

姜黄素联合顺铂对卵巢癌细胞 COC1 的体外抗肿瘤作用

关松磊^{a,c} 胡秀丽^a 刘忠英^{a*} 宋凤瑞^b 刘志强^b

(^a吉林大学药学院 长春 130021; ^b中国科学院长春应用化学研究所, 长春质谱中心 长春;

^c吉林农业大学生命科学学院 长春)

摘要 利用 MTT 比色法研究了姜黄素(Cur)联合顺铂(DDP)对卵巢癌 COC1 细胞的抑制作用。结果表明,当 $\rho(\text{DDP})$ 为 2.5 ~ 10 mg/L, $\rho(\text{Cur}) = 5$ mg/L 时,与 DDP 相比,二者联合用药对卵巢癌 COC1 细胞可产生协同抑制作用; $\rho(\text{Cur}) = 5$ mg/L 就可明显增强 COC1 细胞对顺铂的敏感性,增敏倍数为 2.66 倍;光学显微镜观察发现,药物作用后 COC1 细胞的形态发生了改变,细胞折光度下降,大小不一、形态各异、排列疏松和胞浆空泡化严重。为探讨姜黄素协同顺铂抑制肿瘤的机制,本研究采用高效液相色谱法测定姜黄素辅助用药前后细胞内 DDP 含量的变化。结果表明,在加入姜黄素前后,COC1 细胞内顺铂含量虽然略有下降,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。由此可见,姜黄素与顺铂联合用药对卵巢癌 COC1 细胞增殖具有协同抑制作用,且姜黄素可同时增加 COC1 细胞对顺铂的敏感性,但姜黄素可能并未明显改变顺铂在细胞内的含量,即姜黄素可能不是通过影响顺铂进入细胞的通路而起协同抑制作用的。

关键词 姜黄素,顺铂,抑制作用,MTT 比色法,高效液相色谱法

中图分类号:O629; R737.3

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2011)09-1022-06

DOI:10.3724/SP.J.1095.2011.00588

顺铂(*cis*-Diamminedichloroplatinum, DDP)是目前临床上治疗卵巢癌的一线化疗药物,虽然其具有较大的毒副作用——肾毒性、耳毒性、神经毒性和骨髓毒性^[1],但由于以下几点原因使顺铂目前仍然是临床上广泛使用的抗卵巢癌一线用药:1)顺铂是传统抗肿瘤药物,其抗肿瘤效果确切;2)卵巢癌的多种病理类型对顺铂的药物作用较敏感;3)新的铂类抗肿瘤药物虽然毒副作用略低于顺铂,但价格昂贵,且药效亦不能够完全替代顺铂;4)毒性谱与其它抗癌药物有不同之处,因此易与其它抗癌药物配伍,包括与其它铂类抗癌药物配伍;5)与其它抗癌药物缺乏交叉耐药性,有利于临床的联合用药;6)顺铂价格低廉,易被广大肿瘤患者接受。基于以上几点原因,临床医生仍将顺铂作为一线用药。多年来研究人员一直在开发顺铂的替代药物或是寻找某种药物与顺铂合用减低其毒性,并有了一定进展^[2],但寻找的辅助药物多数价格昂贵、原料稀有,无法推广应用^[3]。姜黄素(curcumin, Cur)是从姜科、天南星科中的一些植物的根茎中提取的一种化学成分,其中姜黄约含 3% ~ 6%,是植物界很稀少的具有二酮的色素,为二酮类化合物,无毒副作用,可以作为食品添加剂应用,具抗肿瘤、抗氧化、抗病毒、抗菌、抗动脉粥样硬化和调节免疫等多种作用^[4],自从 1985 年印度 Kuttan 首次提出姜黄和姜黄素具有抗肿瘤特性以来,众多细胞实验和动物实验确证了 Cur 的抑瘤活性,其抗癌谱较广,不良反应小,已成为肿瘤预防和治疗的一个研究热点,但关于姜黄素的作用机制的研究还缺乏系统性和完整性。多项研究表明,姜黄素通过影响凋亡相关基因表达、阻遏细胞周期、抑制信号转导和抑制相关酶的活性等多种分子水平机制发挥作用^[5]。主要的研究集中于 NF-KB (P56) 信号通路蛋白^[6]和 p53 依赖性途径^[7],这些途径均是在分子水平的研究,而目前尚缺乏姜黄素在细胞水平上作用的研究证据。该研究主要探讨姜黄素联合顺铂对卵巢癌 COC1 细胞的体外抑制作用及其细胞水平的作用机制。

