

文章编号:1001-6880(2017)8-1374-06

岩大戟内酯 A 和岩大戟内酯 B 通过 Akt 信号通路影响 MCF-7 细胞的增殖和凋亡

沈雷^{1,2,3}, 张善强³, 刘雷¹, 吴雨轩³, 刘树民^{2,4*}, 刘吉成^{1*}

¹齐齐哈尔医学院齐齐哈尔医药科学研究所博士后工作站, 齐齐哈尔 161006; ²黑龙江中医药大学中药学博士后流动站, 哈尔滨 150040; ³齐齐哈尔医学院解剖学教研室, 齐齐哈尔 161006; ⁴黑龙江中医药大学基础医学院中药学教研室, 哈尔滨 150040

摘要: 观察岩大戟内酯 A (Jolkinolide A, JA) 和岩大戟内酯 B (Jolkinolide B, JB) 二萜类单体对 MCF-7 乳腺癌细胞的增殖、凋亡影响, 并分析 JA 或 JB 的作用机制。若分别用 40、60、80 μg/mL 浓度的 JA (或 JB) 刺激 MCF-7 细胞, 则为不同浓度的 JA 刺激组或 JB 刺激组, 正常培养的 MCF-7 为对照组。分别用 CCK-8 细胞增殖实验检测 JA 刺激组或 JB 刺激组的细胞增殖 OD 值, Western Blot 实验检测 JA 刺激组或 JB 刺激组 MCF-7 细胞中 Caspase 9 蛋白表达, Annexin V-FITC/PI 双染检测 MCF-7 细胞凋亡, 酶联免疫吸附实验 (ELISA) 检测 JA 刺激组或 JB 刺激组细胞中 Akt、STAT3 蛋白的含量。结果发现, 与 40、60、80 μg/mL 的 JA 刺激组 MCF-7 细胞分别相比, 相应浓度 JB 刺激组的 MCF-7 细胞增殖 OD 值均明显降低, 但是 JB 刺激组 MCF-7 细胞的 Caspase 9 蛋白相对吸光度、凋亡率显著升高; 相对于 40、60、80 μg/mL JA 刺激组, 相应浓度的 JB-刺激组 MCF-7 细胞上清液中的 VEGF 含量分别均降低, 相应浓度 JB 刺激组 MCF-7 细胞的 Akt、STAT3 蛋白表达均降低。实验结果表明: 岩大戟内酯 B 明显地通过抑制 Akt-STAT3 信号通路而抑制 MCF-7 细胞增殖, 促进 MCF-7 凋亡。

关键词: 岩大戟内酯 A; 岩大戟内酯 B; MCF-7 细胞; 细胞增殖; Akt 信号通路

中图分类号:R28

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2017.8.020

Jolkinolide A and Jolkinolide B Affect the Proliferation and Apoptosis of MCF-7 Cells through Akt Signaling Pathway

SHEN Lei^{1,2,3}, ZHANG Shan-qiang³, LIU Lei¹, WU Yu-xuan³, LIU Shu-min^{2,4*}, LIU Ji-cheng^{1*}¹Post-doctoral workstation, Qiqihar Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Qiqihar²Medical College, Qiqihar 161006, China; ³Postdoctor Research Center, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; ⁴Department of anatomy, Qiqihar Medical College, Qiqihar 161006, China;⁴Department of Chinese MateriaMedica, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: To observe the effects of JolkinolideA (JA) and Jolkinolide B (JB) on the proliferation and apoptosis of MCF-7 human breast cancer cells and analyze the mechanism of JA or JB. In this experiment, 40, 60 and 80 μg/mL of JA or JB were used to stimulate MCF-7 cells, respectively. The cells stimulated by the different concentrations of JA or JB were used as the JA groups or JB groups, respectively. The normal cultured MCF-7 cells were used as the control group. CCK-8 assay was used to detect the OD value of cell proliferation in JA groups and JB groups; Western blot experiment was used to detect the expression of Caspase 9 protein in JA groups and JB groups; Annexin V-FITC/PI experiment was used to detect the apoptosis rate of MCF-7 cells in JA and JB groups; Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) experiment was used to detect the contents of Akt and STAT3 protein in JA groups and JB groups. The experimental results found that compared with the JA groups (40, 60 and 80 μg/mL), the OD values of MCF-7 cell proliferation in the JB groups with the corresponding concentrations were significantly decreased, and the relative absorbance values of Caspase 9 protein and the cell apoptosis rates in JB groups were significantly increased; Compared with the JA

groups, the contents of VEGF in the supernatants of JB groups with the corresponding concentrations were decreased, and the expression of Akt and STAT3 protein were also decreased. These results indicated that JB can promote the apoptosis and

