草次酸-顺铂复合物; 制备; 抗癌活性

中图分类号: R943

文献标识码: A

## Preparation and Anticancer Property of Glycyrrhetic acid-Cisplatin Against Human Bel-7402 cancer cells

Mourboul ABLISE<sup>1</sup>, WANG Yong-bo<sup>1</sup>, GAO Miao-miao<sup>1</sup>, XU Fang-ye<sup>1</sup>, SHENG Lei<sup>2</sup>, Rena KASIM<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Medicinal and Organic chemistry, College of Pharmacy; <sup>2</sup>Xinjiang Key Laboratory of Molecular Biology and Endemic Diseases, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

**Abstract:** Glycyrrhetic acid - cisplatin complex (GA-Pt) was prepared by the combination of natural compound 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid and anticancer drug cis-Platin within a three-step reaction. The *in vitro* anticancer activity of the synthesized complex was studied using human Bel-7402 hepatocarcinoma cell lines. Cell viability was determined by MTT method. Statistical analysis showed that GA-Pt inhibited Bel-7402 cell proliferation significantly. The inhibitory rate was 29.31% -92.25% at the concentration range of 5-400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . The experimental results suggested that the human Bel-7402 hepatocarcinoma cells have a relatively high sensitivity to GA-Pt. The combination of glycyrrhetic acid with cis-Platin increased their anticancer activity. This may be related to the synergistic anti-cancer property and chemotherapy sensitizing effect of GA to Cis-platin. This work provided an initial basis for pharmacological screening of new liver-targeting anticancer agents from glycyrrhetic acid-cisplatin complex.

**Key words:** Glycyrrhetic acid-cisplatin complex; preparation; anticancer activity

内源性物质胆酸的肝靶向性被发现并用于肝靶向抗癌药物设计和研究之后, 以小分子化学载体介导的肝靶向抗癌药物研究成为热点<sup>[1,2]</sup>。胆酸在体内有特殊的转运系统, 具有肝肠循环特征和明显的肝靶向性。因此近年来, 人们对以胆酸为载体的肝靶向抗癌药物的研究不断深入, 制备了一系列以胆酸和熊去氧胆酸与顺铂结合的肝靶向抗癌复合物,

进行深入研究(如图1)<sup>[1-3]</sup>。肝靶向抗癌药物设计中, 新型肝靶向载体的寻找是个关键问题, 也是人们探索的一个焦点。

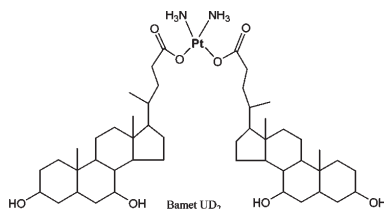


图1 胆酸顺铂复合物 Bamet UD2 的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of Bile acid- cis-Platin complex- Bamet UD2

收稿日期: 2013-09-24 接受日期: 2014-02-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(81260379); 新疆医科大学博士后创新基金项目(2012-02)

\* 通讯作者 Tel: 86-991-4362473; E-mail: renakasimu@vip.sina.com

中药甘草中的三萜类有效成分甘草次酸 (Glycyrrhetic acid, GA) 具有多种药理作用, 包括抗炎、抗氧化保肝、促进肝癌细胞凋亡等<sup>[4-6]</sup>。90 年代初, Negishi 等研究证实大鼠肝细胞膜组分中含有大量甘草次酸特异结合位点, 甘草次酸与该位点的结合呈高度特异性, 且该位点具蛋白质性质<sup>[7]</sup>。这也在国内相关研究中被证实, 即肝细胞表面的确存在大量 GA 特异结合位点<sup>[8]</sup>。由此, 甘草次酸及其衍生物在新型抗癌药物及作为运载肝病治疗药物的肝靶向载体方面显示深入研究前景。

本研究中, 由胆酸顺铂类肝靶向抗癌药物的结构设计中得到启发, 利用天然药活性成分甘草次酸的肝靶向性及促进肝癌细胞凋亡和保肝作用等特征, 设计与制备甘草次酸顺铂类抗癌复合物 (图 2), 并利用多药耐药株人肝癌 Bel-7402 细胞模型<sup>[9-11]</sup>, 观察人肝癌细胞对该复合物的敏感性, 及肿瘤细胞增殖的抑制活性, 为新型肝靶向抗癌药物的筛选奠定一定的基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

