

医药与日化原料

硒化二氢杨梅素的制备及对肿瘤细胞增殖/转移的抑制性

毛敏¹, 李香香¹, 辛国鹏¹, 杨晶莹², 杨薇², 刘信平^{1*}

(1. 湖北民族大学 化学与环境工程学院, 湖北 恩施 445000; 2. 湖北民族大学 生物科学与技术学院, 湖北 恩施 445000)

摘要: 以二氢杨梅素 (DMY) 为底物、 Na_2SeO_3 为硒化剂制备了硒化 DMY。采用 UV-Vis、FTIR、NMR、XRD、TG、原子荧光光谱表征其结构和性能。用 CCK-8 法检测了硒化 DMY 对人口腔鳞癌细胞 HSC-3 细胞增殖的影响, 通过划痕实验研究了硒化 DMY 对 HSC-3 细胞迁移的影响。结果表明, 硒化 DMY 中仍存在黄酮基本母核, 并新形成 C—Se 键, 其中硒含量为 $6.54\% \pm 0.22\%$; DMY 和硒化 DMY 均对 HSC-3 细胞的增殖和迁移有良好的抑制作用, 抑制效果与其质量浓度呈正相关性, 且 DMY 和硒化 DMY 对 HSC-3 细胞的半数抑制质量浓度 (IC_{50}) 分别为 25.27、21.27 $\mu\text{g/mL}$, DMY 的硒化有效提高了其对 HSC-3 细胞增殖和迁移的抑制能力。

关键词: DMY; Na_2SeO_3 ; 硒化; 抗肿瘤活性; 医药原料

中图分类号: TQ460.1 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2022) 05-0950-06

Preparation of selenizing DMY and its inhibition on proliferation/metastasis of tumor cells

MAO Min¹, LI Xiangxiang¹, XIN Guopeng¹, YANG Jingying², YANG Wei², LIU Xinpings^{1*}

(1. College of Chemistry and Environment Engineering, Hubei Minzu University, Enshi 445000, Hubei, China; 2. College of Biological Science and Technology, Hubei Minzu University, Enshi 445000, Hubei, China)

Abstract: Selenizing dihydromyricetin (DMY) was prepared with DMY as substrate and Na_2SeO_3 as selenizing agent. Its structure and performance were characterized by UV-Vis, FTIR, NMR, XRD, TG and atomic fluorescence spectrometry. The effects of selenizing DMY on human oral squamous cell carcinoma (HSC-3 cell) proliferation and human oral squamous cell carcinoma (HSC-3 cell) migration were tested by CCK-8 method and scratch experiment, respectively. The results showed that there was still a basic nucleus of flavonoids in selenizing DMY and new C—Se bonds were formed, and the selenium content was $6.54\% \pm 0.22\%$. Both DMY and selenizing DMY had a good inhibitory effect on the proliferation and migration of HSC-3 cells, and the inhibitory effect was positively correlated with the concentration. The half inhibitory mass concentration (IC_{50}) of DMY and selenizing DMY on HSC-3 cells were 25.27 and 21.27 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The selenization of DMY effectively improved the ability to inhibit the proliferation and migration of HSC-3 cells.

Key words: DMY; Na_2SeO_3 ; selenization; antitumor activity; drug materials

近年来恶性肿瘤发生率显著增加, 且 90% 恶性肿瘤患者死亡是由于癌细胞转移^[1]。临床化疗所用多种药物 (如替莫唑胺、环磷酰胺、巯嘌呤) 疗效

良好, 但患者常伴有脱发、恶心呕吐、血液中毒等严重副作用^[2-3]。研究发现, 天然产物中的黄酮、生物碱、二萜及皂苷等物质可抑制癌细胞增殖和迁移^[4],

收稿日期: 2021-12-02; 定用日期: 2022-01-17; DOI: 10.13550/j.jxhg.20211239

基金项目: 国家自然科学基金 (21461009, 21565013)

作者简介: 毛敏 (1995—), 女, 硕士生, E-mail: min05eng@163.com。联系人: 刘信平 (1968—), 女, 教授, E-mail: 363747611@qq.com。

且 GREENWELL 等^[5]指出大多数植物天然产物仅对癌细胞有细胞毒性。因此, 开发高效低毒的天然产物衍生物是医药领域中的研究热点。

湖北恩施的藤茶和硒资源丰富, 而二氢杨梅素(DMY)是藤茶中最主要的一种天然黄酮类物质, 具有一定的抗肿瘤、抗氧化、抗炎、降血糖等活性功能^[6-7]。前期有研究报道, DMY 对人正常卵巢细胞无明显细胞毒性^[8], 但能抑制癌细胞的增殖和迁移、促凋亡、阻滞细胞周期及诱导自噬等^[9-10]。另外, 人体必须的微量元素硒能降低癌症发病率和治疗多种癌症^[11]; 硒化物可抑制癌细胞的活性^[12]。TSUBURA 等^[13]也报道了一种硒化物能有效抑制乳腺癌细胞的增殖; NOGUEIRA 等^[14]研究发现, 硒化修饰的天然产物生理活性功能明显增强。

