

网络出版时间: 2023-01-20 15:36:44 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail//34.1065.R.20230119.1742.015.html>

2-羟基-3-甲基蒽醌诱导结肠癌细胞凋亡机制的研究

陈小燕¹ 吴应强² 朱蓉¹ 赵达¹

摘要 目的 探讨 2-羟基-3-甲基蒽醌(HMA)对结肠癌 HCT116 和 HT-29 细胞生长的抑制的影响及其可能的机制。方法 通过 TCMSP 数据库检索分析 HMA 的作用靶点。体外培养结肠癌细胞 HCT116 和 HT-29,并给予不同浓度的 HMA 干预,通过 CCK-8、台盼蓝计数、集落形成和 Annexin V/PI 双染法检测 HMA 对结肠癌细胞活力、生长、存活能力及凋亡的影响,Western blot 法检测 HMA 对潜在靶点及凋亡调节蛋白表达的影响。结果 TCMSP 检索分析得到 HMA 存在于白花蛇舌草、半枝莲和巴戟天中药,含有 32 个潜在靶点,其中包含凋亡相关基因 Caspase-3。不同浓度的 HMA 干预结肠癌细胞可抑制细胞活力、细胞生长、集落形成数量,同时诱导细胞凋亡。Western blot 结果显示,HMA 可下调抗凋亡基因 Bcl-2,上调促凋亡基因 Bax,促进凋亡相关蛋白 cleaved Caspase-9 和 cleaved Caspase-3 蛋白的活化、剪切,从而促进细胞凋亡。结论 HMA 对大肠癌细胞有抑制生长和诱导凋亡的作用,可能是通过调控 Bcl-2、Bax 和 cleaved Caspase-9 和 cleaved Caspase-3 等相关凋亡蛋白的表达。
关键词 2-羟基-3-甲基蒽醌;大肠癌;细胞凋亡;细胞增殖
中图分类号 R 735.3
文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)02-0259-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.02.015

结肠癌的发病率和死亡率较高、预后差^[1-2],临床治疗以手术、化学为主,但放化疗的毒副作用较强。中医学认为大肠癌以脾肾亏虚为本虚,以热毒、瘀血、湿热为标实^[3],临床上常以清热解毒、活血化瘀、消肿散结等中药用于治疗大肠癌^[4],其副作用较少。前期研究结果证实白花蛇舌草对结肠癌可抑制细胞生长和诱导细胞凋亡^[5-6],但对其内在成分分析和作用机制研究较少。2-羟基-3-甲基蒽醌(2-

hydroxy-3-ethylanthraquinone, HMA) 为白花蛇舌草中提取出的一种蒽醌类化合物,研究表明该化合物对白血病、肝癌、卵巢癌、乳腺癌、肺癌等多种肿瘤具有明显增殖抑制作用及诱导凋亡作用^[7-8],但关于其抗肿瘤的机制,尤其在结肠癌研究较少。因此,该研究通过 TCMSP 等数据库预测 HMA 调控的靶基因,体外细胞实验研究 HMA 对结肠癌细胞株增殖和凋亡的影响并分析及可能的机制,为临床研究提供一定的实验室依据和理论基础。

1 材料与方法

1.1 细胞 人结肠癌细胞株 HCT-116 和 HT-29 购自中国科学院细胞库。

1.2 主要试剂 HMA(上海源叶生物科技有限公司);胎牛血清(FBS)(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);McCoy's 5A 培养基(江苏凯基生物有限公司);青链霉素混合液和磷酸盐缓冲液(美国 HyClone 公司);Caspase-9、Caspase-3、Bax、Bcl-2 一抗,羊抗兔二抗(美国 CST 公司);CCK-8 试剂盒和 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒(武汉 Abbkine 公司);RIPA 裂解液、PMSF、封闭液、ECL 显影剂(北京索莱宝有限公司)。

1.3 主要仪器 CO₂ 培养箱、超净工作台(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);酶标仪(美国 BioTek 公司);Countstar 全自动细胞计数仪(美国 Countstar 公司);流式细胞分析仪(美国 BD 公司);离心机(美国 Eppendorf 公司);电泳系统、凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