18 $\beta$ -甘草次酸标准品 (98%, Acros Organic,

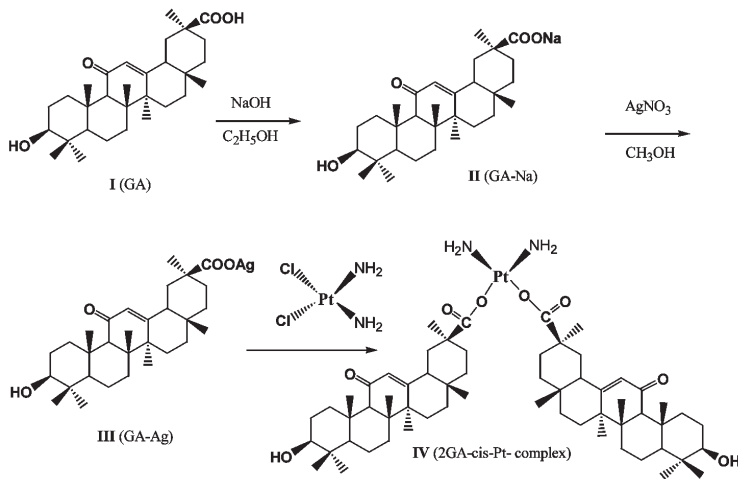


图 2 甘草次酸顺铂复合物的合成途径

Fig. 2 Synthetic routes of glycyrrhetic acid-cisplatin complex

#### 1.2.1 甘草次酸钠 (2) 的制备

称取 18 $\beta$ -甘草次酸 (GA) 5.4 g 置于 500 mL 三颈瓶中, 加入 100 mL 无水乙醇溶解, 缓慢向三颈瓶中滴加 NaOH (0.47 g) 的无水乙醇溶液 150 mL, 室温条件下搅拌 1 h, 减压浓缩, 干燥后得白色物质, 产

率 92%。法国), 18 $\beta$ -甘草次酸 (18 $\beta$ -glycyrrhetic acid, 新疆天山制药有限公司), 硅胶 G (200 ~ 300 目, Merck)。人类肝癌细胞株 Bel-7402 (中国生命科学院上海细胞研究所提供), RPIM-1640 培养基 (GIBCO 公司), DMSO, 胰蛋白酶, 青/链霉素, MTT (购自 Sigma 公司), 25 cm<sup>3</sup>、75 cm<sup>3</sup> 培养盒以及 6 孔板、2 mL 冻存管 (CORING 公司)。其他化学试剂均为分析纯。

定性鉴别用 TLC 板 (Silica gel 60 F254), 制备型 TLC 板 (Silicagel 60 F254, Merck), ZF-20C 暗箱式紫外分析仪 (上海宝山顾村光电仪器厂), WRS 1A 型数字熔点测定仪 (上海精密仪器厂), 核磁共振仪 (<sup>1</sup>H NMR, Varian 600, CDCl<sub>3</sub>), IR Prestige-22 红外光谱仪 (SHIMADZU), 质谱仪 (MS quadripolar VG Platform II), 有机元素分析仪 (Waltham, MA)。生物安全柜 (HERA safe, 德国), 二氧化碳孵箱 (HERAEUS, 日本), 酶标仪 (Beckmann, 美国)。

### 1.2 化合物的制备方法

目标化合物的制备中, 先将 18 $\beta$ -甘草次酸 (I, GA) 与氢氧化钠反应制成甘草次酸钠盐 (II, GA-Na), 再与硝酸银反应制成甘草次酸银盐 (III, GA-Ag), 最后与顺铂偶联成甘草次酸顺铂复合物 (GA-Pt, IV, 2GA-cis-Pt-complex, 图 2)。

率 92%。

#### 1.2.2 甘草次酸银 (3) 的制备

称取 18 $\beta$ -甘草次酸钠 4.18 g 置于 250 mL 三颈瓶中, 加入 120 mL 的甲醇溶解, 避光条件下向三颈瓶中缓慢滴加 AgNO<sub>3</sub> 的甲醇溶液 60 mL, 室温条件

