

DOI: 10.13376/j.cblls/2020062

文章编号: 1004-0374(2020)05-0494-07

黄酮醇及其改良剂型抗乳腺癌研究进展

黄曦文^{1,2}, 何刚^{1,2}, 伍春莲^{1,2*}

(1 西南野生动植物资源保护教育部重点实验室, 南充 637009; 2 西华师范大学生命科学院, 南充 637009)

摘要: 乳腺癌是女性最常见的癌症。黄酮醇是一类具有抗癌活性且毒副作用小的多酚类天然化合物。该文从阻滞细胞周期、促进细胞凋亡、抑制侵袭转移、影响肿瘤细胞糖代谢、与其他药物联用、化疗增敏及逆转耐药等方面, 就三种最常见的黄酮醇化合物(芦丁、槲皮素、山奈酚)及其衍生物和改良剂型抗乳腺癌的研究进展作一综述。

关键词: 乳腺癌; 黄酮醇; 抗肿瘤; 改良剂型

中图分类号: R73; R96 **文献标志码:** A

Research progress of flavonols and its modified dosage forms against breast cancer

HUANG Xi-Wen^{1,2}, HE Gang^{1,2}, WU Chun-Lian^{1,2*}

(1 Key Laboratory of Southwest China Wildlife Resource Conservation, Ministry of Education, Nanchong 637009, China;

2 College of Life Science, China West Normal University, Nanchong 637009, China)

Abstract: Breast cancer is the most common cancer in women. Flavonols are a class of natural polyphenolic compounds with anticancer activity and low toxicity. In this paper, the three most common flavonol compounds (rutin, quercetin, kaempferol), their derivatives and modified dosage forms for anti-breast cancer are reviewed from the aspects of cell cycle arrest, cell apoptosis promotion, invasion and metastasis inhibition, the effect on tumor cell glucose metabolism, combined with other drugs, chemosensitivity enhancement and drug resistance reversal.

Key words: breast cancer; flavonols; anti-tumor; modified dosage forms

天然化合物黄酮醇是类黄酮的一个亚类, 是低分子量多酚类的苯丙氨酸衍生物^[1-2], 广泛存在于蔬菜、水果、中草药和植物性饮料中, 是植物中重要的次生代谢产物^[3-4]。流行病学和动物研究表明, 黄酮醇具有广泛的药理活性, 例如抗癌、抗氧化、抗炎、降血脂、调节心血管系统和清除自由基等^[5]。当前, 大多数抗肿瘤药物具有严重的副作用, 黄酮醇毒副作用小, 能选择性地抑制癌细胞而不影响健康细胞, 在抗肿瘤方面取得了显著的成果^[6-7]。然而, 和大多数类黄酮一样, 因为含有多个酚羟基, 黄酮醇很容易受到肝脏和肠道代谢酶的催化代谢, 所以黄酮醇的生物利用度较低, 这限制了其在临床上的应用^[2]。开发生物利用度高、抗癌活性强和靶向递送效率高的黄酮醇改良剂型可以增强其抗癌作用。乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤, 在中国的发病率

逐年上升且趋向年轻化, 大城市的发病率达到农村地区的两倍^[8]。本文总结了三种常见的黄酮醇及其衍生物和改良剂型在抗乳腺癌方面的研究进展, 以为黄酮醇抗乳腺癌的应用研究提供一些思路。

1 抑制细胞生长

1.1 阻滞细胞周期

肿瘤细胞的增殖依赖于细胞周期蛋白(cyclin)、细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)以及细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子

收稿日期: 2019-11-20; 修回日期: 2020-03-07

基金项目: 教育部“春晖计划”合作科研项目(2018-131); 西华师范大学英才科研基金(17YC350); 西华师范大学基本科研业务费(19B038)

*通信作者: E-mail: wcl_xj@163.com

(Cdk inhibitor, CKI) 之间的相互作用, 它们共同调控完整的细胞分裂周期。当细胞 DNA 完整性被破坏时, 细胞不能顺利通过 G₁/S 和 G₂/M 检测点^[9]。槲皮素、芦丁、山奈酚均能诱导乳腺癌细胞周期阻滞^[1,7,10-15]。用不同浓度槲皮素-3-甲基醚处理乳腺癌 MCF-7 细胞 48 h 后, 流式细胞仪分析发现 MCF-7 细胞被阻滞在 G₂/M 期, 且呈现剂量依赖性, 随着槲皮素-3-甲基醚浓度增大, G₂/M 期癌细胞数量逐渐增加^[10]。此外, CyclinB1 和 CDK1 的蛋白表达水平在槲皮素-3-甲基醚处理后显著降低。山奈酚处理乳腺癌 MDA-MB-231 细胞后, G₁ 期的细胞数量减少, G₂ 期的细胞数量相应地增加, 48 h 后, G₁ 期的细胞数量从 85.48% 显著减少至 51.35%, G₂ 期的细胞数量从 9.27% 显著增加至 37.5%, 表明山奈酚有助于诱导乳腺癌细胞阻滞在 G₂/M 期^[15]。