1.4 方法

1.4.1 HMA 靶点分析 采用中药系统药理学数据库和分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCM-SP, <https://tcmispw.com/tcmisp.php>)^[6] 研究 HMA 可能的靶点信息。在“Chemical name”下检索关键词“2-hydroxy-3-methylanthraquinone”,得到该化合物的相关信息和可能的靶点信息。

1.4.2 细胞培养 将 HCT116 和 HT-29 细胞分别培养在含有 10% FBS 的 McCoy's 5A 培养基中,

2022-12-10 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81560467);省部共建协同创新中心项目(编号:教科厅函[2020]39号);贵州省科学技术厅资助项目(编号:黔科合 LH 字[2014]7573号)

作者单位:¹ 遵义医科大学附属医院消化病医院,遵义医科大学附属医院消化内科 遵义 563099

² 遵义医科大学附属医院全科医学科 遵义 563099

作者简介:陈小燕,女,副主任医师,责任作者,E-mail: 253447401@qq.com

37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养,细胞贴壁生长至融合80%~90%时,胰酶消化传代。

1.4.3 药物制备 HMA 加入适当 DMSO 震荡混匀配置成终浓度为 200 μmol/L 的母液,超声助溶 30 min,使粉末充分溶解后分装并 -20 ℃ 保存。在细胞加药时用完全培养基稀释成工作浓度,即为 0、25、50、100 μmol/L; 0 μmol/L HMA 溶液为不加 HMA 的纯溶剂(DMSO)溶液。

1.4.4 CCK-8 检测细胞活力 人结肠癌细胞在培养瓶中培养至对数生长期,以 3×10^4 个/ml 接种于 96 孔板,过夜培养后,加入不同浓度(0、25、50、100 μmol/L)的 HMA,干预 48 h 后每孔 10 μl 的 CCK-8 溶液混匀,培养箱避光孵育 2 h,于 450 nm 波长测定吸光度值。计算 HMA 对结肠癌细胞的活力,细胞存活率(%) = (实验组吸光度均值/对照组吸光度均值) × 100%。

1.4.5 台盼蓝染色细胞计数检测细胞生长能力 取对数生长期细胞,以 1×10^5 /ml 细胞接种于 12 孔板,过夜培养后分别加入不同浓度(0、25、50、100 μmol/L)的 HMA 药物干预,培养 48 h 后消化收集细胞,重悬混匀细胞后与 0.2% 台盼蓝等体积混合,加入计数板中,Countstar 全自动细胞计数仪分析细胞总数。

1.4.6 集落形成检测细胞存活能力 取对数生长期细胞,以 2×10^5 /ml 细胞接种于 6 孔板,过夜培养后分别加入不同浓度(0、25、50、100 μmol/L)的 HMA 药物干预,培养 48 h 后消化细胞,以 500 个/孔接种于 12 孔板中,连续培养 8~12 d,每隔 3 d 换 1 次液,待肉眼看到集落时终止实验,结晶紫染色观察细胞集落形成情况,集落形成率(%) = (实验组吸光度均值/对照组吸光度均值) × 100%。

1.4.7 Annexin V/PI 双染法检测细胞凋亡 取对数生长期细胞,过夜培养后加入不同浓度(0、25、50、100 μmol/L)的 HMA 药物干预,48 h 后收集细胞,PBS 洗细胞 2 次,用 $1 \times$ Annexin-binding buffer 重悬细胞,将细胞浓度调整为 1×10^6 个/ml,每 100 μl 细胞悬液加入 5 μl Annexin V-FITC 和 5 μl 碘化丙啶(PI)混匀,室温避光反应 30 min,流式细胞仪上机检测,实验结果采用 ModfitLT version 3.0 软件依据在各个时期的 DNA 含量进行分析,每个样本至少计数 10 000 个细胞。

1.4.8 Western blot 实验检测凋亡相关蛋白的表达 按照上述方式 HMA 干预后收集细胞,PBS 洗涤后加入含 PMSF 裂解液,低温高速离心后吸取上清液

即为所需蛋白。BCA 测定蛋白浓度后加入 50 μg 蛋白量上样电泳,将胶上蛋白转入 PVDF 膜后室温封闭 1 h,加入不同抗体(1:1 000)4 ℃ 过夜孵育。经 TBST 清洗后加入对应二抗(1:5 000)室温孵育 1 h,经 TBST 洗膜后化学发光显影拍照。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 23.0 统计软件进行统计学分析。计量资料符合正态分布的以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组独立样本均数比较采用单因素方差分析检验(One-way ANOVA test),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HMA 基本信息 TCMSP 数据库中检索可得,HMA 的分子式为 C₁₅H₁₀O₃,分子量:238.25,结构式见图 1,主要存在于白花蛇舌草、半枝莲、巴戟天三种植物中,并获得 32 个靶基因,结果如表 1 所示。其中包含 Caspase-3 等凋亡相关基因。