2010-10-06 收稿,2011-03-22 修回

国家自然科学基金(20675079)资助项目

通讯联系人:刘忠英,教授; Tel/Fax:0431-85262236; E-mail:liuzy@jlu.edu.cn; 研究方向:药物分析

1 实验部分

1.1 试剂、仪器和材料

LM₁₂-004 型倒置光学显微镜(重庆光学机械厂);GENios 型酶标仪(澳大利亚 TECAN 公司);2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),检测条件:色谱柱 C₁₈柱(Diamond 150 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(体积比为 70:30),柱温为(35 ± 1) °C,进样体积 10 μL,流速 0.6 mL/min,波长 210 nm;Centrifuge5810R 型冷冻超速离心机(德国 Eppendorff 公司);KQ-500DE 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

人卵巢癌细胞 COC1 购于武汉中国典型培养物保藏中心;RPMI-1640 培养基(美国 GIBCO 公司);标准胎牛血清(中国医学科学院生物工程研究所);噻唑蓝(北京鼎国生物科技公司);姜黄素(天津市科密欧化学试剂开发中心,临用时用 95% 乙醇溶解,再用 0.9% 生理盐水稀释至所需浓度);顺铂(山东齐鲁制药厂,纯度 >99%)。色谱级甲醇(美国 Fisher 公司)。

1.2 MTT 比色法检测细胞活性

按常规悬浮细胞培养法接种于含体积分数为 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养液中,100IU 青霉素;100 mg/L 链霉素。在 37 °C、含体积分数为 5% CO₂ 的条件下培养,取对数生长期细胞用于实验。COC1 细胞以 5 × 10⁴/mL 密度接种于 U 底 96 孔培养板,加药组加不同浓度药物,对照组加等体积的 0.9% 生理盐水,每组设 6 个复孔,无细胞孔为背景。置 37 °C、5% CO₂、饱和湿度条件下培养 18 h 后加四唑盐(MTT) 20 μL/well,继续培养 4 h,离心(3 500 r/min, 10 min),弃去上清液,加二甲基亚砜(DMSO) 200 μL/well,充分振荡直至沉淀完全溶解,用酶标仪检测 OD₅₁₅,实验重复 3 次。细胞生长抑制率(IR) = (对照组 OD 值 - 实验组 OD 值)/对照组 OD 值,增敏倍数 = 未加增敏剂 IC₅₀/加增敏剂 IC₅₀。

1.3 细胞观察

取 1.2 小节药物处理前后的细胞在倒置光学显微镜观察细胞加药前后的状态,观察内容包括细胞大小、形态、排列、折光度和碎片等情况。

1.4 HPLC 检测细胞内 DDP 含量

COC1 细胞接种于 12 孔细胞培养板,1.5 × 10⁶/well,Cur 终浓度为 0 或 5 mg/L,DDP 终浓度为 5 或 10 mg/L,每组设 3 个复孔。置 37 °C、5% CO₂、饱和湿度条件下培养 2 h,收集细胞,离心弃去上清,用冰冷 0.9% 生理盐水反复清洗 2 次,离心弃上清。细胞破碎采取反复冻融法 + 超声波破碎法:将收集的细胞加蒸馏水 50 μL,置 -20 °C 冷冻 20 min 后取出置室温融化,再置入超声中破碎(超声功率 500 W,频率 40 kHz)10 min,14 000 r/min,4 °C 离心 10 min,取上清液,如此反复 3 次。采用最后得到的上清液检测 DDP 含量。以顺铂对照品进样,对照品浓度是 20 mg/L,体积分别为 5、10、12、15 和 20 μL,以峰面积对样品的含量做标准曲线: $y = 3.16e^{-0.093}x + 5.57e^{+0.005}$, $r = 0.9962$ 。