本文在已有研究的基础上, 以 DMY 为底物、 Na_2SeO_3 为硒化剂制备硒化 DMY, 利用 UV-Vis、FTIR、NMR、XRD、TG、原子荧光光谱对其结构和性能进行表征, 选取发病率及死亡率较高的人口腔鳞癌细胞 HSC-3 进行体外细胞活力实验和划痕实验。以期通过硒化在 DMY 结构中引入生物活性较好的硒活性结构基团, 使 DMY 与硒发挥协同作用, 增强抗肿瘤活性, 有望为今后天然藤茶产物及硒资源的开发利用开辟新的途径。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

DMY, 质量分数 98%, 陕西博耐泽生物科技有限公司; Na_2SeO_3 、盐酸、无水乙醇, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 硒标准溶液, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 中国计量科学研究院; HSC-3 细胞, 国家实验细胞资源共享服务平台; 质量分数 0.25% 的胰蛋白酶、磷酸缓冲盐溶液 (PBS) ($\text{pH}=7.4$)、DMEM 培养基, Gibco 公司; 血清, Ausgenex 公司; CCK-8 试剂盒, Biosharp 公司。

MARS 6 240/250 型微波消解仪, 美国 CEM 公司; AFS-9760 型双道原子荧光光度计, 北京海光仪器公司; TU-1901 型紫外-可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; Nicolet Avatar 370 型红外光谱分析仪、3308 型 CO_2 培养箱、1510 型酶标仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; AVANCE III HD 600 MHz 型核磁共振波谱仪, 德国 Bruker 公司; XRD-7000 型 X 射线衍射仪, 日本岛津公司; TG/DTA 6300 型热重-差热综合分析仪, 日本 SII 纳米有限公司; Axio Vert A1 型倒置相差显微镜, 德国 Carl Zeiss 公司。

1.2 硒化 DMY 的制备

按 $n(\text{DMY}) : n(\text{Na}_2\text{SeO}_3) = 1 : 0.5$, 精确

称取 2 g DMY 于烧瓶中, 精确称取 0.54 g 的 Na_2SeO_3 溶于 10 mL 蒸馏水再转移至烧瓶中, 再加入体积分数 55% 乙醇 60 mL 至烧瓶, 用 1 mol/L HCl 溶液调节反应体系 pH 为 3~4, 连接旋转蒸发仪在反应温度 55 $^\circ\text{C}$ 下反应 20 min, 降至室温后取反应液离心, 用无水乙醇淋洗, 合并上清液真空干燥 48 h, 即得深黄棕色硒化 DMY^[15-16]。

1.3 结构表征与性能测试

以蒸馏水配制质量浓度约为 0.14 g/L 的样品溶液, 用紫外-可见分光光度计在 200~500 nm 区间扫描紫外光谱; 取少量干燥样品, 采用溴化钾压片法, 于红外光谱仪在 4000~450 cm^{-1} 区间采集红外光谱; 取适量干燥样品溶于 $\text{DMSO}-d_6$, 用核磁共振波谱仪检测 ^{13}C NMR 谱和 ^1H NMR 谱; 取适量干燥样品于 X 射线衍射仪样品盘中, 扫描速度 8 ($^\circ$)/min 条件下采集 $2^\circ\sim 80^\circ(2\theta)$ 的数据; 取适量干燥样品在 Ar 气氛中, 升温及降温速率均为 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$, 于综合热分析仪检测。

1.4 硒含量测定

精密称取 0.1 g 硒化 DMY 置于带盖的微波消解管中, 加入 5 mL 硝酸, 置于微波消解仪消解。设置条件: 温度 160 $^\circ\text{C}$ 、功率 1100 W、升温时间 30 min、保温时间 30 min、降温时间 30 min。消解后置于 160 $^\circ\text{C}$ 的赶酸仪中, 赶酸至 1 mL 后加入 4 mL 现配的体积分数 50% 盐酸, 继续赶酸至 1 mL 取出, 用现配体积分数 5% 盐酸定容至 50 mL, 用双道原子荧光光度计测定硒化 DMY 中硒的质量浓度, 按公式 (1) 计算硒含量 (%)。

$$\text{硒含量}/\% = \frac{(\text{硒化DMY中硒的质量浓度} \times \text{定容体积})}{\text{硒化DMY的质量}} \times 100 \quad (1)$$