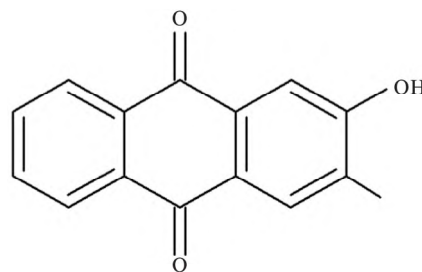


图 1 HMA 化学结构式

2.2 HMA 对结肠癌细胞生长的影响 为了确定 HMA 对细胞增殖的影响,本研究采用细胞计数和 CCK-8 方法检测 HMA 对结肠癌细胞活力的影响。CCK-8 结果显示,与对照组(0 μmol/L)相比,不同浓度的 HMA 对 HCT116(图 2A)和 HT-29(图 2B)细胞活性具有明显的抑制作用,差异有统计学意义($P < 0.05$)。台盼蓝染色计数结果显示,与对照组(0 μmol/L)相比,不同浓度的 HMA 干预 HCT116(图 3A)和 HT-29(图 3B)结肠癌细胞后,细胞数量明显减少,差异有统计学意义($P < 0.05$)。表明 HMA 可抑制 HCT116 和 HT-29 细胞的生长。

2.3 HMA 对结肠癌细胞存活能力的影响 为了进一步验证 HMA 对细胞增殖的影响,采用集落形成探讨 HMA 对 HCT116 和 HT-29 细胞存活能力的影响。实验结果显示,在 HCT116 细胞中(图 4A),与对照组(0 μmol/L)细胞集落形成率相比,25、50、100 μmol/L HMA 干预组细胞集落形成率明显降

表1 HMA 潜在靶基因信息

基因名称	通用名称
Alpha-2B adrenergic receptor	ADRA2B
Beta-2 adrenergic receptor	ADRB2
Caspase-3	CASP3
Muscarinic acetylcholine receptor M1	CHRM1
Muscarinic acetylcholine receptor M2	CHRM2
Muscarinic acetylcholine receptor M3	CHRM3
Muscarinic acetylcholine receptor M4	CHRM4
Muscarinic acetylcholine receptor M5	CHRM5
Neuronal acetylcholine receptor subunit alpha-2	CHRNA2
Neuronal acetylcholine receptor protein, alpha-7 chain	CHRNA7
Dopamine D1 receptor	DRD1
D(2) dopamine receptor	DRD2
Gamma-aminobutyric acid receptor subunit alpha-1	GABRA1
Histamine H1 receptor	HRH1
Heat shock protein HSP 90	HSP90AA1
5-hydroxytryptamine 2A receptor	HTR2A
5-hydroxytryptamine 2C receptor	HTR2C
Ig gamma-1 chain C region	IGHG1
Leukotriene A-4 hydrolase	LTA4H
Amine oxidase [flavin-containing] B	MAOB
Nuclear receptor coactivator 2	NCOA2
Delta-type opioid receptor	OPRD1
Mu-type opioid receptor	OPRM1
CGMP-inhibited 3',5'-cyclic phosphodiesterase A	PDE3A
Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit, gamma isoform	PIK3CA
cAMP-dependent protein kinase inhibitor alpha	PKIA
mRNA of PKA Catalytic Subunit C-alpha	PRKCA
Prostaglandin G/H synthase 1	PTGS1
Prostaglandin G/H synthase 2	PTGS2
Retinoic acid receptor RXR-alpha	RARA
Sodium channel protein type 5 subunit alpha	SCN5A
Sodium-dependent dopamine transporter	SLC6A3

低,差异有统计学意义($F = 38.894, P < 0.05$);在 HT-29 细胞中(图 4B),与对照组($0 \mu\text{mol/L}$)细胞集落形成率相比,25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ HMA 干预组细胞集落形成率亦呈减少趋势,差异有统计学意义($F = 12.886, P < 0.05$),说明 HMA 可抑制结肠癌细胞