另有研究表明, 细胞周期阻滞可能与药物浓度以及处理时间有关。用不同浓度芦丁 (0 μmol/L、20 μmol/L 和 50 μmol/L) 分别处理 MDA-MB-231 细胞, 孵育 24 h 后, 实验组 (20 μmol/L 和 50 μmol/L) 与对照组 (0 μmol/L) 相比, 没有产生明显的细胞周期变化。但孵育 48 h 后, 与对照组相比, 实验组 (20 μmol/L 和 50 μmol/L) MDA-MB-231 细胞 G₂/M ($p < 0.05$) 和 G₀/G₁ ($p < 0.05$) 阶段的百分比都有增加^[11]。

1.2 促进细胞凋亡

凋亡受阻在恶性肿瘤发生、发展过程中起着十分重要的作用, 诱导肿瘤细胞凋亡一直被认为是消除肿瘤细胞的重要策略。槲皮素和山奈酚通过上调促凋亡蛋白 (Bax, Caspase-3) 和下调抗凋亡蛋白 (Bcl-2) 参与乳腺癌细胞凋亡的发生^[12,16-19]。例如, 槲皮素通过抑制 EGFR / PI3K / Akt 途径, 上调 Bax、Caspase-3 的表达, 下调 Bcl-2 的表达, 从而诱导乳腺癌细胞 (MCF-7 和 MDA-MB-231) 凋亡^[17]。用不同浓度山奈酚 (0 μmol/L、40 μmol/L、80 μmol/L) 处理 MCF-7 细胞 24 h 后, DAPI 荧光染色观察发现, 未经山奈酚处理的对照组, MCF-7 细胞显示出正常的核形状, 圆形或椭圆形; 而山奈酚浓度为 40 μmol/L 和 80 μmol/L 的实验组, 染色质固缩, 向外周聚集, 不同程度地形成颗粒物质, 细胞核破裂形成碎片; 表明随着山奈酚浓度增大, MCF-7 细胞凋亡程度逐渐增大^[16]。进一步的蛋白质印迹分析表明, 山奈酚能有效诱导 MCF-7 细胞中 PARP (poly-ADP ribose polymerase) 裂解, 随着山奈酚浓度增加, Bcl-2 表达下调, 并且诱导 Bax 表达。致癌物 7,12-二甲基苯并蒽 (0.5 mg/100 g 体重) 通过单尾静脉注射在雌性 SD 大鼠

中诱发乳腺癌, 致癌 24 周后 TUNEL 分析显示, 与致癌物对照组 (0.02 ± 0.01) 相比, 20 mg/kg 和 40 mg/kg 槲皮素治疗组的凋亡指数 (0.14 ± 0.03; 0.15 ± 0.01) 升高, 且槲皮素治疗组上调了 p53 的表达和 Bax/Bcl-2 的比例^[18]。

此外, 提高细胞内 ROS 水平、降低线粒体膜电位并诱导双链 DNA 断裂也是黄酮醇促进乳腺癌细胞凋亡的重要方式^[11,20-21]。ROS 的产生是细胞损伤的关键早期驱动因素, 与细胞凋亡的诱导关系密切。25 μmol/L 的槲皮素 (Que) 及其两种衍生物 (IS 和 I3G) 分别处理 MCF-7 细胞 12 h 后, 流式细胞仪检测发现, MCF-7 细胞中超氧阴离子 (O²⁻) 的积累分别为 58.8%、50.0% 和 44.7%, 明显高于对照组 (6.03%, $p < 0.01$); 在高浓度 (100 μmol/L) 的 Que、IS 和 I3G 中, O²⁻ 的积累显著增加至 84.1%、77.6% 和 60.7%, 与阳性对照组 (100 μmol/L 的 5-Fu) 相似 ($p > 0.05$); 随着槲皮素及其衍生物的浓度增加, H₂O₂ 的积累也逐渐增加, 这些结果表明, 槲皮素及其衍生物可通过增加细胞内氧化应激诱导 MCF-7 细胞凋亡^[11]。紫矿是蝶形花科紫矿属落叶乔木, 其提取物能增强 MCF-7 细胞内的 ROS 水平, 从而引发 DNA 损伤并通过调节 p53 来改变 MCF-7 细胞周期, 诱导细胞凋亡^[20]。高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 分析表明, 紫矿提取物中含有没食子酸和山奈酚。