收稿日期:2017-03-09 接受日期:2017-05-09

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81573660)

*通信作者 Tel:86-452-2663205; E-mail: qyybljuc@126.com;
huemsmliu@163.com

inhibit the proliferation of MCF-7 cells by inhibiting the Akt-STAT3 signaling pathway.

Key words:Jolkinolide A;Jolkinolide B;MCF-7 cells;cell proliferation;Akt signaling pathway

乳腺癌已经成为威胁女性健康和生命的恶性肿瘤,发病率逐年升高^[1],对于乳腺癌的治疗采取了不同治疗策略,但是,乳腺癌的病死率依然居高不下^[2],如何阻止乳腺癌的发生发展,避免治疗给患者造成各种副反应,成为恶性肿瘤治疗的研究热点^[3]。天然药物对肿瘤疾病具有良好的治疗效果,如果在天然植物中提取抗肿瘤的有效成分,将对乳腺癌的治疗具有重要意义。

世界各地广泛存在的大戟属植物对肿瘤、炎症、结核等具有很好的疗效^[4]。狼毒大戟根部含有二萜类、三萜类、黄酮和挥发油等多种化合物,其中二萜类化合物包括岩大戟内酯 A (Jolkinolide A, JA), 岩大戟内酯 B (Jolkinolide B, JB) 等多种单体^[4]. 在中国和韩国等国家,很早就应用狼毒大戟进行肝癌等恶性肿瘤的治疗^[5]。12-脱氧佛波醇 13-棕榈酸酯 (12-deoxyphorbol 13-palmitate mediated) 对抑制胃癌 BGC823 细胞增殖、阻滞细胞周期具有良好的效果^[5],岩大戟内酯 B 尚能够促进 MDA-MB-231 乳腺癌细胞凋亡^[6]。岩大戟内酯 A 和岩大戟内酯 B 具有相似的化学结构,二者对人 A549 肺癌细胞具有较好的抗细胞增殖,抑制肺癌组织血管新生的效果^[7],但是,岩大戟内酯 A 和岩大戟内酯 B 是否对人乳腺癌细胞也具有抑制效果,这两种二萜类化合物的作用效果有何差别,还鲜见报道。

本实验观察岩大戟内酯 A 和岩大戟内酯 B 刺激的 MCF-7 乳腺癌细胞增殖、凋亡能力的差异,探讨 Akt 信号通路在 MCF-7 细胞中的变化,对筛选有效的抗肿瘤天然药物具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 细胞

MCF-7 人乳腺癌细胞由本博士后工作站保存,所有细胞在实验过程中未出现衰老、死亡等现象。MCF-7 细胞用含胎牛血清 (10%) 的 DMEM 培养基培养。

1.1.2 试剂

岩大戟内酯 A (JA) 和岩大戟内酯 B (JB) 为本博士后工作站从干燥的狼毒大戟根部 (批号:120323) 提取,经波谱学方法鉴定结构,色谱法确定

其纯度为 99.2%^[8]。胎牛血清 (FBS)、DMEM 培养基为美国 Gibco 公司产品,CCK-8 细胞增殖试剂盒购自日本 Dojindo 公司,人 VEGF、Akt、STAT3 酶联免疫吸附试验试剂盒 (ELISA) 均购于美国 R&D 公司,细胞裂解缓冲液是碧云天生物科技公司产品,苯甲基磺酰氟 (PMSF) 购于美国 Sigma 公司。Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒购于南京凯基生物科技发展有限公司。

1.1.3 仪器

Emax 酶标仪是美国 Molecular Devices 公司产品。FACSAria II 流式细胞仪是美国 BD 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和分组