的存活能力,进一步证实了 HMA 抑制结肠癌细胞的增殖。

2.4 HMA 对结肠癌细胞凋亡的影响 为了进一步探讨 HMA 对大肠癌细胞凋亡的影响,采用 Annexin V/PI 双染法检测 HMA 对 HCT116 和 HT-29 细胞凋亡情况。实验结果显示(图 5):在 HCT116 细胞中(图 5A),与对照组($0 \mu\text{mol/L}$)细胞凋亡率相比,25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ HMA 干预组细胞凋亡率明显提高,差异有统计学意义($F = 29.122, P < 0.05$);在 HT-29 细胞中(图 5B),与对照组($0 \mu\text{mol/L}$)细胞凋亡率相比,25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ HMA 干预组细胞凋亡率亦有所升高,差异有统计学意义($F = 15.779, P < 0.05$),说明不同浓度的 HMA 可诱导细胞凋亡。

2.5 HMA 对结肠癌细胞凋亡相关蛋白的影响

Western blot 结果显示:与对照组比较,不同浓度的 HMA 干预大肠癌 HCT116(图 6A)和 HT-29(图 6B)细胞后可明显升高活化形式的 cleaved Caspase-9 和 cleaved Caspase-3、Bax 的蛋白表达,同时降低 Bcl-2 的蛋白表达。

3 讨论

结肠癌是我国最常见恶性肿瘤,其发病率和病死率均居消化系统恶性肿瘤第一位,其发生发展是一个涉及多基因、多步骤的癌变过程。结肠癌早期症状不明显,诊断困难,临床确诊时患者已处于中晚期,错失最佳治疗时机。尽管手术治疗仍为结肠癌的首选方案,但对于中晚期结肠癌患者来说,不适宜手术治疗,常以放化疗或临床药物控制,但存在靶点单一、途径单一和不同程度的毒副作用,影响患者的生存质量和预后。