2 抑制侵袭转移

上皮细胞间质转化 (epithelial-mesenchymal transitions, EMT) 是癌细胞侵袭转移的重要步骤。用不同浓度槲皮素-3-甲基醚处理乳腺癌细胞, 结果显示, 随着槲皮素-3-甲基醚浓度增大, 间质细胞生物标志物 (波形蛋白和基质金属蛋白酶 2) 表达逐渐降低, 上皮细胞生物标志物 E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 的表达逐渐升高, 表明槲皮素-3-甲基醚能够剂量依赖性地抑制乳腺癌细胞 EMT 进程, 且可能与下调 H3K27me3 表观遗传标记有关^[10]。EMT 可能有助于增加肿瘤干细胞 (cancer stem cell, CSC) 特性, 而 CSC 与癌症的侵袭转移有关。研究表明, 槲皮素-3-甲基醚可能通过下调 Notch1/PI3K/Akt 通路并以剂量依赖性的方式抑制干性基因 Sox2 和 Nanog 的蛋白表达水平, 从而有效减少 CSC 形成^[10]。

基质金属蛋白酶 (MMP) 被认为是与肿瘤细胞侵袭有关的关键分子, 它协助转移过程中肿瘤细胞的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 过度降解。

山奈酚能够通过抑制 PKC/MAPK/AP-1 级联反应和下游 MMP-9 蛋白的表达和活性, 显著抑制 MDA-MB-231 细胞侵袭^[22]。为了进一步确认山奈酚在体内的抗转移作用, 采用了人工肺转移模型, 将小鼠平均分为五组: 7.5% 泊洛沙姆 407/生理盐水为对照组, 氨烯咪胺 100 mg/kg/2 d 为阳性对照组, 山奈酚 50、100 或 200 mg/kg/d 为实验组。结果显示, 与对照组相比, 山奈酚 (200 mg/kg) 显著阻断了 MDA-MB-231 细胞肺转移, 与阳性对照组结果相似。免疫组化分析发现, 山奈酚 (200 mg/kg) 处理后, 转移性结节中 MMP-9 表达显著降低。槲皮素也可以通过抑制 PI3K/Akt 信号通路下调 MMP-9 蛋白的表达, 抑制乳腺癌 4T1 细胞侵袭转移^[23]。跨孔侵袭实验和伤口愈合实验表明, 槲皮素能有效抑制 MCF-7 细胞和 MDA-MB-231 细胞迁移, 相应的蛋白质印迹表明, 槲皮素处理下调了两种乳腺癌细胞迁移标志物 (MMP-2、MMP-9) 的表达^[24]。

雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR) 和人表皮生长因子受体 -2 (HER2) 均不表达的乳腺癌为三阴性乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC); 过表达 ER 和 PR 或显示 HER2 扩增的乳腺癌称为非三阴性乳腺癌^[1]。TNBC 具有高转移性, 远处转移发生率高于非三阴性乳腺癌。低剂量的山奈酚 (20 $\mu\text{mol/L}$ 和 40 $\mu\text{mol/L}$) 显著抑制三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞和 MDA-MB-453 细胞的迁移, 高剂量的山奈酚 (200 $\mu\text{mol/L}$) 才能显著抑制非三阴性乳腺癌 MCF-7 和 SK-BR-3 细胞的迁移。但低剂量的山奈酚能抑制 HER2 沉默的 SK-BR3 细胞和 ER/PR 沉默的 MCF-7 细胞迁移。将带有 HA 标记的 HER2 转染到 TNBC 细胞 MDA-MB-231 中, 低剂量的山奈酚 (20 $\mu\text{mol/L}$) 也不会抑制 HER2 高表达的 MDA-MB-231 细胞迁移。进一步研究发现, 低剂量的山

奈酚能够显著抑制 MDA-MB-231 细胞、MDA-MB-453 细胞和 HER2 沉默的 SK-BR3 细胞中 RhoA 和 Rac1 的活性, 以及 ER / PR 沉默的 MCF-7 细胞中 RhoA 的活性, 而不会抑制被 HA-HER2 转染且 HER2 高表达的 MDA-MB-231 细胞中 RhoA 和 Rac1 的活性。由此表明, 低剂量的山奈酚可通过下调 RhoA 和 Rac1 的活性抑制 TNBC 细胞的迁移^[25]。受体酪氨酸激酶 c-Met 异常调节促进 TNBC 的发展、迁移和存活, 蛋白质印迹分析发现, c-Met 激酶是芦丁介导的治疗 TNBC 的潜在作用靶标^[26]。