1.5 体外细胞活力实验

采用 CCK-8 法^[17], 取对数生长期的 HSC-3 细胞, 接种至 96 孔板中, 每孔 100 μL 细胞悬液 (8000 个细胞)^[18]。称取 128 mg 样品溶于 DMSO, 用 0.22 μm 一次性灭菌过滤膜过滤, 再用含体积分数为 10% 血清的 DMEM 培养基稀释成 160、80、40、20、10、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 控制样品试液中 DMSO 体积分数小于 0.1%。加不同质量浓度试样培养 24 h 后, 每孔加入 10 μL 含体积分数 10% CCK-8 的细胞培养液, 孵育 30 min 后利用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度, 按公式 (2) 计算细胞抑制率。

$$\text{抑制率}/\% = (A_c - A_s) / (A_c - A_b) \times 100 \quad (2)$$

式中: 实验组 (A_s): 含细胞、细胞培养液、待测试样、CCK-8; 对照组 (A_c) 含细胞、细胞培养液、CCK-8; 空白组 (A_b) 含细胞培养液、待测试样、CCK-8。

1.6 划痕实验

将 HSC-3 细胞接种至 6 孔板中，每孔 3 mL 细胞悬液（30 万个细胞）。待细胞长至 90% 时，用枪头划出“十”字架，用 PBS 洗 3 次以上，根据细胞活力实验选取高质量浓度组 40 μg/mL、低质量浓度组 20 μg/mL 试样加入 6 孔板，分别在 0、4、8、12、24、36、48 h 利用倒置相差显微镜拍摄，划痕愈合率按公式（3）计算^[19]。

$$\text{划痕愈合率}/\% = \frac{(0 \text{ h 划痕距离} - \text{各时间点划痕距离})}{0 \text{ h 划痕距离}} \times 100 \quad (3)$$

2 结果与讨论

2.1 UV-Vis 分析

图 1 为 DMY 和硒化 DMY 的紫外-可见吸收光谱图。由图 1 可知，DMY 的 λ_{max} 为 295.5 nm，与 LIU 等^[20]的报道基本一致。硒化 DMY 在 213.0 和 291.5 nm 处有吸收峰，分别对应硒酚中 C—Se 的特征峰（210~260 nm）^[21-22]和黄酮醇特征峰（289 nm）^[23]，说明硒化 DMY 中仍存在黄酮基本母核，并新形成 C—Se 键。

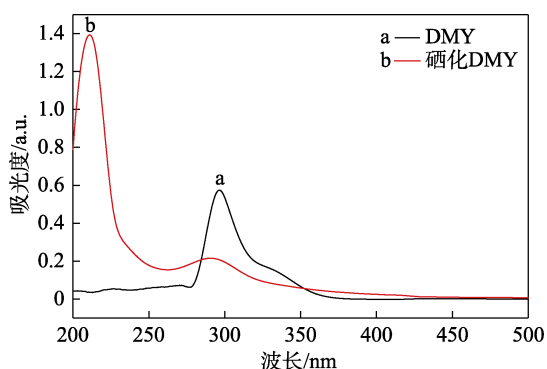


图 1 DMY 和硒化 DMY 的紫外-可见吸收光谱图
Fig. 1 UV-Vis adsorption spectra of DMY and selenizing DMY

2.2 FTIR 分析

图 2 为 DMY、Na₂SeO₃ 及硒化 DMY 的红外光谱图。由图 2 可知，DMY 中，3340 和 1350 cm⁻¹ 处对应 O—H 的伸缩振动吸收峰，1645 cm⁻¹ 处对应 C=O 的伸缩振动吸收峰，1460 cm⁻¹ 处对应 C=C 的伸缩振动吸收峰，1270 和 1160 cm⁻¹ 处对应 C—O—C 的伸缩振动吸收峰。硒化 DMY 中，3410、1390 cm⁻¹ 处对应 O—H 的伸缩振动吸收峰，1620 cm⁻¹ 处对应 C=O 的伸缩振动吸收峰，1410 cm⁻¹ 处对应 C=C 的伸缩振动吸收峰，1250 和 1150 cm⁻¹ 处对应 C—O—C 的伸缩振动吸收峰，626 和 480 cm⁻¹ 处对应 C—Se 的伸缩振动吸收峰^[24-25]。对比红外光谱数据可知，DMY

与硒化 DMY 的 C=C、C=O、C—O—C 的特征峰变化不明显，表明硒化 DMY 中黄酮基本母核仍然存在，且有新的 C—Se 键形成，实现了 DMY 的硒化。