若用 40、60、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 JA (或 JB) 刺激 MCF-7 细胞,则为相应浓度 JA (或 JB) 刺激的 MCF-7 细胞刺激组 (JA-MCF-7 组, JB-MCF-7 组), 无任何刺激培养的 MCF-7 细胞为对照组。

1.2.2 CCK-8 细胞增殖实验

96 孔细胞培养板每孔中种植 1×10^4 MCF-7 细胞, 37 °C, 5% CO₂ 孵育 12 h 后, 将 MCF-7 细胞用 0.01 mol/L PBS 洗涤 3 次, 按照实验分组, 分别添加 40、60、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 JA (或 JB), 37 °C, 5% CO₂ 培养 12 h 后, 向每个孔中加入 CCK-8 试剂 (10 μL), 37 °C, 5% CO₂ 培养 40 min, Emax 酶标仪于 450 nm 波长测量每组细胞的吸光度值 (OD 值)。

1.2.3 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡实验

每组 MCF-7 细胞 (2×10^5) 重悬于 1.25% Annexin V-FITC 溶液 (200 μL) 中, 室温孵育 15 min, 4 °C, 10000 rpm, 离心 5 min, 然后加入 2% PI 溶液 (200 μL), 在冰上孵育 2 min, 4 °C, 10000 rpm, 离心 5 min 后, 0.01 mol/L PBS (400 μL) 重悬, FACSAria II 流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.2.4 VEGF 的检测

按照实验分组, MCF-7 细胞 (2×10^4) 中分别添加 40、60、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 JA (或 JB), 37 °C, 5% CO₂ 培养 12 h 后, 收集各组细胞的上清液。使用人 VEGF-ELISA 试剂盒检测上清液中 VEGF 含量, 对照组 MCF-7 细胞的上清液作阴性对照。

1.2.5 Akt、STAT3 蛋白的检测

JA 刺激组或 JB 刺激组的 MCF-7 细胞 (5×10^5)

用预冷的 0.01 mol/L PBS 洗涤 3 次后, 添加含 1 mmol/L PMSF 的细胞裂解缓冲液裂解, 4 ℃, 10000 rpm, 离心 5 min, 提取离心上清液。使用人 Akt、STAT3 的 ELISA 试剂盒检测离心上清液中 Akt、STAT3 蛋白含量。对照组 MCF-7 细胞的离心上清液为阴性对照。

1.2.6 统计分析

SPSS 18.0 软件进行统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

2 实验结果

2.1 JA、JB 对 MCF-7 细胞增殖的影响

与 40、60、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的 JA 刺激的 MCF-7 细胞 OD 值分别比较, 相应浓度 JB 刺激的 MCF-7 细胞 OD 值分别降低了 38.79%、51.13%、44.28%, 均具有显著性差异 ($P < 0.01$), 见表 1。与对照组 MCF-7 细胞 OD 值 (2.23 ± 0.10) 分别比较, JA (或

JB) 刺激的 MCF-7 细胞 OD 值均呈现降低趋势, 具有显著性差异 ($P < 0.01$), 见表 1, 结果表明 JA 或 JB 对 MCF-7 细胞增殖具有抑制作用。

表 1 各组 MCF-7 细胞 OD 值 ($n=20$)

Table 1 The OD value in the MCF-7 cells ($n=20$)

组别 Group	JA 或 JB 的浓度 Concentrations of JA or JB		
	40 $\mu\text{g}/\text{mL}$	60 $\mu\text{g}/\text{mL}$	80 $\mu\text{g}/\text{mL}$
JA group	1.64 \pm 0.12 *	0.84 \pm 0.08 *	0.63 \pm 0.07 *
JB group	0.97 \pm 0.18 **	0.62 \pm 0.25 **	0.38 \pm 0.33 **
P	0.0001	0.0013	0.0036

注:与对照组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

2.2 MCF-7 细胞 Caspase 9 蛋白的表达

随着 JA (或 JB) 浓度的升高, MCF-7 细胞中 Caspase 9 蛋白均分别呈现明显高表达趋势, 具有显著性差异 (JA 刺激组: $P < 0.01$; JB 刺激组: $P < 0.01$), 见图 1, 结果表明 JA 或 JB 能够促进 MCF-7 细胞 Caspase 9 蛋白表达。