以上研究表明, 槲皮素、山奈酚、芦丁能够通过多条信号通路, 调控相关蛋白表达水平, 抑制乳腺癌侵袭转移, 相关信号通路如图 1 所示。

3 对乳腺癌细胞糖代谢的影响

糖酵解是为肿瘤细胞增殖转移提供能量的主要方式。肿瘤细胞通过上调葡萄糖转运蛋白 (glucose transporters, GLUTs) 和单羧酸转运蛋白 (monocarboxylate transporter proteins, MCTs) 满足高效率的代谢需要。研究发现, 不论是在短期 (26 min) 还是在长期 (24 h) 内, 山奈酚均能浓度依赖性地抑制 MCF-7 细胞对 3H-DG 的摄取, 这一结果与 GLUT1 基因表达下调有关。进一步研究显示, 山奈酚 (100 $\mu\text{mol/L}$) 具有抗乳腺癌细胞增殖的作用和细胞毒性, 这些特性能够在低细胞外葡萄糖浓度 (1 mmol/L) 条件下被模拟, 而在高细胞外葡萄糖浓度 (20 mmol/L) 条件下被逆转, 由此表明, 山奈酚抗乳腺癌细胞增殖的作用和细胞毒性与抑制 GLUT 介导的葡萄糖摄取有关^[27]。此外, 该研究还发现, 山奈酚抑制了 MCT1 的表达, 从而抑制了乳腺癌细胞对乳酸的再摄取, 表明山奈酚也可能通过抑制乳腺癌细胞对乳酸的再摄取, 使细胞缺乏乳酸, 从而导致细胞死亡。

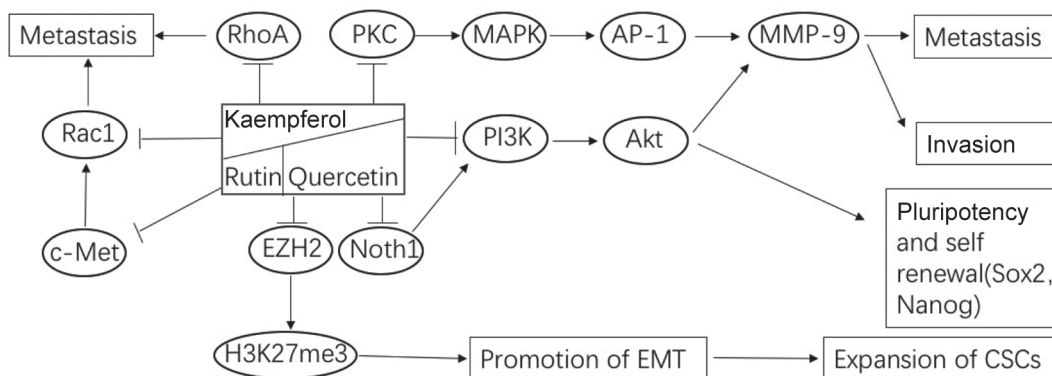


图1 侵袭转移相关信号通路

跨孔侵袭实验、伤口愈合实验以及相应的蛋白质印迹表明, 槲皮素有效抑制了 MCF-7 细胞和 MDA-MB-231 细胞迁移, 这一实验结果可能与槲皮素抑制葡萄糖摄取水平和乳酸的产生成功阻断了两种乳腺癌细胞糖酵解, 并降低了糖酵解相关蛋白丙酮酸激酶 M2(PKM2)、葡萄糖转运蛋白 1 (GLUT1) 和乳酸脱氢酶 A (LDHA) 的表达水平有关, 表明槲皮素可能通过降低乳腺癌细胞肿瘤微环境的酸性来抑制糖酵解, 从而限制肿瘤细胞的迁移^[23]。进一步研究发现, 槲皮素通过使 Akt/mTOR 通路失活诱导了明显的自噬, 而自噬抑制剂 (3-MA) 和 Akt/mTOR 途径诱导剂 (IGF-1) 的应用证明, 槲皮素是通过 Akt/mTOR 途径介导的自噬诱导来抑制糖酵解, 从而抑制乳腺癌细胞迁移的。将 MCF-7 细胞皮下注射到 SPF 裸鼠中以建立异种移植瘤小鼠模型, 三天后, 将小鼠随机分为 2 组, 对照组小鼠注射生理盐水, 实验组小鼠腹腔注射槲皮素 50 mg/kg, 每日两次, 持续一个月。结果表明, 与对照组相比, 槲皮素注射明显抑制了肿瘤的生长, 免疫组化和免疫印迹分析表明, 槲皮素抑制了肿瘤组织中 VEGF、PKM2、p-AKT 的表达, 并上调了自噬标志物 Beclin1 的表达水平, 在体内水平验证了槲皮素通过 Akt/mTOR 途径介导的自噬诱导抑制糖酵解来抑制乳腺癌细胞迁移这一结论。综上所述, 黄酮醇通过调控糖代谢治疗乳腺癌具有很好的潜力。