下避光搅拌 1 h, 抽滤, 滤饼用甲醇洗涤 3 次, 低温避光减压干燥, 得白色固体, 产率约 52%。

### 1.2.3 甘草次酸顺铂复合物(4)的制备

称取 18 $\beta$ -甘草次酸银 1.93 g 置于 250 mL 圆底烧瓶中, 加入 150 mL 甲醇, 搅拌 10 min 后向烧瓶中加入 0.5 g 顺铂。严格的避光条件下、室温反应 12 h, 用 TLC 检测反应进程, 反应结束后抽滤, 滤液减压浓缩干燥得淡棕色固体。粗品用硅胶柱层析(氯仿:甲醇梯度洗脱)分离, 收集的馏分干燥得淡黄色粉末, 产率约 27%。

## 1.3 抗癌活性研究方法

### 1.3.1 细胞培养

配制含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100  $\mu$ g/mL 链霉素的 RPMI1640 全培养基, 在 5% CO<sub>2</sub> 和 37  $^{\circ}$ C 条件下培养 Bel-7402 细胞, 每隔 24 ~ 48 h 更换培养基, 常规消化传代, 取对数生长期细胞进行实验。

### 1.3.2 样品溶液的制备

将药物以 100% DMSO 溶解后, 用 RPMI-1640 培养基稀释成 5% DMSO 母液, 经 0.22  $\mu$ m 过滤器除菌后备用。本研究将目标化合物与溶液体积之比定为药物浓度。

### 1.3.3 用 MTT 法测定对肝癌细胞增殖的抑制活性

对数生长期的 Bel-7402 细胞用含血清培养液稀释成  $1 \times 10^7$  个/mL, 接种于 96 孔板中(密度为  $2 \times 10^5$  个/mL), 每组平行 6 孔, 每孔 200  $\mu$ L, 细胞贴壁时向每孔分别加入目标化合物(V)使其终浓度分别为 5.0、12.5、25.0、50.0、100.0、200.0 和 400.0  $\mu$ g/mL, 以此浓度进行药物干预 24 h。次日, 每孔加入 10  $\mu$ L MTT(5 mg/mL), 并保持培养基的原体积不变。在 37  $^{\circ}$ C 和 5% CO<sub>2</sub> 细胞孵育箱培养 4 h 后, 弃去培养基, 用 150  $\mu$ L DMSO 溶解细胞。待细胞内紫色结晶溶解后, 利用酶标仪测定其 570 nm 处吸光度值(optical density, OD), 细胞生长抑制率(IR)/% =  $[(OD_{\text{空}} - OD_{\text{测}}) / OD_{\text{空}}] \times 100\%$  计算, 并判断细胞活力。式中, OD<sub>空</sub> 为空白对照组的吸光度值; OD<sub>测</sub> 为药物或阳性对照组在某一浓度的吸光度值<sup>[11]</sup>。

### 1.3.4 统计学处理

应用 SPSS 17.0 软件包进行统计分析。计算资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 各组 OD<sub>570</sub> 值与正常对照组比较采用两个独立样本的  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 实验结果

### 2.1 合成化合物的鉴定

甘草次酸钠(2): 白色粉末, 溶于乙醇, 氯仿和水, mp. 325.6 ~ 328.1  $^{\circ}$ C; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$ : 0.83 (3H, s, H-28), 0.86 (3H, s, H-24), 1.03 (3H, s, H-26), 1.15 (3H, s, H-23), 1.16 (3H, s, H-25), 1.25 (3H, s, H-29), 1.39 (3H, s, H-27), 2.37 (1H, s, H-9), 2.81 (2H, dt,  $J = 3.20, 13.6$  Hz, H-1), 3.26 (1H, dd,  $J = 5.80, 10.80$  Hz, H-3), 5.73 (1H, s, H-12); IR (KBr)<sub>max</sub> 3440, 3046, 2943, 1666, 1018 cm<sup>-1</sup>。甘草次酸钠(2)的有关光谱数据与 18 $\beta$ -甘草次酸类似<sup>[12]</sup>。