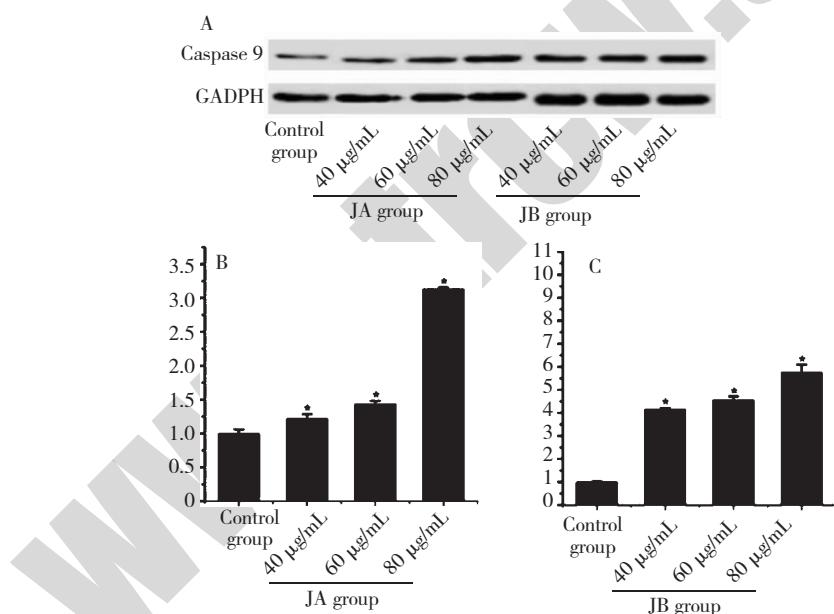


图 1 岩大戟内酯 A 和岩大戟内酯 B 促进 MCF-7 细胞 Caspase 9 蛋白表达

Fig. 1 Jolkinolide A and Jolkinolide B promoted the expression of caspase 9 protein in MCF-7 cells

A: The Western blot image of the expression of caspase 9 protein in MCF-7 cells stimulated by JA or JB, respectively. B: Comparison of the relative absorbance values of Caspase 9 protein in the MCF-7 cells stimulated by JA with different concentrations, * $P < 0.01$, vs control group ($n=12$). C: Comparison of the relative absorbance values of Caspase 9 protein in the MCF-7 cells stimulated by JB with different concentrations, * $P < 0.01$, vs control group ($n=12$).

2.3 流式细胞术检测 MCF-7 细胞凋亡

与对照组相比, JA (或 JB) 刺激的 MCF-7 细胞凋亡率明显升高, 均具有显著性差异 ($P < 0.01$), 见

图 2。相对于 JA 刺激组, JB 刺激组的 MCF-7 细胞凋亡率增高更加明显, 具有显著性差异 ($P < 0.01$), 见图 2。结果表明 JB 能够明显促进 MCF-7 细胞凋亡。