本课题采用台盼蓝染色法、CCK-8法和集落形

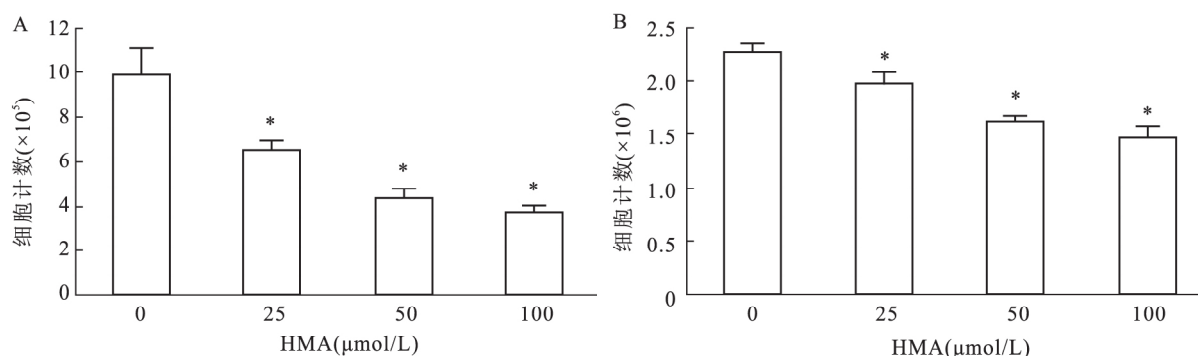


图2 不同浓度 HMA 对 HCT116(A) 和 HT-29(B) 细胞活力的影响

与对照组($0 \mu\text{mol/L}$)比较: * $P < 0.05$

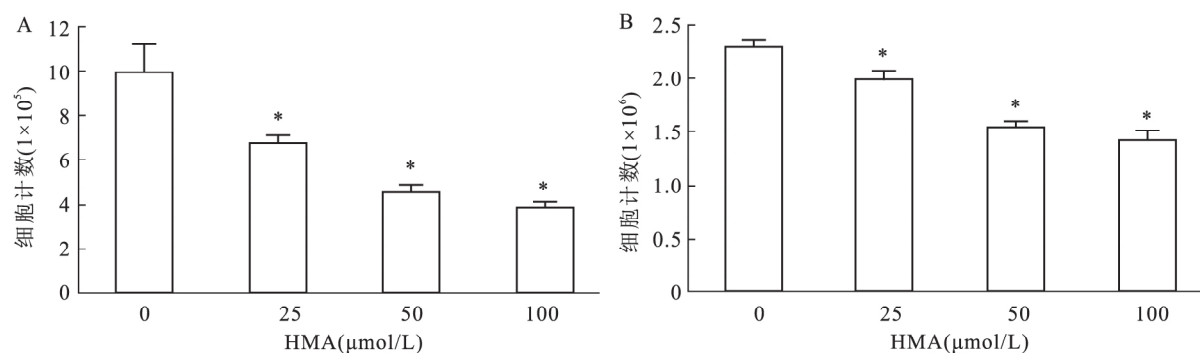


图3 不同浓度 HMA 对 HCT116 (A) 和 HT-29 (B) 细胞数的影响
与对照组 (0 μmol/L) 比较: * $P < 0.05$

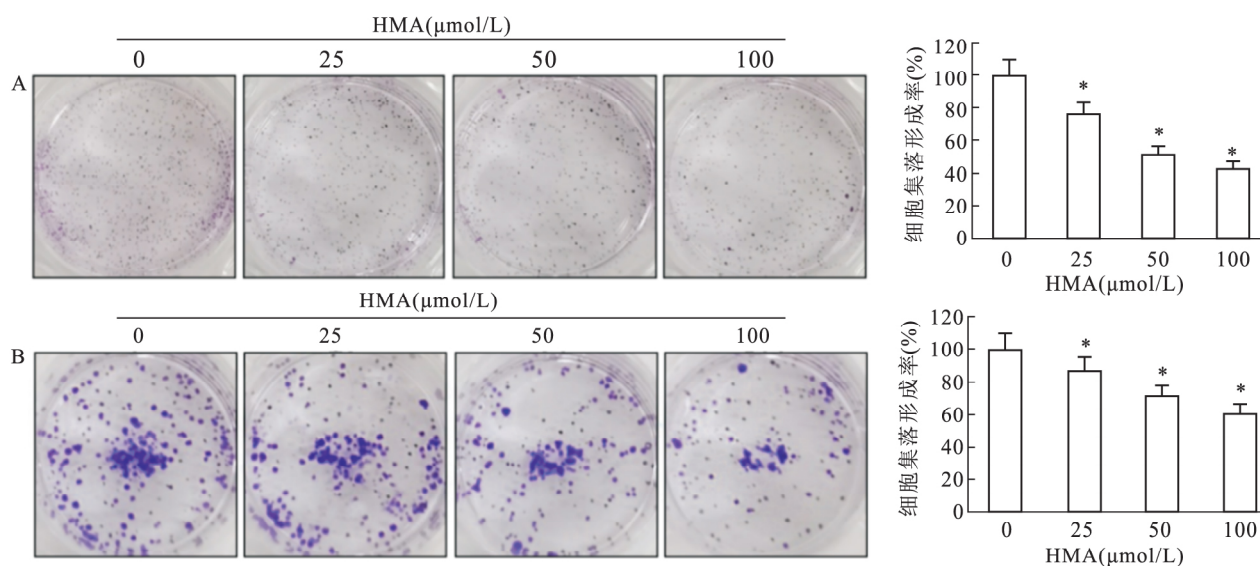


图4 不同浓度 HMA 对 HCT116 (A) 和 HT-29 (B) 细胞集落形成的影响
与对照组 (0 μmol/L) 比较: * $P < 0.05$

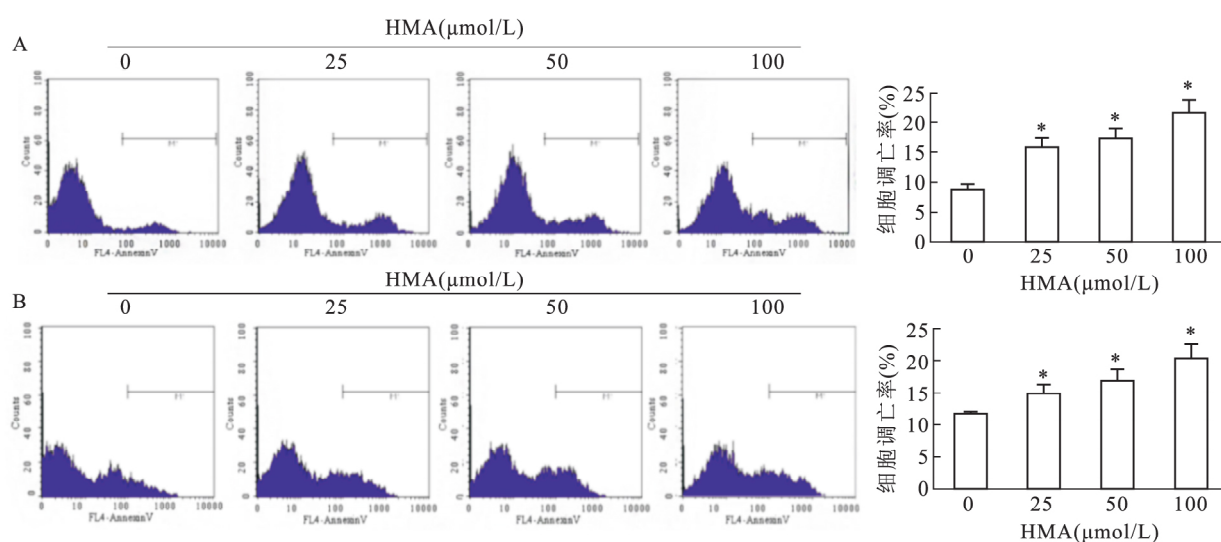


图5 不同浓度 HMA 对 HCT116 (A) 和 HT-29 (B) 细胞凋亡的影响
与对照组 (0 μmol/L) 比较: * $P < 0.05$

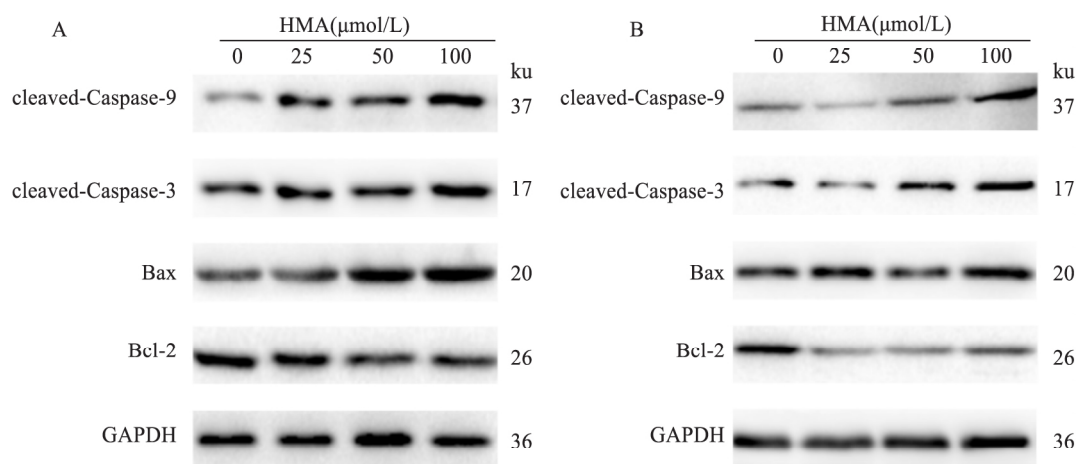


图6 不同浓度 HMA 对 HCT116 (A) 和 HT-29 (B) 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