4 化疗增敏及逆转耐药

多药耐药性 (multidrug resistance, MDR) 是癌细胞对某种治疗药物产生耐药性的同时, 表现出对多种结构、功能或分子靶点不同的抗癌药物的交叉耐药, 是化疗失败的关键因素。癌细胞可能表现出固有的或者在化疗中获得的 MDR^[28]。许多机制可以介导调节耐药的发生发展, 三磷酸腺苷结合盒式转运蛋白 (ATP-binding cassette transporter, ABC) 超家族有关的药物外排机制是目前研究最多的 MDR 机制, 其最广泛表达的 MDR 膜转运蛋白包括 P-糖蛋白 (P-gp/ABCB1)、乳腺癌抗性蛋白 (BCRP/ABCG2) 和多药耐药相关蛋白 1 (MRP1/ABCC1)^[28]。芦丁可以克服依赖 ABC 转运蛋白的药物外排, 非选择性地抑制 P-gp 和 BCRP 泵, 从而提高乳腺癌细胞对环磷酰胺 (CYC) 和甲氨蝶呤 (MTX) 的敏感性, 逆转人乳腺癌细胞的 MDR^[1]。槲皮素可以增加阿霉素 (Dox) 在细胞内的积累, 通过下调外排 ABC 转运蛋白的表达 (包括 P-gp、BCRP 和 MRP1), 有效杀死

包括乳腺癌干细胞 (breast cancer stem cell, BCSC) 在内的癌细胞, 从而增强 Dox 的抗肿瘤作用^[6,29]。以上结果表明, 黄酮醇具有通过抑制外排泵使乳腺癌细胞对化学疗法敏感并逆转多药耐药性的能力。此外, 细胞色素 P4501B1 酶的过表达会引起乳腺癌细胞对顺铂的耐药, 研究发现槲皮素能通过抑制细胞色素 P4501B1 酶表达逆转 MDA-MB-468 细胞的顺铂耐药性^[30]。

5 与其他药物联用

黄酮醇除了与化疗药物联用表现出良好的化疗增敏和逆转耐药特性, 与天然抗癌药物联用也表现出良好的抗乳腺癌作用。MTT 实验表明, 槲皮素和姜黄素均能剂量依赖性地抑制 MDA-MB-231 细胞和 MDA-MB-468 细胞的存活, 与单独使用槲皮素或姜黄素相比, 两者联合用药抑制乳腺癌细胞存活的效果更为明显, 并显著抑制了乳腺癌细胞迁移和上皮细胞间质转化^[31]。与金纳米颗粒 (AuNPs) 单独装载槲皮素相比, AuNPs 同时装载姜黄素、姜黄、紫杉醇和槲皮素, 能更好地抑制 MDA-MB-231 细胞和 MCF-7 细胞增殖、凋亡、集落形成和肿瘤球体形成, 而对人胚胎正常肾细胞系 (HEK 293) 没有细胞毒性^[32]。这表明, 黄酮醇与其他天然抗癌药物联用在治疗乳腺癌方面可能具有协同作用, 能够达到更好的治疗效果。

6 黄酮醇改良剂型

黄酮醇是平面型分子, 有多个酚羟基, 空间结构堆砌较为紧密, 导致其水溶性较差, 生物利用度低, 口服吸收不好, 化学稳定性差, 限制了其在临床研究中的应用^[33-34]。目前已经设计了一些多功能递送系统, 如脂质体^[35]、金属离子络合物^[18]、水凝胶^[36]、胶束^[37-39]、无机纳米颗粒^[12,17,40]、有机纳米颗粒^[41]和纳米球^[13]等用于递送药物, 并防止药物代谢, 从而提高药物生物利用度。例如, 芦丁与金属、量子点、磷脂等其他物质形成的络合物可以提高其药理作用^[42-45]。芦丁-岩藻依聚糖 (多糖) 复合物能够增强芦丁药物靶向能力、生物利用度和功效^[41]。采用薄膜水化法制备包含槲皮素的混合高分子胶束 (MPM), 在 MCF-7 细胞和 MDA-MB-231 细胞中进行体外抗癌活性测试发现, 与游离的槲皮素相比, 包含槲皮素的 MPM 表现出持续性的槲皮素释放, 槲皮素的溶解度显著提高, 在两种细胞系中, 达 IC50 值的浓度明显降低, 在水介质中的稳