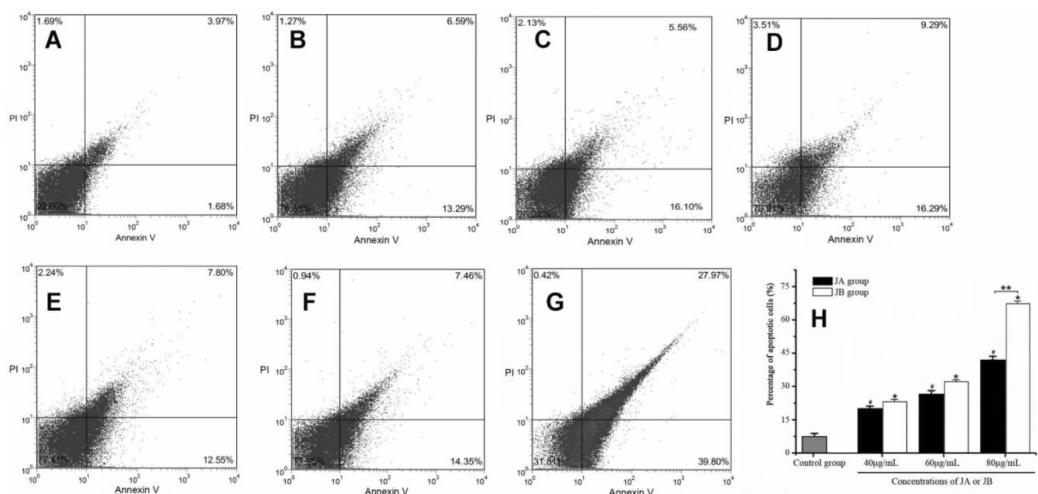


图 2 流式细胞术分析岩大戟内酯 A 和岩大戟内酯 B 对 MCF-7 细胞凋亡的影响

Fig. 2 The flow cytometry was used to detect the effects of Jolkinolide A and Jolkinolide B on the apoptosis of MCF-7 cells

A: Control group; B-D: Apoptosis rate of the MCF-7 cells in JA groups with the concentrations of 40, 60 and 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$; E-G: Apoptosis rates of the MCF-7 cells in JB groups with the concentrations of 40, 60 and 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$; H: comparison of the apoptosis rate in MCF-7 cells under the stimulation of JA or JB with different concentrations, * $P < 0.01$, versus the control group ($n = 24$); # $P < 0.01$, versus the control group ($n = 24$); ** $P < 0.01$, a significant difference between JA and JB at the same concentration ($n = 24$).

2.4 MCF-7 细胞上清液的 VEGF 表达

与对照组 MCF-7 细胞上清液中 VEGF 的含量 ($3.24 \pm 0.41 \text{ pg/mL}$) 分别比较, JA 刺激组或 JB 刺激组 MCF-7 细胞上清液中 VEGF 的含量均降低, 见表 2。与 40、60、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的 JA 刺激组相比, 相应浓度的 JB-刺激组 MCF-7 细胞上清液中的 VEGF 含量分别均降低, 具有显著性差异, 见表 2。

表 2 MCF-7 细胞表达 VEGF 蛋白($\text{pg}/\text{mL}, n=20$)

Table 2 The expression of VEGF protein in the MCF-7 cells ($\text{pg}/\text{mL}, n=20$)

组别 Group	JA 或 JB 的浓度 Concentrations of JA or JB		
	40 $\mu\text{g}/\text{mL}$	60 $\mu\text{g}/\text{mL}$	80 $\mu\text{g}/\text{mL}$
JA group	$2.51 \pm 0.12^*$	$1.63 \pm 0.15^*$	$0.95 \pm 0.23^*$
JB group	$2.13 \pm 0.64^{**}$	$1.47 \pm 0.21^{**}$	$0.42 \pm 0.75^{**}$
P	0.017	0.005	0.007

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

2.5 MCF-7 细胞内 Akt-STAT3 蛋白的表达

分别与对照组细胞离心上清液中 Akt 蛋白含量 ($1.28 \pm 0.08 \text{ pg/mL}$) 比较, JA 刺激组或 JB 刺激组细胞离心上清液中 Akt 蛋白含量均降低, 见表 3。与对照组细胞离心上清液中 STAT3 蛋白含量 ($1.34 \pm 0.01 \text{ pg/mL}$) 分别比较, JA 刺激组或 JB 刺激组细胞上清液中 Akt 蛋白含量均降低, 见表 4。与 40、

表 3 MCF-7 细胞内 Akt 蛋白的表达($\text{pg}/\text{mL}, n=20$)

Table 3 The expression of Akt protein in the MCF-7 cells ($\text{pg}/\text{mL}, n=20$)

组别 Group	JA 或 JB 的浓度 Concentrations of JA or JB		
	40 $\mu\text{g}/\text{mL}$	60 $\mu\text{g}/\text{mL}$	80 $\mu\text{g}/\text{mL}$
JA group	$1.17 \pm 0.10^*$	$0.92 \pm 0.17^*$	$0.55 \pm 0.14^*$
JB group	$1.12 \pm 0.04^{**}$	$0.60 \pm 0.13^{**}$	$0.34 \pm 0.05^{**}$
P	0.022	0.001	0.001

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

60、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的 JA 刺激组相比, 相应浓度 JB 刺激组的 Akt、STAT3 蛋白表达均降低, 见表 3,4。