成实验检测不同浓度 HMA 药物对结肠癌 HCT116 和 HT-29 细胞的生长和存活能力,实验结果表明不同浓度(25、50、100 $\mu\text{mol/L}$)的 HMA 均能明显抑制结肠癌 HCT116 和 HT-29 细胞的生长,且对 HCT116 细胞的抑制效果更显著。白花蛇舌草有名二叶葎、白花十字草、尖刀草,属茜草科耳草属 1 年生披散草本植物。该药最早记载于《广西中药志》,其味苦、甘,性寒,归肺、胃、大肠、小肠经,全草皆可入药,内服外用均可。传统中医药理论认为本品苦寒清泄,甘寒渗利,具有清热解毒、消痛散结、利尿除湿之功效,可用于治疗痈肿疮毒、咽喉肿痛、毒蛇咬伤、热淋涩痛及癌肿等症状。现代药理研究发现,白花蛇舌草具有抗肿瘤、调节免疫、抗感染以及抗氧化等药理活性。近年来,白花蛇舌草在多种人类恶性肿瘤中应用广泛,研究报道白花蛇舌草、半枝莲等清热解毒类中药临床常用于肿瘤、热症等疾病治疗^[9],在体内实验均证实对大肠癌生长、转移等具有明显的抑制作用^[10]。HMA 为一种蒽醌类活性成分,存在于中药白花蛇舌草、半枝莲等中草药。研究^[11]报道表明 HMA 对白血病、卵巢癌、乳腺癌、肺癌、肝癌等多种肿瘤细胞具有明显的增殖抑制作用,但在结肠中抗癌机制较少。本研究结果初步表明,HMA 对结肠癌细胞增殖具有抑制作用。