甘草次酸银(3): 白色粉末, 溶于热乙醇, 微溶于甲醇和丙酮, 不溶于水。mp. 222.4 ~ 223.8  $^{\circ}$ C, 对光敏感, 暴露于光下变成黄色, 应避光保存。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$ : 0.83 (3H, s, H-28), 0.86 (3H, s, H-24), 1.03 (3H, s, H-26), 1.15 (3H, s, H-23), 1.16 (3H, s, H-25), 1.25 (3H, s, H-29), 1.39 (3H, s, H-27), 2.37 (1H, s, H-9), 2.81 (2H, dt,  $J = 3.20, 13.6$  Hz, H-1), 3.26 (1H, dd,  $J = 5.80, 10.80$  Hz, H-3), 5.73 (1H, s, H-12); IR (KBr)<sub>max</sub> 3440, 3046, 2943, 1666, 1018 cm<sup>-1</sup>。甘草次酸银(3)的有关光谱数据与 18 $\beta$ -甘草次酸类似<sup>[12]</sup>。

甘草次酸顺铂复合物(4): 淡黄色粉末, 溶于氯仿, 微溶于甲醇, 不溶于水。对光和湿气敏感, 易分解。mp. 324.3 ~ 326.8  $^{\circ}$ C。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$ : 0.83 (6H, s, H-23), 1.05 (6H, s, H-23), 1.17 (6H, s, H-26), 1.18 (6H, s, H-25), 1.24 (6H, s, H-29), 1.32-1.69 (34H, m, H-2, H-6, H-7, H-15, H-16, H-18, H-21, H-22, H-27), 1.86 (2H, d, H-15), 1.95 (4H, s, N-H), 2.17 ~ 2.20 (4H, m, H-9, H-18), 3.24 (2H, dd, H-3), 5.71 (2H, s, H-12); EI-MS  $m/z$  [M]<sup>+</sup> 1166.4843, Found: [M]<sup>+</sup> 1166.4827, calcd for C<sub>60</sub>H<sub>94</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>Pt. Element analysis (%): C, 61.78; H, 8.12; N, 2.40; O, 10.97; Pt, 16.72。在红外图谱中与 18 $\beta$ -甘草次酸相比, 在 1705 cm<sup>-1</sup> 处羟基特征峰变强, 变宽; 而在 3439 cm<sup>-1</sup> 处峰变弱、变窄。在氢谱中除了有 18 $\beta$ -甘草次酸的特征峰及变强外, 在  $\delta = 1.95$  ppm 处出现了 -NH<sub>2</sub> 特征峰。故鉴定其为 18 $\beta$ -甘草次酸-顺铂复合物。

### 2.2 目标化合物对肝癌细胞增殖的抑制率

用 MTT 法对目标化合物对肝癌 Bel-7402 细胞

增殖的抑制率在表 1 所示。

表 1 甘草次酸顺铂 (GA-Pt) 不同浓度干预 Bel-7402 细胞增殖的抑制率 (%)

Table 1 GA-Pt complex intervention to the growth and the viability of Bel-7402 hepatocarcinoma cells

实验分组 Group	DMSO (0.5% ~ 1.0%)	甘草次酸-顺铂 复合物 <sup>a</sup> GA-Pt ((g/mL)	OD <sub>570</sub> 值 <sup>a</sup> OD570 value	抑制率 <sup>b</sup> Inhibition rate(%)
空白对照组 Blank control	0	0	0.90795 ± 0.0009	0%
正常对照组 Normal control	+	0	0.83975 ± 0.0063	7.51%
阳性对照 Positive control	+	5	0.52825 ± 0.0021	41.82% *
	+	5	0.64275 ± 0.0045	29.31% *
药物干预组 Drug treatment group		12.5	0.58444 ± 0.0029	35.08% *
	+	25	0.44975 ± 0.0022	50.47% *
	+	50	0.27125 ± 0.0015	70.13% *
	+	100	0.16575 ± 0.0012	80.75% *
	+	200	0.07525 ± 0.0005	91.71% *
	+	400	0.07037 ± 0.0035	92.25% *

注:1) \*6 次重复平均值; <sup>b</sup> 各组平均 OD570 值对正常对照组的百分比; \* 该组 OD570 值与正常对照组相比, 其差异显著 ( $\bar{x} \pm s, P < 0.05$ ); 2) DMSO 浓度在空白对照组内为 0, 其他组内为 0.5% ~ 1.0%; 3) 阳性对照组为顺铂 (浓度 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 平均吸光度 0.52825 ± 0.0021, 平均抑制率 41.82%

Note: 1) <sup>a</sup> value of 6 individual determinations; <sup>b</sup> percentage of OD570 value of each group vs normal control group; \* significant difference on ODS570 values of each group vs normal control group ( $x \pm s, P < 0.05$ ); 2) the concentration of DMSO was 0 in blank control group, and 0.5% - 1.0% in other groups; 3) Positive control group was Cis-platin (5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), average OD570 value was 0.52825 ± 0.0021, average inhibition rate was 41.82%.

