



## Oxymatrine (OMT) Inhibits Lung Cancer Growth through Mitogen Activated Protein Kinase JNK/ ERK/ p38MAPKs Activation

Shuo WU<sup>1#</sup>, Lizhan CHEN<sup>1#</sup>, Yao ZHANG<sup>2</sup>, Xi XU<sup>1</sup>, Yinli DANG<sup>1</sup>, Yan ZHANG<sup>1</sup> & Xinyu TI<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Pulmonary Medicine, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi China, 710032

<sup>2</sup> Department of Respiratory Medicine, Genecast Cancer Precision Diagnosis and Treatment Center, Wuxi, Jiangsu, China, 214000

**SUMMARY.** The present study investigated oxymatrine for anti-proliferative ability against lung cancer cells *in vitro* and explored related mechanism. Cytotoxicity was assessed by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay and apoptosis using annexin V-FITC staining. The ROS production was monitored using carboxy-H<sub>2</sub>-DCFDA and protein expression by western blotting. Oxymatrine at 16  $\mu$ M reduced H1975 and A549 cell proliferation to 32.76 and 29.38%, respectively. In oxymatrine treated cells caspase-3 activity and apoptosis was significantly ( $p < 0.05$ ) increased compared to control. In oxymatrine treated H1975 and A549 cells a marked promotion in p-p38 and p-JNK1/2 protein level and suppression of p-ERK 1/2 level was observed. Exposure of H1975 and A549 cells to PD169316 (p38 inhibitor) and SP600125 (JNK inhibitor) at 5 mM doses significantly alleviated oxymatrine (16  $\mu$ M) mediated elevation of caspase-3 activity. Production of ROS was much higher in oxymatrine treated H1975 and A549 cells compared to control cells. The oxymatrine mediated ROS production up-regulation was inhibited in H1975 and A549 cells on pre-treatment with NAC. In FeTMPyP-pretreated cells increase in p-p38 and p-JNK expression by oxymatrine (16  $\mu$ M) was completely alleviated. Thus oxymatrine inhibits lung cancer proliferation *in vivo* by oxidative response induced cell apoptosis. The p38/JNK activation was promoted and ERK 1/2 phosphorylation inhibited by oxymatrine in H1975 and A549 cancer cells. Therefore, oxymatrine has anti-proliferative activity against lung cancer cells which needs to be studied using *in vivo* studies.

**RESUMEN.** El presente estudio investigó la capacidad antiproliferativa de la oximatrina contra las células de cáncer de pulmón *in vitro* y exploró el mecanismo relacionado. La citotoxicidad se evaluó mediante el ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5-difeniltetrazolio (MTT) y la apoptosis usando tinción con anexina V-FITC. La producción de ROS se controló usando carboxi-H<sub>2</sub>-DCFDA y expresión de proteínas mediante transferencia Western. La oximatrina a 16  $\mu$ M redujo la proliferación celular de H1975 y A549 a 32,76 y 29,38%, respectivamente. En las células tratadas con oximatrina, la actividad de la caspasa-3 y la apoptosis aumentaron significativamente ( $p < 0.05$ ) en comparación con el control. En las células H1975 y A549 tratadas con oximatrina se observó una marcada promoción en el nivel de proteína p-p38 y p-JNK1/2 y la supresión del nivel de p-ERK 1/2. La exposición de las células H1975 y A549 a PD169316 (inhibidor de p38) y SP600125 (inhibidor de JNK) a dosis de 5 mM alivió significativamente la elevación de la actividad de caspasa-3 mediada por oximatrina (16  $\mu$ M). La producción de ROS fue mucho mayor en las células H1975 y A549 tratadas con oximatrina en comparación con las células control. La regulación positiva de la producción de ROS mediada por oximatrina se inhibió en las células H1975 y A549 en el pretratamiento con NAC. En las células pretratadas con FeTMPyP, el aumento de la expresión de p-p38 y p-JNK por oximatrina (16  $\mu$ M) se alivió por completo. Por lo tanto, la oximatrina inhibe la proliferación del cáncer de pulmón *in vivo* por la apoptosis celular inducida por la respuesta oxidativa. La activación de p38 / JNK fue promovida y la fosforilación de ERK 1/2 inhibida por oximatrina en células cancerosas H1975 y A549. Por lo tanto, la oximatrina tiene actividad antiproliferativa contra las células de cáncer de pulmón que debe estudiarse mediante estudios *in vivo*.

**KEY WORDS:** apoptosis, chemotherapy, oxymatrine, phosphorylation,

# These two authors contribute equally to this work

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: tixinyu@fmmu.edu.cn