1.5 数据计算和分析

为了评价药物合用体外细胞抑制是否有协同作用,参照文献[8]中金氏公式判断: $Q = E_{a+b}/(E_a + E_b - E_a \times E_b)$,式中 E_{a+b} 为合并用药抑制率, E_a 和 E_b 分别为 A 药和 B 药的抑制率,式中分子代表“实测合并效应”,分母是“期望合并效应”, Q 为二者之比。 Q 值 0.85 ~ 1.15 为单纯相加,用“+”表示;大于 1.15 ~ 2.00 为增强,用“++”表示;小于 0.85 ~ 0.55 为拮抗,用“-”表示;小于 0.55 为明显拮抗,用“- -”表示。数据统计采用方差分析和 t 检验。显著性检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 Cur 联合 DDP 对 COC1 的协同抑制作用

表 1 为顺铂与姜黄素联合对卵巢癌 COC1 细胞协同抑制作用的数据。从表 1 可以看出,在对 COC1 细胞的增殖抑制率方面,顺铂 + 姜黄素各浓度组与单用顺铂组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。表明姜黄素与顺铂合用具有协同作用。姜黄素的这种辅助抗肿瘤作用已经在许多研究中有所报道^[9-10]。由表 1 可以看出,单用顺铂 ρ (DDP) = 10 mg/L 时,对细胞的增殖抑制率仅为(36.67 ±

3.23)% , 而姜黄素与顺铂合用后, ρ (DDP) 仅为 2.5 mg/L, 对细胞的增殖抑制率就达到了 $(43.87 \pm 3.23)\%$ 。表明姜黄素的使用可减少顺铂的用量, 从而可以间接的降低顺铂的毒副作用。通过金氏公式分析显示, 当 ρ (DDP) = 10 mg/L, ρ (Cur) = 5 mg/L 时, 及 ρ (DDP) = 2.5 mg/L, ρ (Cur) = 10 mg/L 时, 二者合用表现为“单纯相加”的作用; 即此时的细胞增殖抑制率是二者作用的简单加和。而当 ρ (DDP) = 2.5 mg/L, ρ (Cur) = 5 mg/L, 及 ρ (DDP) = 5 mg/L, ρ (Cur) = 5 mg/L 时, 二者合用表现为“增强”的作用, 即此时的细胞增殖抑制率要大于二者的简单加和, 二者产生了相互促进的作用。“单纯相加”和“增强”的效果时, 姜黄素的浓度均为 5 mg/L, 而当姜黄素的浓度增加至 10 mg/L, ρ (DDP) > 2.5 mg/L 时, 二者合用对细胞的抑制率也不再增加, 反而比 ρ (Cur) = 5 mg/L 时下降, 表现为“拮抗”。表明二者合用的协调作用不是呈线性增长的, 而是当姜黄素的浓度增加至一定浓度时会出现平台期, 此时再增加姜黄素的浓度对治疗也没有太明显的作用了。此结果可以为临床合理用药提供依据。

表 1 顺铂与姜黄素联合对卵巢癌 COC1 细胞的协同抑制作用

Table 1 Synergistic effect of Cur combining with DDP on COC1 cell *in vitro* ($n=3$)

ρ / (mg·L ⁻¹)		IR / % ($\bar{x} \pm s$)	Q	Degree of drug combination
DDP	Cur			
2.5	0	5.66 ± 2.32	-	
5	0	17.50 ± 7.83	-	
10	0	36.67 ± 3.23	-	
0	5.0	29.08 ± 5.17	-	
2.5	5.0	43.87 ± 3.23 ^a	1.33	++
5	5.0	48.50 ± 6.15 ^b	1.17	++
10	5.0	57.45 ± 3.15 ^c	1.04	+
0	10	26.30 ± 0.33	-	
2.5	10	50.83 ± 7.81 ^a	0.86	+
5	10	46.67 ± 3.97 ^b	0.73	-
10	10	49.44 ± 6.29 ^c	0.68	-

a. $P < 0.05$ vs ρ (DDP) = 2.5 mg/L group; b. $P < 0.05$ vs ρ (DDP) = 5 mg/L group; c. $P < 0.05$ vs ρ (DDP) = 10 mg/L group.