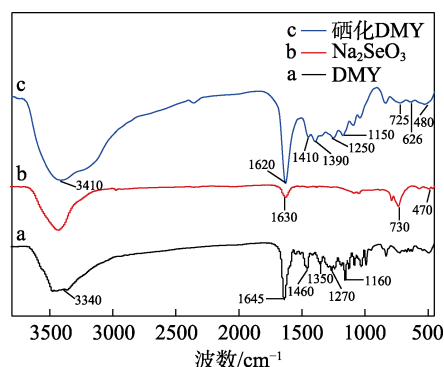


图 2 DMY 和硒化 DMY 的 FTIR 谱图
Fig. 2 FTIR spectra of DMY and selenizing DMY

2.3 NMR 分析

图 3 分别为 DMY 和硒化 DMY 的 ¹HNMR 和 ¹³CNMR。

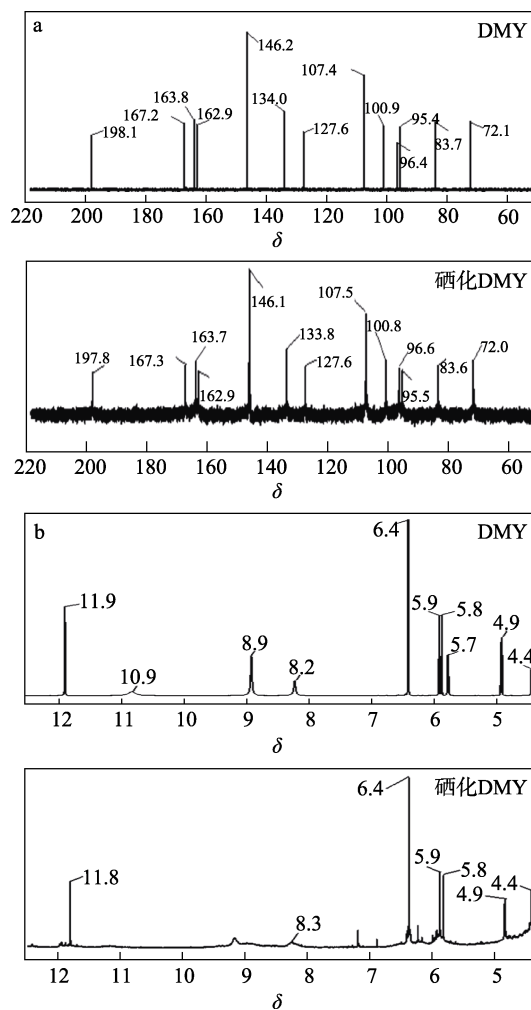


图 3 DMY 和硒化 DMY 的 ¹³CNMR (a) 和 ¹HNMR (b) 谱图
Fig. 3 ¹³CNMR (a) and ¹HNMR (b) spectra of DMY and selenizing DMY

从DMY的 ^{13}C NMR(600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)可知, δ 198.1为4位羰基碳信号峰, δ 167.2、163.8分别为7-C和5-C信号峰, δ 162.9和100.9为A环与C环桥连烯碳信号峰, δ 146.2为3'-C和5'-C信号峰, δ 134.0为4'-C信号峰, δ 127.6为1'位烯碳信号峰, δ 107.4为2'-C和6'-C信号峰, δ 96.4和95.4分别为6-C和8-C信号峰, δ 83.7为2位烷基碳信号峰, δ 72.1为3位烷基碳信号峰。从硒化DMY的 ^{13}C NMR(600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)可知, δ 197.8为4位羰基碳信号峰, δ 167.3、163.7分别为7-C和5-C信号峰, δ 162.9和100.8为A环与C环桥连烯碳信号峰, δ 146.1为3'-C和5'-C信号峰, δ 133.8为4'-C信号峰, δ 127.6为1'位烯碳信号峰, δ 107.5为2'-C和6'-C信号峰, δ 96.6和95.5分别为6-C和8-C信号峰, δ 83.6为2位烷基碳信号峰, δ 72.0为3位烷基碳信号峰。

从DMY的 ^1H NMR(600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)可知, δ 11.9为5-OH信号峰, δ 10.9为7-OH信号峰, δ 8.9为3'-OH和5'-OH信号峰, δ 8.2为4'-OH信号峰, δ 6.4为2'-H和6'-H信号峰, δ 5.9、5.8分别为8-H和6-H相互耦合信号峰, δ 5.7为3-OH信号峰, δ 4.9、4.4分别为2-H和3-H信号峰。从硒化DMY的 ^1H NMR(600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)可知, δ 11.8为5-OH信号峰, δ 8.3为4'-OH信号峰, δ 6.4为2'-H和6'-H信号峰, δ 5.9、5.8分别为8-H和6-H相互耦合信号峰, δ 4.9、4.4分别为2-H和3-H信号峰。实验结果与文献[26]基本一致。从DMY和硒化DMY的 ^{13}C NMR谱可知, 都有黄酮基本母核的存在, 说明硒化并未破坏黄酮基本母核。对比DMY和硒化DMY的 ^1H NMR谱可知, 硒化DMY中不存在DMY原有的7-OH、3'-OH、5'-OH、3-OH, 即硒活性基团可能取代修饰DMY中的该部分羟基生成硒化DMY。