定性也非常高^[37]。此外,在较低浓度下,金纳米颗粒和二氧化硅纳米粒子缀合的槲皮素,比游离槲皮素更有效地抑制了MCF-7细胞增殖,显著增强了槲皮素对人乳腺癌细胞的毒性作用,可用作增强乳腺癌治疗效果的靶向药物^[12,17,46]。芦丁/苯甲酰胺PLGA (R/B @ PLGA) 纳米球对MDA-MB-231细胞具有抑制作用,为了预测R/B @ PLGA纳米球临床毒副作用,将60尾雌性斑马鱼随机分为三组,即0.15 g 纳米球/kg 日粮组、0.3 g 纳米球/kg 日粮组和对照组,进行氧化测量、组织学评估和遗传毒性评估。实验结果表明,实验组可以激活抗氧化应激,显示出与对照组相似的正常组织学特征且没有遗传毒性,说明使用纳米系统进行临床癌症治疗具有很好的开发前景^[13]。综上所述,开发具有高生物利用度、体内循环时间长、稳定性高和毒性作用低的黄酮醇改良剂型可以实现更高效的治疗效果。

7 结语

黄酮醇参与了EGFR/PI3K/Akt、Notch1/PI3K/Akt、PKC/MAPK/AP-1、PI3K/Akt、Akt/mTOR等多条信号通路,通过阻滞细胞周期、促进细胞凋亡、抑制侵袭转移、调节肿瘤细胞糖代谢、化疗增敏及逆转耐药抑制乳腺癌细胞的生长与增殖。体外研究表明,黄酮醇与其他天然抗癌药物联用可能会表现出协同抗乳腺癌的作用。此外,各种黄酮醇改良剂型增强了黄酮醇的生物利用度和抗乳腺癌作用,为黄酮醇抗乳腺癌的临床应用提供了理论基础。

目前,关于黄酮醇及其衍生物和各种改良剂型抗乳腺癌的研究大多集中在体外水平,体内研究较少。虽然一些体内种植瘤实验显示黄酮醇在体内同样具有良好的抗乳腺癌作用,黄酮醇改良剂型在生物体内没有遗传毒性,组织学特征正常,但是动物模型并不能完全模拟黄酮醇对乳腺癌在人体内发生发展过程中的影响。所以,天然化合物黄酮醇抗乳腺癌应用于临床仍然需要大量的动物体内实验和临床试验进一步验证。

[参 考 文 献]