2.2 姜黄素与顺铂联用对 COC1 的增敏作用

在 COC1 细胞中单独加入 DDP 作用 18 h 后, IC_{50} 为 10.82 mg/L, 然而当在 COC1 中同时加入 DDP 及 5 mg/L Cur, 作用 18 h 后 DDP 的 IC_{50} 为 4.06 mg/L, 增敏倍数为 2.66 倍。此结果表明, Cur 与 DDP 合用时可提高 COC1 对 DDP 的敏感性。关于姜黄素对化疗药物的增敏作用的研究很多, 主要是集中于逆转肿瘤细胞耐药增加敏感性方面。(吕靖等^[14]报道, 姜黄素可以增强卵巢癌耐药细胞株 COC1/DDP 对顺铂敏感性。研究结果表明, 姜黄素不仅对卵巢癌耐药细胞株有增敏作用, 对相应的亲和细胞株也同样有增敏作用。

2.3 细胞形态学观察

图 1 为加药前后细胞形态的变化。倒置显微镜下加药组和空白未加药组细胞状态差异很明显。未

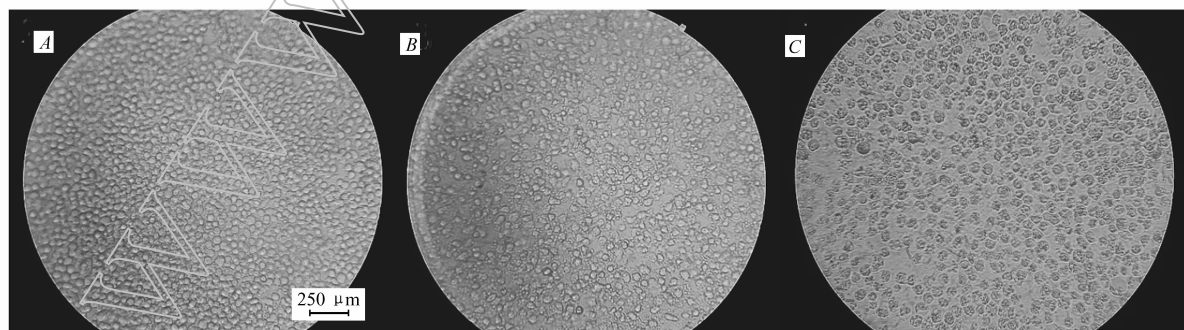


图 1 倒置显微镜下观察细胞状态

Fig. 1 Inverted microscope images of COC1 cell under different conditions

A. control group; B. DDP group; C. DDP + Cur group

加药组(图 1A)细胞生长密集、表面清晰、折光度均一、细胞圆润、饱满、均匀,少见细胞碎片;DDP 加药组(图 1B)细胞大小不一、形状各异、排列疏散、折光度下降和有空泡化出现,视野内可见细胞碎片;DDP + Cur 组(图 1C)细胞胞浆空泡化严重,基本丧失折光性,可见较多细胞碎片,有出胞现象。

2.4 HPLC 测定细胞内顺铂含量

最新的研究^[12]结果表明,顺铂不是通过被动扩动进入细胞的,而是通过细胞膜表面的跨膜配体的识别进行主动转运的。张慧珠等^[13]研究 Cur 的体外增敏抗肿瘤作用,Cur 与长春新碱、阿霉素合用,在 KB 及 KBv200 细胞中均有增敏作用。蓄积实验说明,在 KBv200 细胞,其增敏作用与增加细胞内阿霉素蓄积有关;而在 KB 细胞中的增敏作用与细胞内阿霉素蓄积量无关。图 2 为加入姜黄素前后顺铂含量的色谱图。由图 2 可知,加入姜黄素前后顺铂的峰形态、出峰时间均无明显变化。表 2 为顺铂含量的检测数据,由表 2 可以知道,虽然加入姜黄素后细胞内 DDP 含量有所下降,但无统计学差异($P > 0.05$)。说明姜黄素对顺铂的协同作用可能不是通过改变细胞内顺铂的量起作用的,即姜黄素可能并未影响顺铂进入细胞的通路,所以姜黄素在细胞水平起作用的确切机制还有待进一步深入研究。