2.4 XRD分析

图4为DMY、 Na_2SeO_3 、DMY和 Na_2SeO_3 混合物、硒化DMY的XRD图。由图4可知, DMY在 $2\theta=13.82^\circ$ 、 14.52° 、 15.94° 、 21.36° 、 24.66° 、 25.92° 、 26.82° 处具有显著的晶体衍射峰, 与文献[27]一致。 Na_2SeO_3 在 $2\theta=15.68^\circ$ 、 17.74° 、 18.08° 、 20.54° 、 22.00° 、 24.20° 、 26.04° 、 31.62° 、 32.44° 、 33.48° 、 36.58° 、 37.76° 、 45.00° 、 53.14° 、 54.32° 、 60.80° 处具有显著的晶体衍射峰, 对应标准卡片JCPDS No. 32-1153。硒化DMY的晶体衍射峰为 $2\theta=31.64^\circ$ 、 45.56° 、 56.54° 。DMY和 Na_2SeO_3 混合物具有DMY与 Na_2SeO_3 的特征晶体衍射峰, 明显不同于硒化DMY的晶体衍射峰, 表明硒化DMY是DMY和 Na_2SeO_3 发生反应所得^[28]。

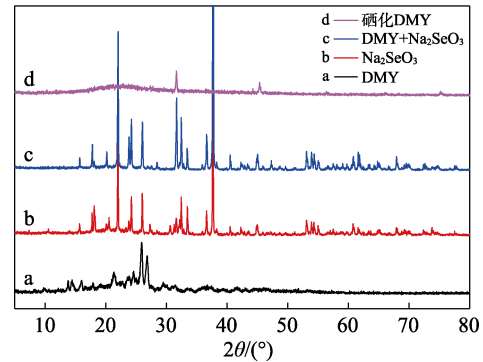


图4 DMY和硒化DMY的XRD谱图

Fig. 4 XRD patterns of DMY and selenizing DMY

2.5 TG分析

图5为DMY和硒化DMY的TG-DTG曲线。

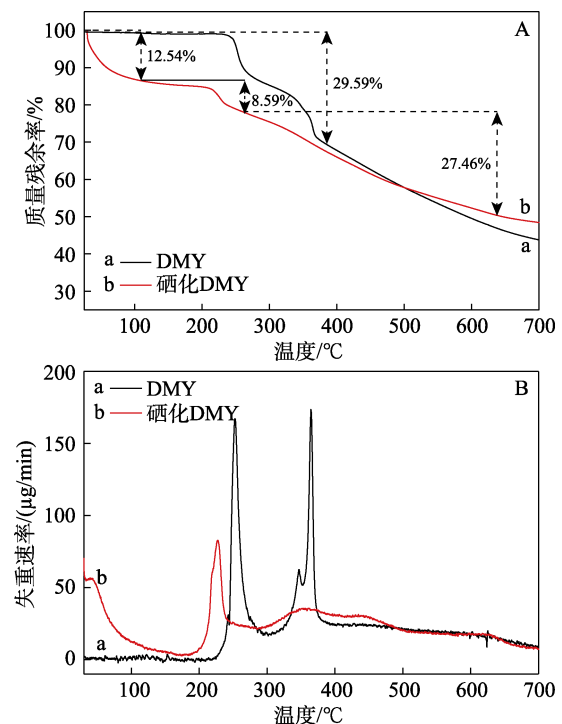


图5 DMY和硒化DMY的TG(A)-DTG(B)曲线

Fig. 5 TG(A)-DTG(B) curves of DMY and selenizing DMY

由图5A可知, DMY在230~380 $^{\circ}\text{C}$ 的失重率为29.59%, 为DMY迅速燃烧分解阶段。硒化DMY在100 $^{\circ}\text{C}$ 以内失重率为12.54%, 为硒化DMY分子外的吸附水蒸发; 在100~260 $^{\circ}\text{C}$ 的失重率为8.59%, 为硒化DMY分子内的结合水所致; 在260~640 $^{\circ}\text{C}$ 的失重率为27.46%, 为硒化DMY迅速燃烧分解阶段。由图5B可知, DMY的分解失重峰温度为250 $^{\circ}\text{C}$, 硒化DMY的分解失重峰温度为240 $^{\circ}\text{C}$ 。结果表明, 硒化DMY的热稳定性略弱于DMY, 这是由于硒化DMY中黄酮基本母核和硒结合处同时分解所致^[29]。

2.6 硒含量测定

取硒标准溶液, 用体积分数5%盐酸现配成质量

浓度分别为 0、10、20、40、80、100 $\mu\text{g/L}$ 硒溶液，通过荧光光度测其荧光度，得到硒的标准工作曲线方程为： $y=164.160x+290.385$ ， $R^2=0.9993$ 。通过计算处理可得，硒化 DMY 的硒含量为 $6.54\%\pm 0.22\%$ 。