表 1 中的数据显示, 浓度在 5 ~ 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内, 目标化合物 (GA-Pt) 其对 Bel-7402 肿瘤细胞显示明显强的抑制活性, 对细胞增殖抑制率分别为 29.31% ~ 92.25%; 其抑制率随药物浓度的增加而升高, 浓度在 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时抑制活性达 90% 以上。

### 3 讨论

肝靶向性抗肿瘤药物在减少传统抗癌药物的全身性毒副作用和提高疗效方面的优越性。本研究中利用药物设计中的并合原理, 以具有肝细胞靶向特征天然化合物甘草次酸 (GA) 作为靶向载体, 与抗癌药顺铂 (Pt) 进行偶联而制成具有肝靶向潜能的甘草次酸顺铂类复合物 (GA-Pt, IV)。GA-Pt 的制备中, 参照文献中肝靶向抗癌药胆酸-顺铂复合物 Bamet UD2 的制备方法<sup>[3]</sup>, 先将甘草次酸制成钠盐 (GA-Na, II), 再与硝酸银反应制成甘草次酸银盐 (GA-Ag, III), 最后与顺铂偶联成甘草次酸顺铂复合物 (GA-Pt, IV)。因为利用副产物 AgCl 的生成速度快而溶解度小的特征, 将 GA-Ag 和顺铂反应而得到 GA-Pt 和副产物 AgCl, 然后分离沉淀物 AgCl 而得到目标化合物, 因此本反应进行得较迅速。因此利用此方法明显提高了反应基团的活性和反应速度, 缩短了并合反应时间。然而, 由于甘草次酸银和顺铂的溶解度都很差, 很难选择合适的试剂做反应溶剂。

本实验中, 经反复比较而选用极性大的甲醇为反应溶剂, 一定程度的优化了并合反应的条件, 产率约为 27%。由于目标化合物对光特别敏感, 因此在反应过程中需要具备严格的避光条件, 这可能是影响反应产率的一个重要因素。因此甘草次酸与顺铂的结合反应的工艺条件有待进一步优化, 以提高反应产率。目标化合物的 <sup>1</sup>H NMR 图谱中, 含有甘草次酸和两个氨基等结构的特征性质子信号, 质谱数据与甘草次酸和顺铂复合物分子量一致, 薄层检测仅显示单个斑点, 表明化合物 IV 的结构确证且纯度合格。

组成甘草次酸-顺铂复合物的成分顺铂为临床常用的化疗药物, 在肝癌治疗中常作为联合化疗药物中的一个主要成分。然而化疗药物产生的严重毒副作用及肝癌对化疗药物的敏感性较低并易产生耐药性等问题目前在临床上仍成为肝癌化疗中的棘手问题。因此, 靶向药物、化疗增敏剂及肿瘤耐药逆转剂等新型抗癌药物的研究已成为目前抗癌药物研究中的热点领域<sup>[9-11]</sup>。

人肝癌 Bel-7402 细胞作为肝癌多药耐药的一种体外实验模型, 在新型抗癌候选药物研究中较为常用。国内学者利用此种模型从天然药物中筛选出了对肝癌 Bel-7402 细胞具有显著抑制活性的黄芩苷、虫草素、蜂毒素、蛇葡萄素、川芎嗪等天然活性成