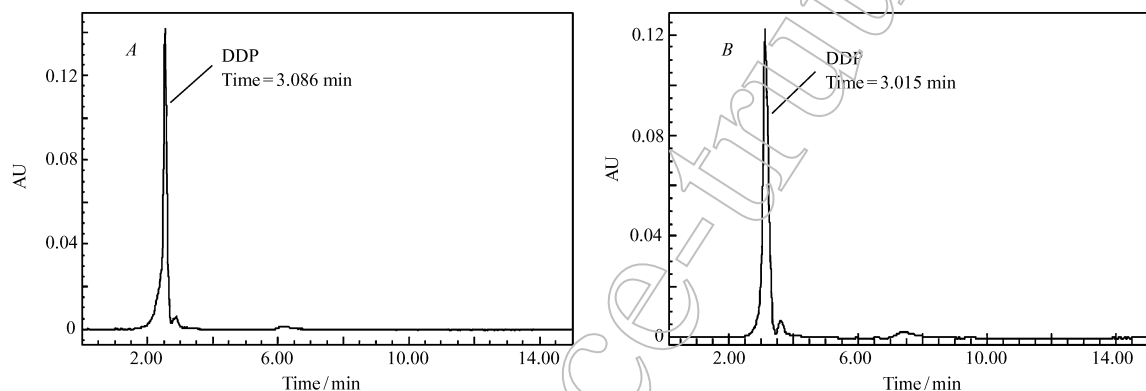


图 2 COC1 细胞内顺铂含量测定的色谱图

Fig. 2 Chromatograph of DDP in COC1

A. chromatograph of DDP(10 mg/L); B. chromatograph of DDP(10 mg/L) + Cur(5 mg/L)

表 2 姜黄素对 COC1 细胞内顺铂含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Content change of DDP within COC1 cells treated by curcumin

Concentration/(mg·L ⁻¹)		DDP	DDP accumulation/ng
Cur			
0		5	6.754 ± 0.745
5		5	4.930 ± 1.053 ^a
0		10	6.122 ± 1.785
5		10	4.076 ± 0.745 ^b

a. $P > 0.05$ vs ρ (DDP) = 5 mg/L group; b. $P > 0.05$ vs ρ (DDP) = 10 mg/L group.

尽管姜黄素抗肿瘤的作用确切,但由于其水溶性低、稳定性差和肠道转化等原因,姜黄素的体内利用率很低,难以达到抗肿瘤的作用,药物的开发很困难。尽管对其口服制剂进行了很多尝试,至今仍未取得显著进展,其主要原因可能与其稳定性差及肠道的生物转化有关,研究发现,姜黄素对 pH 值、温度、湿度、光照均敏感,口服后在肠道可生物转化与葡萄糖苷醛酸和磺酸复合物,但其生物转化产物的比例尚未明确^[14],体内利用率低的问题是姜黄素药物开发和临床应用最大的障碍。解决了姜黄素的水溶性和稳定性问题,就可以开展姜黄素的体内药物研究,也同时为姜黄素下一步的临床应用铺平了道路。为此,国内外学者进行了大量的研究^[15-16],希望找到姜黄素的新型用药模式。新剂型包括纳米结晶固体分散体、纳米粒、脂质体、胶束和纳米乳剂等受到关注,其载药微粒可能通过肠道的淋巴组织吸收,避免肠道代谢提高口服生物利用度^[17-19]。这些研究在提高姜黄素的生物利用率方面均取得了较大的突破。因此,姜黄素的药物开发前景良好。

3 结论

姜黄素与顺铂联用对卵巢癌细胞不仅可表现出明显的协同抑制作用,而且还可增加卵巢癌细胞对化疗药物的敏感性,减少顺铂的使用剂量。虽然姜黄素起作用的系统机制还有待深入研究,但因其本身是一种抗突变剂,即抗癌剂,其抗癌谱较广,无毒副作用,可明显降低由大剂量、长时间化疗产生的严重的毒副作用,因此二者合用可能发展成为一种安全有效的临床用药方案。