2.7 体外细胞活力实验

癌细胞增殖能力强，用体外细胞活力实验研究硒化 DMY 抑制 HSC-3 细胞增殖的能力。图 6 为 DMY 和硒化 DMY 对 HSC-3 细胞的抑制率。

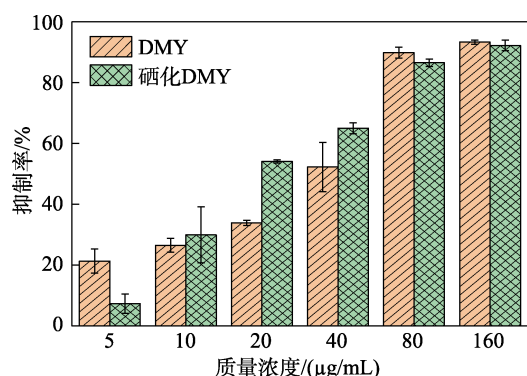


图 6 DMY 和硒化 DMY 对 HSC-3 细胞的抑制率
Fig. 6 Inhibition rates of DMY and selenizing DMY on HSC-3 cells

由图 6 可知，DMY 和硒化 DMY 均对 HSC-3 细胞的体外增殖有良好的抑制作用，且抑制效果随其质量浓度增加而增加，呈正相关性。利用 SPSS 23.0 计算半数抑制浓度 (IC_{50})，DMY 和硒化 DMY 对 HSC-3 细胞的 IC_{50} 分别为 25.27 和 21.27 $\mu\text{g/mL}$ ，表明硒化 DMY 对 HSC-3 细胞的体外增殖抑制能力优于 DMY。这主要是因为 DMY 与 Na_2SeO_3 发生硒化反应后，硒化 DMY 中仍存在黄酮基本母核，即硒化 DMY 仍保留黄酮抑制癌细胞增殖的特性^[30]；且硒活性基团取代修饰于 DMY 中的部分羟基生成硒化 DMY，硒化 DMY 中增加了硒抗肿瘤的特性^[31]，使得硒化 DMY 比 DMY 抑制 HSC-3 细胞增殖的能力更强。硒化物通过影响蛋白激酶 C 活性，进而影响蛋白质的磷酸化和膜的功能，由此抑制癌细胞的生长增殖^[32]。

2.8 划痕实验

癌细胞易转移，也给癌症治疗带来一定的困难。划痕实验从癌细胞转移角度入手，进一步研究硒化 DMY 的抗肿瘤活性。图 7 为 DMY 和硒化 DMY 对 HSC-3 细胞迁移的影响。

由图 7 可知，DMY 组和硒化 DMY 组的划痕愈合率均低于空白组，表明 DMY 和硒化 DMY 均能有效抑制 HSC-3 细胞的迁移。含 20、40 $\mu\text{g/mL}$ DMY 的培养液培养 HSC-3 细胞 36 h 后，对 HSC-3 细胞的划痕愈合率分别为 $95.43\%\pm 1.13\%$ 、 $93.98\%\pm 0.44\%$ ；含 20、40 $\mu\text{g/mL}$ 硒化 DMY 的培养液培养 HSC-3

细胞 36 h 后，对 HSC-3 细胞的划痕愈合率分别为 $84.67\%\pm 0.53\%$ 、 $51.14\%\pm 1.09\%$ ，即高浓度组 (40 $\mu\text{g/mL}$) 的划痕愈合率低于低浓度组 (20 $\mu\text{g/mL}$)，硒化 DMY 组的划痕愈合率低于 DMY 组，表明硒化 DMY 抑制 HSC-3 细胞的迁移效果随质量浓度增加而增加且优于 DMY。这主要由于硒化物通过诱导细胞凋亡，进而抑制细胞群的扩增转移^[33]，进一步验证 DMY 中引入硒活性结构可增强抑制 HSC-3 细胞的迁移能力，提高抗肿瘤活性。可为硒化 DMY 后续研究及癌症治疗提供一定的基础数据。