细胞凋亡是机体常见的正常生理过程,是生物体细胞在特定信号诱导下、凋亡相关基因调控下发生的一种程序性死亡过程,作用机制极为复杂^[12]。细胞凋亡与半胱氨酸蛋白酶(Caspase)的激活有关,对大部分肿瘤都有实际意义。其中 Caspase-9 是位于凋亡级联效应的上游的主要凋亡启动因子,Caspase-3 位于 Caspases 级联反应的下游,被认为是

Caspase 家族成员中最重要的凋亡执行者,激活后可以诱导细胞凋亡^[13]。本研究采用 Annexin V/PI 双染法分析不同浓度的 HMA 对结肠癌 HCT116 和 HT-29 细胞凋亡情况,并通过 WB 法检测 HMA 对凋亡相关蛋白表达的影响。分析结果显示,不同浓度的 HMA 可以诱导结肠癌细胞凋亡,且呈浓度依赖性;同时 HMA 可明显升高活化形式的 cleaved Caspase-9 和 cleaved Caspase-3、Bax 的蛋白表达,同时降低 Bcl-2 的蛋白表达。抗凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 Bax 是细胞增殖和凋亡的重要调控蛋白,两者共同形成一个凋亡调节系统,Bcl-2 通过与 Bax 竞争结合形成异源二聚体从而抑制或促进细胞凋亡^[14]。Caspases 是一个在细胞凋亡中起关键作用的酶家族,又被称凋亡蛋白酶,执行细胞凋亡效应主要是通过凋亡效应因子 Caspase-3 蛋白活化而实现的,同时 Caspase-3 的活化又主要依靠凋亡启动因子 Caspase-9 的激活。Bcl-2 属原癌基因,定位于线粒体膜上,高表达的 Bcl-2 可抑制细胞凋亡。Bax 主要定位于细胞质,当受到凋亡信号刺激时,从细胞质迁移至线粒体外膜,并发生构象变化、寡聚化,介导下游凋亡分子释放,从而引发细胞凋亡。既往研究显示^[15],白花蛇舌草有效成分 HMA 有效抑制人肝癌 HepG2 细胞增殖,上调促凋亡基因 Bax、Caspase-9 mRNA 表达,诱导细胞凋亡。本研究结果说明 HMA 能以剂量依赖性诱导 HCT116 和 HT-29 细胞凋亡,可能是通过下调 Bcl-2 的表达,上调 Bax 表达,并活化 Caspase-9 和 Caspase-3 的表达水平。从而促进结肠癌细胞凋亡。