- [1] Sorrentino R, Varoni EM, Rimondini L, et al. Rutin, a quercetin glycoside, restores chemosensitivity in human breast cancer cells. *Phytother Res*, 2017, 31: 1529-38
- [2] Zheng L, Zhu LJ, Zhao M, et al. *In vivo* exposure of kaempferol is driven by phase II metabolic enzymes and efflux transporters. *AAPS J*, 2016, 18: 1289-99
- [3] Ali G, Sadegh A, Ali B, et al. Improvement in flavonoids and phenolic acids production and pharmaceutical quality of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) by ultraviolet-B irradiation. *Molecules*, 2016, 21: 1203
- [4] Wang XN, Yang YT, An YT, et al. The mechanism of anticancer action and potential clinical use of kaempferol in the treatment of breast cancer. *Biomed Pharmacother*, 2019, 117: 109086
- [5] Fan XQ, Bai J, Zhao SY, et al. Evaluation of inhibitory effects of flavonoids on breast cancer resistance protein (BCRP): from library screening to biological evaluation to structure-activity relationship. *Toxicol In Vitro*, 2019, 61: 104642
- [6] Li SZ, Yuan S, Zhao Q, et al. Quercetin enhances chemotherapeutic effect of doxorubicin against human breast cancer cells while reducing toxic side effects of it. *Biomed Pharmacother*, 2018, 100: 441-7
- [7] Muhammad I, Bahare S, Javad SR, et al. Kaempferol: a key emphasis to its anticancer potential. *Molecules*, 2019, 24: 2277
- [8] Chen W, Zheng RS, Zhang SW, et al. Cancer incidence and mortality in China in 2013: an analysis based on urbanization level. *Chin J Cancer Res*, 2017, 29: 1-10
- [9] Miller KD, Nogueira L, Mariotto AB, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019. *CA Cancer J Clin*, 2019, 69: 363-85
- [10] Lin BH, Li CH, Yang YX, et al. Quercetin-3-methyl ether suppresses human breast cancer stem cell formation by inhibiting the Notch1 and PI3K/Akt signaling pathways. *Int J Mol Med*, 2018, 42: 1625-36
- [11] Wu Q, Kroon PA, Shao H, et al. Differential effects of quercetin and two of its derivatives, isorhamnetin and isorhamnetin-3-glucuronide, in inhibiting the proliferation of human breast-cancer MCF-7 cells. *J Agric Food Chem*, 2018, 66: 7181-9
- [12] Fahimeh A, Akbar AM, Anderia N, et al. Quercetin conjugated with silica nanoparticles inhibits tumor growth in MCF-7 breast cancer cell lines. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 500: 860-5
- [13] Sathiya DM, Ramar T, Salammal ST, et al. Dual drug loaded PLGA nanospheres for synergistic efficacy in breast cancer therapy. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019, 103: 109716
- [14] Bindu N, Ramesh G, Mehrajuddin B, et al. *In vivo* inhibition of proteasome activity and tumour growth by *Murraya koenigii* leaf extract in breast cancer xenografts and by its active flavonoids in breast cancer cells. *Anticancer Agents Med Chem*, 2016, 16: 1605-14
- [15] Zhu L, Xue LJ. Kaempferol suppresses proliferation and induces cell cycle arrest, apoptosis, and DNA damage in breast cancer cells. *Oncol Res*, 2018, 27: 629-34
- [16] Yi XF, Zuo JC, Tan C, et al. Kaempferol, a flavonoid compound from *Gynura medica* induced apoptosis and growth inhibition in MCF-7 breast cancer cell. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2016, 13: 210-5
- [17] Solaimuthu B, Mukherjee S, Das S, et al. Gold nanoparticles-conjugated quercetin induces apoptosis via inhibition of EGFR/PI3K/Akt-mediated pathway in breast

