

N-butylidenephthalide, an Active Compound from *Angelica sinensis*, Exhibits Anticancer Potential Against Breast Cancer via Inducing Apoptosis and Cell Cycle Arrest

Qifeng XU¹, Can WANG¹, Wenmin CAI¹, Sawei LI² & Hongyue CHEN^{1*}

¹ Department of Mammary Gland and Thyroid, Henan Province Hospital of TCM, Zhengzhou City, Henan Province, 450002, China

² Department of Mammary Gland, The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou City, Henan Province, 450002, China

SUMMARY. Breast cancer is the most commonly diagnosed malignancies among women. Treatment options for breast cancer patients are limited to conventional cytotoxic chemotherapy, which is not effective against high-grade malignant tumors. Recently, non-traditional treatments using herbs and dietary supplements have been considered as alternative medicines for cancer therapy. N-butylidenephthalide is a bioactive compound isolated from the chloroform extract of *Angelica sinensis* (Danggui), a type of traditional Chinese medicine (TCM) widely-used in China, and has been reported to exhibit antitumor activity on various types of cancer cells. Its cytotoxic potential against breast cancer is still not explored in detail. Therefore, aim of the present study was to assess the antiproliferative and cytotoxic potential of BP against breast cancer cells. Our results showed strong antiproliferative and cytotoxic potential of N-butylidenephthalide against MCF-7 breast cancer cells in a dose- and time-dependent manner as assessed by MTT, Trypan blue and LDH release assay. A dose-dependent increase in intracellular reactive oxygen species (ROS) level and caspase-3 -8 and -9 activation was also observed in N-butylidenephthalide-treated MCF-7 cells which indicates induction of extrinsic and intrinsic pathway of apoptosis. An increase in Bax and decrease in Bcl2 expression also substantiated induction of apoptosis stimulated by N-butylidenephthalide in MCF-7 cells. Moreover, N-butylidenephthalide also induced G0/G1 arrest in MCF-7 cells which was substantiated by decrease in cyclin D1 and cdk4 expression along with a concomitant increase in the p21 and p27 expression. Thus, our results have shown a strong antiproliferative and apoptotic potential of N-butylidenephthalide against MCF-7 breast cancer cells.

RESUMEN. El cáncer de mama es la neoplasia maligna más comúnmente diagnosticada entre las mujeres. Las opciones de tratamiento para los pacientes con cáncer de mama se limitan a la quimioterapia citotóxica convencional, que no es eficaz contra los tumores malignos de alto grado. Recientemente, los tratamientos no tradicionales que utilizan hierbas y suplementos dietéticos se han considerado medicamentos alternativos para la terapia del cáncer. La N-butilideneftalida es un compuesto bioactivo aislado del extracto de cloroformo de *Angelica sinensis* (Danggui), un tipo de medicina tradicional china (MTC) ampliamente utilizada en China, y se ha informado que exhibe actividad antitumoral en varios tipos de células cancerosas. Su potencial citotóxico contra el cáncer de mama aún no se ha explorado en detalle. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el potencial antiproliferativo y citotóxico de BP contra las células de cáncer de mama. Nuestros resultados mostraron un fuerte potencial antiproliferativo y citotóxico de la N-butilideneftalida contra las células de cáncer de mama MCF-7 de una manera dependiente de la dosis y del tiempo, según lo evaluado por MTT, azul de tripán y ensayo de liberación de LDH. También se observó un aumento dependiente de la dosis en el nivel de especies reactivas de oxígeno intracelular (ROS) y la activación de caspasa-3-8 y -9 en células MCF-7 tratadas con N-butilideneftalida, lo que indica la inducción de la vía extrínseca e intrínseca de la apoptosis. Un aumento de Bax y una disminución de la expresión de Bcl2 también justificaron la inducción de apoptosis estimulada por N-butilideneftalida en células MCF-7. Además, la N-butilideneftalida también indujo la detención de G0/G1 en las células MCF-7, lo que se confirmó por la disminución de la expresión de ciclina D1 y cdk4 junto con un aumento concomitante de la expresión de p21 y p27. Por tanto, nuestros resultados han demostrado un fuerte potencial antiproliferativo y apoptótico de la N-butilideneftalida contra las células de cáncer de mama MCF-7.

KEY WORDS: *Angelica sinensis*, apoptosis, breast cancer, cell cycle arrest, MCF-7, N-butylidenephthalide.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: chenhongyue789@sina.com