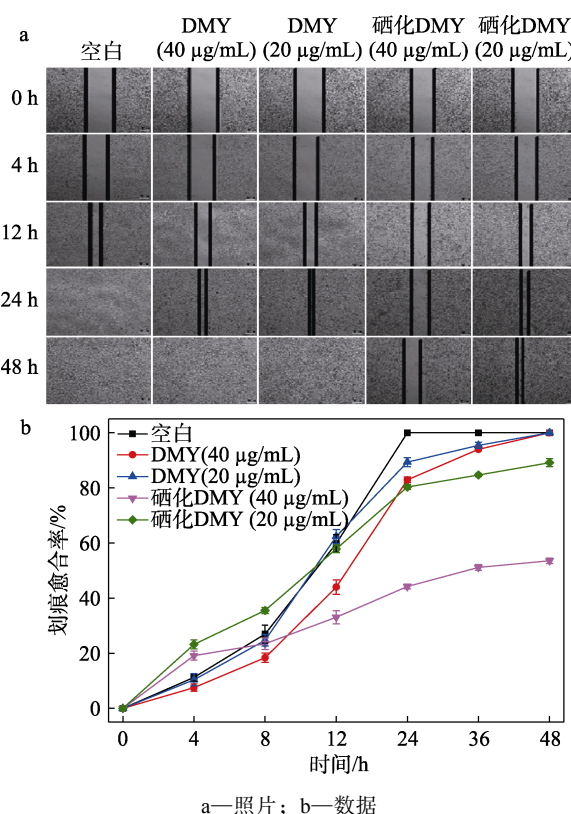


图 7 DMY 和硒化 DMY 对 HSC-3 细胞迁移的影响
Fig. 7 Effect of DMY and selenizing DMY on migration of HSC-3 cells

3 结论

以 Na_2SeO_3 为硒化剂对 DMY 进行硒化修饰。结果表明，硒化修饰未破坏 DMY 结构中的黄酮基本母核，且形成 C—Se 新键。DMY 和硒化 DMY 对 HSC-3 细胞的 IC_{50} 分别为 25.27 和 21.27 $\mu\text{g/mL}$ ，含 40 $\mu\text{g/mL}$ DMY 的培养液培养 HSC-3 细胞 36 h 后划痕愈合率为 $93.98\%\pm 0.44\%$ ，含 40 $\mu\text{g/mL}$ 硒化 DMY 的培养液培养 HSC-3 细胞 36 h 后划痕愈合率 $51.14\%\pm 1.09\%$ ，硒化 DMY 对 HSC-3 细胞的体外增殖和迁移均具有良好的抑制作用，抑制效果与硒化 DMY 质量浓度呈正相关性，且抑制效果优于 DMY。本研究在 DMY 衍生物抗肿瘤方面具有一定的应用

价值,有望促进DMY和硒资源的进一步开发利用。

参考文献:

- [1] GALSTYAN A, MARKMAN J L, SHATALOVA E S, *et al.* Author correction: Blood-brain barrier permeable nano immunoconjugates induce local immune responses for glioma therapy[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 701-711.
- [2] LAN Y L, CHEN C, WANG X, *et al.* Gamabufotalin induces a negative feedback loop connecting ATP1A3 expression and the AQP4 pathway to promote temozolomide sensitivity in glioblastoma cells by targeting the amino acid Thr794[J]. *Cell Proliferation*, 2020, 53(1): e12732.
- [3] WANG W L, ARU N A, LIU Z, *et al.* Prognosis of patients with newly diagnosed glioblastoma treated with molecularly targeted drugs combined with radiotherapy vs. temozolomide monotherapy: A meta-analysis[J]. *Medicine*, 2019, 98(45): e17759.
- [4] KIM T H, SHIN Y J, WON A J, *et al.* Resveratrol enhances chemosensitivity of doxorubicin in multidrug-resistant human breast cancer cells *via* increased cellular influx of doxorubicin[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, 1840(1): 615-625.
- [5] GREENWELL M, RAHMAN P. Medicinal plants: Their use in anticancer treatment[J]. *International Research Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015, 6(10): 4103-4112.
- [6] LUO F (罗帆), TANG F Z (唐凤志), XU Y P (许艳萍), *et al.* Green synthesis of ZnO nanoparticles using flavone from *Ampelopsis grossedentata* and its antioxidant and antibacterial properties[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2020, 37(9): 1793-1798.
- [7] CAI J Y (蔡锦源), WEI K H (韦坤华), XIONG J W (熊建文), *et al.* Extraction of flavonoids from *Sophora tonkinensis* gapnep and their antioxidant and antibacterial activities[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2017, 34(3): 285-293.
- [8] XU Y, WANG S, CHAN H F, *et al.* Dihydromyricetin induces apoptosis and reverses drug resistance in ovarian cancer cells by p53-mediated downregulation of survivin[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 46060.
- [9] ZHANG Q Y, LI R, ZENG G F, *et al.* Dihydromyricetin inhibits migration and invasion of hepatoma cells through regulation of MMP-9 expression[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(29): 10082-10093.
- [10] ZHANG J Y, CHEN Y, LUO H Q, *et al.* Recent update on the pharmacological effects and mechanisms of dihydromyricetin[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2018, 9: 1204.
- [11] RAYMAN M P. Selenium and human health[J]. *The Lancet*, 2012, 379(9822): 1256-1268.
- [12] WEN Z, XU J, WANG Z, *et al.* 3-(3, 4, 5-Trimethoxyphenylselenyl)-1*H*-indoles and their selenoxides as combretastatin A-4 analogs: Microwave-assisted synthesis and biological evaluation[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 90(23): 184-194.
- [13] TSUBURA A, LAI Y C, KUWATA M, *et al.* Anticancer effects of garlic and garlic-derived compounds for breast cancer control[J]. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2011, 11(3): 249-253.
- [14] NOGUEIRA C W, ROCHA J B T. Toxicology and pharmacology of selenium: Emphasis on synthetic organoselenium compounds[J]. *Archives of Toxicology*, 2011, 85(11): 1313-1359.
- [15] GUO Q Q, MA X F, XIE Y, *et al.* Green synthesis and formation mechanism of Ag nanoflowers using L-cysteine and the assessment of Ag nanoflowers as SERS substrates[J]. *Colloids and Surfaces A*, 2017, 530(10): 33-37.
- [16] YAO Y Y, ZHANG M, HE L B, *et al.* Evaluation of general synthesis procedures for bioflavonoid-metal complexes in air-saturated alkaline solutions[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2020, 8(8): 589.
- [17] WU J, HAN Y, ZOU X, *et al.* Silica nanoparticles as an enhancer in the IL-1 β induced inflammation cycle of A549 cells[J]. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 2019, 41(2): 199-206.
- [18] WANG C L (王春莉), CHEN Z Q (陈忠琴), XU L L (徐蕾蕾), *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles with aqueous folium mori extracts and their antimicrobial and anticancer activities[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2021, 38(1): 130-137.
- [19] SHEN L, ZHANG P, ZHANG S Q, *et al.* CXC motif chemokine ligand 8 promotes endothelial cell homing *via* the akt/signal transducer and activator of transcription pathway to accelerate healing of ischemic and hypoxic skin ulcers[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2017, 13(6): 3021-3031.
- [20] LIU D, MAO Y Q, DING L J, *et al.* Dihydromyricetin: A review on identification and quantification methods, biological activities, chemical stability, metabolism and approaches to enhance its bioavailability[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 91: 586-597.
- [21] AGOSTIN O, TROMBETTI C, ZAUL I. Molecular spectra and structure of selenophen[J]. *Journal of The Chemical Society A*, 1967: 1106-1111.
- [22] POLA J, BASTL Z, SUBRT J, *et al.* Chemical vapour deposition of selenium and tellurium films by UV laser photolysis of selenophene and tellurophene[J]. *Applied Organometallic Chemistry*, 2000, 14: 715-720.
- [23] HU H C, LUO F, WANG M J, *et al.* New method for extracting and purifying dihydromyricetin from *Ampelopsis grossedentata*[J]. *ACS Omega*, 2020, 5(23): 13955-13962.
- [24] SUN C C, SU H, ZHENG G D, *et al.* Fabrication and characterization of dihydromyricetin encapsulated zein-caseinate nanoparticles and its bioavailability in rat[J]. *Food Chemistry*, 2020, 330(15): 127245.
- [25] KUPKA T, WRZALIK R, PASTERNA G, *et al.* Theoretical DFT and experimental Raman and NMR studies on thiophene, 3-methylthiophene and selenophene[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2002, 616(1/2/3): 17-32.
- [26] UMAIR M, JABBAR S, SULTANA T, *et al.* Chirality of the biomolecules enhanced its stereospecific action of dihydromyricetin enantiomers[J]. *Food Science & Nutrition*, 2020, 8(8): 1-14.
- [27] WANG C G, XIONG W, RADDY P S, *et al.* Solid-state characterization of optically pure (+)-dihydromyricetin extracted from *Ampelopsis grossedentata* leaves[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2016, 511(1): 245-252.
- [28] WANG D T, MA Y D, WANG Q, *et al.* Solid self-emulsifying delivery system (S-SEDS) of dihydromyricetin: A new way for preparing functional food[J]. *Journal of Food Science*, 2019, 84(5): 936-945.
- [29] CHEN W X, CHEN J Y, WU H M, *et al.* Optimization of selenylation conditions for a pectic polysaccharide and its structural characteristic [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 69: 244-251.
- [30] VU P, JARVIS W, BILL B, *et al.* Enhanced cytotoxicity of optimized liposomal genistein *via* specific induction of apoptosis in breast, ovarian and prostate carcinomas[J]. *Journal of Drug Targeting*, 2013, 21(10): 1001-1011.
- [31] ZHANG Q, BAN Y, YUAN P, *et al.* Visible-light-mediated aerobic selenation of (hetero) arenes with diselenides[J]. *Green Chemistry*, 2017, 19: 5559-5563.
- [32] GOPALAKRISHNA R, GUNDIMEDA U. Protein kinase C as a molecular target for cancer prevention by selenocompounds[J]. *Nutrition & Cancer*, 2001, 40(1): 55-63.
- [33] VEKARIYA K K, KAUR J, TIKOO K. ER α signaling imparts chemotherapeutic selectivity to selenium nanoparticles in breast cancer[J]. *Nanomedicine*, 2012, 8(7): 1125-1132.