- cancer cell lines (MCF-7 and MDA-MB-231). *Cell Biochem Funct*, 2017, 35: 217-31
- [18] Souvik R, Sritama B, Taniaet C. Vanadium quercetin complex attenuates mammary cancer by regulating the p53, Akt/mTOR pathway and downregulates cellular proliferation correlated with increased apoptotic events. *Biometals*, 2018, 31: 647-71
- [19] Jain AK, Thanki K, Jain S. Novel self-nanoemulsifying formulation of quercetin: implications of pro-oxidant activity on the anticancer efficacy. *Nanomedicine*, 2014, 10: 959-69
- [20] Kaur V, Kumar M, Kumar A, et al. *Butea monosperma* (lam.) taub. bark fractions protect against free radicals and induce apoptosis in MCF-7 breast cancer cells via cell-cycle arrest and Ros-mediated pathway. *Drug Chem Toxicol*, 2020, 43: 398-408
- [21] Lee GA, Choi KC, Hwang KA. Treatment with phytoestrogens reversed triclosan and bisphenol a-induced anti-apoptosis in breast cancer cells. *Biomol Ther (Seoul)*, 2018, 26: 503-11
- [22] Li CL, Zhao YW, Yang D, et al. Inhibitory effects of kaempferol on the invasion of human breast carcinoma cells by downregulating the expression and activity of matrix metalloproteinase-9. *Biochem Cell Biol*, 2015, 93: 16-27
- [23] Li J, Zhang J, Wang YY, et al. Synergistic inhibition of migration and invasion of breast cancer cells by dual docetaxel/quercetin-loaded nanoparticles via Akt/MMP-9 pathway. *Int J Pharm*, 2017, 523: 300-9
- [24] Ying Z, Li JJ, Li LH, et al. Quercetin suppresses the mobility of breast cancer by suppressing glycolysis through Akt-mTOR pathway mediated autophagy-induction. *Life Sci*, 2018, 208: 123-30
- [25] Li SS, Yan T, Deng R, et al. Low dose of kaempferol suppresses the migration and invasion of triple-negative breast cancer cells by downregulating the activities of RhoA and Rac1. *OncoTargets Ther*, 2017, 10: 4809-19
- [26] Elsayed HE, Ebrahim HY, Mohyeldin MM, et al. Rutin as a novel c-Met inhibitory lead for the control of triple negative breast malignancies. *Nutr Cancer*, 2017, 69: 1256-71
- [27] Azevedo A, Correia-Branco A, João R, et al. The chemopreventive effect of the dietary compound kaempferol on the MCF-7 human breast cancer cell line is dependent on inhibition of glucose cellular uptake. *Nutr Cancer*, 2015, 67: 504-13
- [28] Saraswathy M, Gong SQ. Different strategies to overcome multidrug resistance in cancer. *Biotechnol Adv*, 2013, 31: 1397-407
- [29] Li SZ, Zhao Q, Wang B, et al. Quercetin reversed MDR in breast cancer cells through down-regulating P-gp expression and eliminating cancer stem cells mediated by YB-1 nuclear translocation. *Phytother Res*, 2018, 32: 1530-6
- [30] Sharma R, Gatchie L, Williams IS, et al. *Glycyrrhiza glabra* extract and quercetin reverses cisplatin resistance in triple-negative MDA-MB-468 breast cancer cells via inhibition of cytochrome P450 1B1 enzyme. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27: 5400-3
- [31] Sai K, Amrita P, Priyanga S, et al. Synergistic anticancer action of quercetin and curcumin against triple-negative breast cancer cell lines. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 11103-18
- [32] Kumar VS, Reddy BR, Sudip M, et al. Novel biosynthesized gold nanoparticles as anti-cancer agents against breast cancer: synthesis, biological evaluation, molecular modelling studies. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019, 99: 417-29
- [33] Soni H, Singhai AK. Formulation and development of hydrogel based system for effective delivery of rutin. *Int J App Pharm*, 2013, 5: 5-13
- [34] Cai X, Fang Z, Dou J, et al. Bioavailability of quercetin: problems and promises. *Curr Med Chem*, 2013, 20: 2572-82
- [35] Sheena TS, Balaji P, Venkatesan R, et al. Functional evaluation of doxorubicin decorated polymeric liposomal curcumin: a surface tailored therapeutic platform for combination chemotherapy. *New J Chem*, 2018, 42: 16608-19
- [36] Selvaraj k, Panneerselvam T, Suraj B, et al. Modeling a pH-sensitive Zein coacrylic acid hybrid hydrogels loaded 5-fluorouracil and rutin for enhanced anticancer efficacy by oral delivery. *3 Biotech*, 2019, 9: 185
- [37] Arjun P, Swaha S, Anitha S, et al. Formulation and evaluation of mixed polymeric micelles, of quercetin for treatment of breast, ovarian, and multidrug resistant cancers. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 2869-81
- [38] Murata M, Uchida Y, Takami T, et al. Dual drug release from hydrogels covalently containing polymeric micelles that possess different drug release properties. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2017, 153: 19-26
- [39] Scarano W, Souza PD, Stenzel MH. Dual-drug delivery of curcumin and platinum drugs in polymeric micelles enhances the synergistic effects: a double act for the treatment of multidrug-resistant cancer. *Biomater Sci*, 2015, 3: 163-74
- [40] Arumai SD, Mahendiran D, Senthil KR, et al. Garlic, green tea and turmeric extracts-mediated green synthesis of silver nanoparticles: phytochemical, antioxidant and *in vitro* cytotoxicity studies. *J Photochem Photobiol B*, 2018, 180: 243-52
- [41] Sathiya DM, Ramar T, Salammal ST, et al. A novel rutin-fucoidan complex based phytotherapy for cervical cancer through achieving enhanced bioavailability and cancer cell apoptosis. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 1181-95
- [42] Ikeda NEA, Novak EM, Maria DA, et al. Synthesis characterization and biological evaluation of rutin-zinc (II) flavonoid-metal complex. *Chem Biol Interact*, 2015, 239: 184-91
- [43] Ahmad H, Arya A, Agrawal S, et al. Rutin phospholipid complexes confer neuro-protection in ischemic-stroke rats. *RSC Adv*, 2016, 6: 96445-54
- [44] Roy AS, Tripathy DR, Samanta S, et al. DNA damaging, cell cytotoxicity and serum albumin binding efficacy of the

- rutin-Cu (II) complex. *Mol Biosyst*, 2016, 12: 1687-701
- [45] Ananth DA, Rameshkumar A, Jeyadevi R, et al. Antibacterial potential of rutin conjugated with thioglycolic acid capped cadmium telluride quantum dots (TGA-CdTe QDs). *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2015, 138: 684-92
- [46] Niazvand F, Orazizadeh M, Khorsandi L, et al. Effects of quercetin-loaded nanoparticles on MCF-7 human breast cancer cells. *Medicina (Kaunas)*, 2019, 55: 114