综上所述,本研究证实 HMA 对结肠癌细胞株 HCT116 和 HT-29 细胞具有抑制生长和诱导凋亡的

作用,可能是通过调控 Bcl-2 和 Bax 等相关凋亡蛋白的表达,但仍存在一定局限性,仍有待进一步采用 RNA 测序等组学技术开展更深入的机制研究。

参考文献

- [1] Orangio G R. The Economics of colon cancer[J]. *Surg Oncol Clin N Am*, 2018, 27(2): 327–47.
- [2] Garrett W S. The gut microbiota and colon cancer[J]. *Science*, 2019, 364(6446): 1133–5.
- [3] 张科,李春耕. 中医药治疗结肠癌基础研究进展[J]. *国际中医中药杂志*, 2020, 42(9): 936–8.
- [4] 赵书艺,尹双双,王蕊,等. 活血化瘀药在抗恶性肿瘤转移中的应用探讨[J]. *天津中医药大学学报*, 2020, 39(2): 231–6.
- [5] 谢冬冰,郭玉婷. 白花蛇舌草提取物多糖和总黄酮对于结肠癌 HT-29 细胞的抑制作用[J]. *中国药物与临床*, 2021, 21(19): 3217–20.
- [6] Lin J M, Li Q Y, Chen H W, et al. Hedyotis diffusa Willd extract suppresses proliferation and induces apoptosis via IL-6-inducible STAT3 pathway inactivation in human colorectal cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(4): 1962–70.
- [7] Gupta R, Bhatt L K, Johnston T P, et al. Colon cancer stem cells: Potential target for the treatment of colorectal cancer[J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(8): 1068–82.
- [8] Lai Z J, Yan Z K, Chen W J, et al. Hedyotis diffusa Willd suppresses metastasis in 5-fluorouracil-resistant colorectal cancer cells by regulating the TGF- β signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(5): 7752–8.
- [9] Li Q Y, Lai Z J, Yan Z K, et al. Hedyotis diffusa Willd inhibits proliferation and induces apoptosis of 5-FU resistant colorectal cancer cells by regulating the PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1): 358–65.
- [10] 万小旭,张行,王佳贺. 白花蛇舌草的有效成分 2-羟基-3-甲基蒽醌通过 Fas/FasL 信号通路诱导卵巢癌细胞凋亡[J]. *实用药物与临床*, 2015, 18(12): 1405–9.
- [11] 孙超,吴铭杰,江泽群,等. 白花蛇舌草有效成分 2-羟基-3-甲基蒽醌通过 IL-6/STAT3 信号通路诱导肝癌细胞凋亡作用机制[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(12): 5346–50.
- [12] Majtnerová P, Roušar T. An overview of apoptosis assays detecting DNA fragmentation[J]. *Mol Biol Rep*, 2018, 45(5): 1469–78.
- [13] Xu W F, Zhang Q, Ding C J, et al. Gasdermin E-derived caspase-3 inhibitors effectively protect mice from acute hepatic failure[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(1): 68–76.
- [14] 吴美珠,陈晓萍,褚剑锋,等. 精制保和颗粒调控 Bcl-2 和 Bax 表达抑制大肠癌细胞移植瘤生长的作用机制研究[J]. *福建中医药*, 2020, 51(2): 36–9.
- [15] 汪增秀,吴卫锋. 白花蛇舌草有效成分对人肝癌细胞生长影响及相关机制[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(21): 4838–41.

Mechanism of 2-hydroxy-3-methylanthraquinone on inducing the apoptosis of colon cancer cells

Chen Xiaoyan¹, Wu Yingqiang², Zhu Rong¹, Zhao Kui¹

(¹Dept of Gastroenterology, Digestive Disease Hospital, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563099; ²Dept of General Medicine, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563099)

Abstract Objective To explore the effects and possible mechanism of 2-hydroxy-3-methylanthraquinone (HMA) on the growth inhibition of colon cancer cells (HCT116, HT-29). **Methods** The target of HMA was searched and analyzed by TCMSP database. The colon cancer HCT116 and HT-29 cells were cultured *in vitro*, and then they were intervened with different concentrations of HMA. The effects of HMA on the viability, growth, survival ability and apoptosis of colon cancer cells were detected by CCK-8, trypan blue count, colony formation and Annexin V/PI double staining respectively. The effects of HMA on potential targets and apoptosis-regulating proteins were detected by Western blot. **Results** TCMSP search analysis showed that there was HMA in *Hedyotis diffusa*, *Scutellaria barbata* and *Morinda officinalis*, which contained 32 potential targets, including apoptosis-related gene Caspase-3. Different concentrations of HMA could inhibit cells viability, growth and number of formed colonies, and induce apoptosis. The results of Western blot showed that HMA could down-regulate anti-apoptosis gene Bcl-2, up-regulate pro-apoptosis gene Bax, and promote the activation and cleavage of apoptosis-related proteins (cleaved Caspase-9, cleaved Caspase-3), thus promoting apoptosis. **Conclusion** HMA can inhibit growth and induce apoptosis of colon cancer cells, which may be related to regulating expressions of Bcl-2, Bax, cleaved Caspase-9, cleaved Caspase-3 and other apoptosis proteins.

Key words 2-hydroxy-3-methylanthraquinone; colon cancer; cell apoptosis; cell proliferation