分,并探讨其在肝癌的辅助治疗、逆转耐药性等方面的应用价值<sup>[9-11]</sup>。

本研究中,以具有肝细胞靶向特征的天然化合物甘草次酸(GA)与抗癌药顺铂(Pt)偶联制成具有肝靶向潜能的甘草次酸顺铂类复合物(GA-Pt, IV);利用人肝癌细胞株 Bel-7402 为体外实验模型,用 MTT 法对目标化合物的抗癌活性(对肝癌细胞增殖的抑制率)进行研究。结果显示,药物浓度在 5 ~ 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内,目标化合物(V)对肿瘤细胞显示明显强的抑制活性,对细胞增殖抑制率为 29.31% ~ 92.25%;细胞增殖抑制率随药物浓度的增加而升高。目标化合物的分子量比阳性对照组的顺铂要大,而每个分子所含抗癌基团二氨基铂比对照组少,但仍表现出较好的活性,表明甘草次酸对顺铂具有明显的增效作用。其原因可能是因为甘草次酸本身也具有一定的抗癌活性<sup>[6,11]</sup>,此外,甘草次酸与顺铂结合后,甘草次酸顺铂复合物的脂溶性比顺铂大,从而提高了药物对细胞膜的穿透能力,由此可能增强了目标化合物的抗癌活性。

总之,本实验结果显示,人肝癌 Bel-7402 细胞对甘草次酸顺铂类抗癌化合物具有较好的敏感性。此结果在新型肝靶向抗癌候选药物的筛选研究中将具有重要意义。

#### 参考文献

- 1 Paschke R, Kalbitz J, Paetz C, *et al.* Cholic acid-carboplatin compounds(CarboChAPt) as models for specific drug delivery; synthesis of novel carboplatin analogous derivatives and comparison of the cytotoxic properties with corresponding cisplatin compounds. *J Inorg Biochem*, 2003, 94:335-342.
- 2 Liu WP, Qing C, Chen X Z, *et al.* Preparation, Characterization and *in vitro* anticancer activity of platinum(2) complexes with N-cyclohexyl-1, 3-propanediamine as the carrier. *Chem Pharm Bull*, 2008, 56:659-662.
- 3 Monica G, Maria C, Rocio IR. Relationship between tumor cell load and sensitivity to the cytostatic effect of two novel

- platinum-bile acid complexes, Bamet-D3 and Bamet-UD2. *J Drug Targ*, 2002, 10:397-404.
- 4 ShettyAV, Thirugnanam S, Dakshinamoorthy G, *et al.* 18 $\alpha$ -glycyrrhetic acid targets prostate cancer cells by down-regulating inflammation-related genes. *Int J Oncol*, 2011, 39:635-640.
- 5 Hye GJ, Sung JP, Ae RM, *et al.* Hepatoprotective effects of 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid on carbon tetrachloride-induced liver injury: inhibition of cytochrome P450 2E1 expression. *Pharmacol Res*, 2002, 46:221-227.
- 6 Lallemand B, Gelbecke M, Dubois J, *et al.* Structure-activity relationship analyses of glycyrrhetic acid derivatives as anticancer agents. *Mini Rev Med Chem*, 2011, 11:881-887.
- 7 Negishi M, Irie A, Nagata N. Specific binding of glycyrrhetic acid to the liver membrane. *Biochim Biophys Acta*, 1991, 1066:77.
- 8 Yang SM(杨山麦), Zhou FC(周方成), Gu YD(顾云娣), *et al.* Respective expressions of the receptors for glycyrrhetic acid and for glycyrrhizin on isolated hepatocyte membranes. *Chin J Hepato*(中华肝病杂志), 1999, 7:27.
- 9 Wang SH(王术华). The multidrug-resistant mechanism study of reverse effect of Baicalin for hepatocellular carcinoma cell line(Bel 7402/ADM). *Chin J Modern Drug Appl*(中国现代药物应用), 2012, 6(9):10-11.
- 10 Lu Q(卢群), Luo SH(罗少洪), He WS(何伟彬), *et al.* Inhibitory effect of cordycepin on human hepatoma cells Bel-7402. *Chin Pharm Bull*(中国药理学通报), 2011, 27:1477.
- 11 Mourboul ABLISE(木合布力·阿布力孜), Zheng DC(郑大成), Rena KASIM(热娜·卡斯木), *et al.* Preparation and anticancer property of glycyrrhetic acid compounds. *J Xinjiang Med Univ*(新疆医科大学学报), 2012, 35:125-133.
- 12 Mourboul ABLISE(木合布力·阿布力孜), Min J(闵杰), Zheng DC(郑大成), *et al.* Preparation and characterization of anticancer conjugates 11-deoxy-18 $\alpha$  and 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid derivatives. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2012, 24:648-652.