参 考 文 献

- [1] JIA Liqun, ZHU Shijie. Tumor Chemotherapy Untoward Effect[M]. Beijing: Technology Literature Press, 2004: 69-71 (in Chinese).
贾立群, 朱世杰. 肿瘤化疗不良反应[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2004: 69-71.
- [2] WANG Xiaoyong, GUO Zijian. New Strategies and Trends for the Design of Metal-Based Anticancer Drug[J]. *Prog Chem*, 2009, **21**(5): 801-802 (in Chinese).
王晓勇, 郭子建. 金属抗癌药物设计的新策略和新趋势[J]. 化学进展, 2009, **21**(5): 801-802.
- [3] Carteni G, Manegold C, Garcia G M, et al. Malignant Peritoneal Mesothelioma-Results from the International Expanded Access Program Using Pemetrexed Alone or in Combination with a Platinum Agent[J]. *Lung Cancer*, 2009, **64**: 211-218.
- [4] SHI Wenrong, LIU Yan. Anti-tumor Function Research Survey of Curcumin[J]. *Chinese J Pharm*, 2004, **39**(3): 164-167 (in Chinese).
施文荣, 刘艳. 姜黄素抗肿瘤作用研究概况[J]. 中国药学杂志, 2004, **39**(3): 164-167.
- [5] Kunnum Akkara A B, Anand P, Aggarwal B B. Curcumin Inhibits Proliferation, Invasion, Angiogenesis and Metastasis of Different Cancers Through Interaction with Multiple Cell Signaling Proteins[J]. *Cancer Lett*, 2008, **269**(2): 199-225.
- [6] Lin Y G, Kunnum Akkara A B, Nair A, et al. Curcumin Inhibits Tumor Growth and Angiogenesis in Ovarian Carcinoma by Targeting the Nuclear Factor- κ B Pathway[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, **13**(11): 3423-3430.
- [7] Choudhuri T P, Aggarwal M L. Curcumin Induces Apoptosis in Human Breast Cancer Cells Through p53-Dependent Bax Induction[J]. *FEBS Lett*, 2002, **512**(123): 334-340.
- [8] DAI Tijun. Quantitative Analysis on Combinate Drug[J]. *Chinese Pharm Bull*, 1998, **14**(5): 479-480 (in Chinese).
戴体俊. 合并用药的定量分析[J]. 中国药理学通报, 1998, **14**(5): 479-480.
- [9] ZHANG Zhenjun, LIU Zheng, WANG Lianggang. Effects of Curcumin on SK Cell Proliferation and Expression of PCNA, P53 mRNA in Ovary Cancer[J]. *Chinese J Difficult Complicated Cases*, 2009, **8**(8): 468-471 (in Chinese).
张振军, 刘铮, 万良刚. 姜黄素对人卵巢癌 SK 细胞增殖活性及 PCNA、P53 mRNA 表达的影响[J]. 疑难病杂志, 2009, **8**(8): 468-471.
- [10] FU Yao, GONG Tao, ZHANG Zhenmi, et al. Anti-tumor on Curcumin Derivate *in vitro*[J]. *West China J Pharm Sci*, 2006, **21**(6): 552-553 (in Chinese).
付垚, 龚涛, 张震溢, 等. 姜黄素衍生物在体外的抗肿瘤研究[J]. 华西药理学杂志, 2006, **21**(6): 552-553.
- [11] LV Jing, YING Huanchun, DAI Jin. Study on Promoting Sensitivity to DDP of Ovarian Cancer COC1/DDP Cell Line Treated by Curcumin[J]. *J Pract Med*, 2009, **25**(8): 1183-1186 (in Chinese).
吕靖, 英焕春, 戴进. 姜黄素增强卵巢癌耐药细胞株 COC1/DDP 对顺铂敏感性的研究[J]. 实用医学杂志, 2009, **25**(8): 1183-1186.
- [12] Stephen B Howell, Roohingiz Safaei. CTR1 as a Determinant of Platinum Drug Transport[J]. *Cancer Drug Discov Dev*, 2009, **2**: 89-94.
- [13] ZHANG Huizhu, YANG Lin, LI Xiaona, et al. Effect of Curcumin on Promoting Sensitivity for Antitumor Drug *in vitro*[J]. *West China J Pharm Sci*, 2003, **18**(3): 172-174 (in Chinese).
张慧珠, 杨林, 李小娜, 等. 姜黄素体外增敏抗肿瘤药物作用[J]. 华西药理学杂志, 2003, **18**(3): 172-174.
- [14] Preetha Anand, Ajaikumar B Kunnumakkara, et al. Bioavail Ability of Curcumin; Problems and Promises[J]. *Mol Pharm*, 2007, **4**(6): 807-818.
- [15] SUN Zhouliang, WANG Kun, LIN Xinhua. Preparation and Characterization of Curcumin Modified with PEG[J]. *Strait Med*, 2007, **20**(12): 7-9 (in Chinese).

