

8-Methoxydaphnin from *Hydrangea macrophylla* Induces Apoptosis of Breast Cancer MDA-MB-231 Cells via PI3K/AKT/Bcl-2 Axis

Jing TIAN^{1,*}, Jin ZHOU², Xin ZHAO¹ & Meifeng XIAO²

¹ Department of Pharmacy, Hunan Children's Hospital, Changsha, Hunan 410007, China

² School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

SUMMARY. Breast cancer is a severe killer to women worldwide. To find effective therapy, many phytochemicals from traditional Chinese medicine were explored. Herein, we have identified 8-methoxydaphnin from *Hydrangea macrophylla* and evaluated the inhibitory effects on breast cancer MDA-MB-231 cells. As a result, 8-methoxydaphnin can inhibit MDA-MB-231 cells through induction of apoptosis. Further investigation has revealed 8-methoxydaphnin can activate caspase-3, depolarize mitochondrial membrane potential, and down-regulate Bcl-2 mRNA level as well as up-regulate Bax mRNA level. These results verified the apoptosis induced by 8-methoxydaphnin underwent mitochondria-dependent pathway. Meanwhile, western blot analysis has shown phosphorylated PI3K and AKT in MDA-MB-231 cells can be down-regulated by 8-methoxydaphnin, which indicated PI3K/AKT/Bcl-2 axis was involved in the apoptosis. These results can provide evidences for the discovery of new drugs targeting breast cancer.

RESUMEN. El cáncer de mama es un asesino severo para las mujeres en todo el mundo. Para encontrar una terapia efectiva, se exploraron muchos fitoquímicos de la medicina tradicional china. Aquí, hemos identificado 8-metoxildafnina de *Hydrangea macrophylla* y evaluado los efectos inhibitorios sobre las células MDA-MB-231 de cáncer de mama. Como resultado, la 8-metoxildafnina puede inhibir las células MDA-MB-231 mediante la inducción de apoptosis. Investigaciones posteriores han revelado que la 8-metoxildafnina puede activar la caspasa-3, despolarizar el potencial de la membrana mitocondrial y regular a la baja el nivel de ARNm de Bcl-2, así como aumentar el nivel de ARNm de Bax. Estos resultados verificaron que la apoptosis inducida por la 8-metoxildafnina se sometió a la vía dependiente de las mitocondrias. Mientras tanto, el análisis de transferencia Western ha demostrado que PI3K y AKT fosforilados en células MDA-MB-231 pueden regularse negativamente por 8-metoxildafnina, lo que indica que el eje PI3K/AKT/Bcl-2 estaba involucrado en la apoptosis. Estos resultados pueden proporcionar evidencias para el descubrimiento de nuevos medicamentos dirigidos al cáncer de mama.

KEY WORDS: apoptosis, breast cancer, *Hydrangea macrophylla*, MDA-MB-231 cell, PI3K/AKT/Bcl-2 axis, 8-methoxydaphnin.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: tjcs007@126.com