孙洲亮,王昆,林新华. 聚乙二醇修饰姜黄素衍生物的制备及表征[J]. 海峡药学,2007,20(12):7-9.

- [16] ZHU Xiuqing, SUN Min, ZHU Fanping, *et al.* Preparation and Characterization of Curcumin in Polybutylcyanoacrylate Nanoparticles[J]. *J Chinese Med Mater*,2010,33(5):797-801 (in Chinese).
- 朱秀清,孙敏,祝凡平,等. 姜黄素聚氰基丙烯酸丁酯纳米粒的制备及理化性质研究[J]. 中药材,2010,33(5):797-801.
- [17] Biji T Kurien, Anil Singh, Hiroyuki Matsumoto, *et al.* Improving the Solubility and Pharm Acological Efficacy of Curcumin by Heat Treatment[J]. *Assay Drug Dev Technol*,2007,5(4):567-576.
- [18] Onoue S, Takahashi H, Kawabata Y, *et al.* Formulation Design and Photochemical Studies on Nano-crystal Solid Dispersion of Curcumin with Improved Oral Bioavailability[J]. *J Pharm Sci*,2010,99(4):1871-1882.
- [19] Mukerjee A, Vishwanatha J K. Formulation, Characterization and Evaluation of Curcumin Loaded PLGA Nanospheres for Cancer Therapy [J]. *Anti Cancer Res*,2009,29(10):3867-3875.

Anti-tumor Effect of Curcumin Combining with *Cis*-Platin on Human Ovarian Cancer Cell Line COC1 *in vitro*

GUAN Songlei^{a,c}, HU Xiuli^a, LIU Zhongying^{a*}, SONG Fengrui^b, LIU Zhiqiang^b

(^a*School of Pharmacy, Jilin University, Changchun 130021;*

^b*Changchun Center of Mass Spectrometry, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun;*

^c*Department of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun)*

Abstract Inhibiting effect of the curcumin (Cur) in combination with *cis*-diamminedichloroplatinum (DDP) on proliferation of COC1 cells was analyzed with MTT colorimetric assay. The morphological changes of COC1 cells were observed by inverted microscope. The result indicated that DDP of 2.5 ~ 10 mg/L dose combined with curcumin (Cur) of 5 mg/L dose could enhance the inhibiting effect and induce apoptosis compared with the case when only DDP was used. Meanwhile, curcumin of 5 mg/L dose could improve the sensitization of COC1 cells to DDP with 2.66 times. Optical microscopy results showed that COC1 cells had a marked decreased proliferation and a great amount of cells necrosis in DDP + Cur group and DDP group than the control group. COC1 cells had lower diopeter, scatter array, serious vacuolization treated with DDP + Cur. The HPLC result indicated that the contents of DDP within tumor cells decreased lightly after dosage of Cur, but it had no statistically significant ($P > 0.05$). In summary, curcumin combine with DDP can enhance the inhibiting effect on proliferation of COC1 cells, meanwhile, curcumin can improve the sensitization of COC1 cells to chemotherapeutics. However, the curcumin is unlikely to affect the amount of DDP within cells.

Keywords curcumin, *cis*-diamminedichloroplatinum, inhibiting effect, MTT, HPLC