3 讨论与结论

手术、化学药物、放射线治疗等方法已经应用于乳腺癌的治疗,但是化疗药物或放射线在治疗肿瘤的同时,也会对患者的造血系统、免疫系统等多种组织造成严重的损伤。目前发现,狼毒大戟^[9]、大黄素^[10]等天然中草药提取物具有很好的抗白血病、胃癌、乳腺癌等功能,相对化学合成药物,中草药还具有副作用小等优势,因此日益受到人们关注^[11]。

研究发现,从狼毒大戟根部能够提取出岩大戟内酯 A (Jolkinolide A, JA)、岩大戟内酯 B (Jolkinolide B, JB)、17-羟-岩大戟内酯 B (17-hydroxy-jolkinolide

表 4 MCF-7 细胞内 STAT3 蛋白的表达 (pg/mL, n = 20)

Table 4 The expression of STAT3 protein in the MCF-7 cells (pg/mL, n = 20)

组别 Group	JA 或 JB 的浓度 Concentrations of JA or JB		
	40 μg/mL	60 μg/mL	80 μg/mL
JA group	1.24 ± 0.19 *	0.67 ± 0.18 *	0.48 ± 0.15 *
JB group	0.73 ± 0.17 **	0.21 ± 0.06 **	0.13 ± 0.04 **
P	0.001	0.001	0.001

注:与对照组比较, * P < 0.05; ** P < 0.01。

Note: Compared with the control group, * P < 0.05; ** P < 0.01.

B)、17-羟-岩大戟内酯 A (17-hydroxy-jolkinolide A)、12-脱氧佛波醇-13-棕榈酸酯 (12-deoxyphorbol 13-palmitate) 等多种二萜类化合物^[12,13]。从狼毒大戟提取的 17-羟-岩大戟内酯 B 能够通过抑制 STAT3 蛋白而显著抑制肝癌 HepG2 细胞白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 的表达而促进肿瘤细胞凋亡^[14]。岩大戟内酯 B 通过线粒体释放细胞色素 C 诱导 MDA-MB-231 乳腺癌细胞表达 Caspase-3 蛋白, 并认为, PI3K/Akt 信号通路在岩大戟内酯 B 诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡中发挥了关键作用, 表明岩大戟内酯 B 可能在治疗癌症中具有治疗应用^[15]。12-脱氧佛波醇-13-棕榈酸酯通过阻断 VEGFR-2 的信号传导途径而抑制血管生成^[16], 并发现 12-脱氧佛波醇-13-棕榈酸酯能够促进 BGC823 胃癌细胞 Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白的表达, 诱导肿瘤细胞凋亡^[17], 由此可见二萜类化合物具有很好的抗肿瘤特性^[4]。因此, 分析二萜类化合物的抗肿瘤能力, 对筛选作用效果突出的抗瘤二萜类化合物尤为重要。

我们利用 CCK-8 细胞增殖实验分析岩大戟内酯 A 或岩大戟内酯 B 对 MCF-7 乳腺癌细胞的作用效果。实验发现, 相对于 40、60、80 μg/mL 浓度的 JA 对 MCF-7 细胞增殖的抑制作用, JB 刺激组对抑制 MCF-7 细胞增殖的效果更加明显, 而且这种抑制效果随着 JB 药物浓度的增加而逐渐加强; 并发现, JB 刺激的 MCF-7 细胞中 Caspase 9 蛋白表达明显升高, 这说明, JA(或 JB) 抑制 MCF-7 细胞的活性呈剂量依赖效应, 但是 JB 抑制 MCF-7 细胞的作用明显突出, 这个结果与 JA 或 JB 均能够抑制 A549、MCF-7 细胞生长、降低肿瘤细胞凋亡的研究结果一致^[7,18]。

本实验也发现, JA 或 JB 均会促使 MCF-7 细胞内 Akt-STAT3 蛋白表达降低, 并抑制 MCF-7 细胞分

泌 VEGF 因子。这可能是由于 JA 或 JB 通过抑制 MCF-7 细胞内 Akt 或 STAT3 蛋白, 而控制 Akt 信号通路下游的 VEGF 基因转录, 导致 MCF-7 细胞分泌的 VEGF 等细胞因子降低的缘故^[7,19]。研究发现, JB 可以下调人 U937、K562 白血病细胞内的 JAK2/STAT3 蛋白, 上调细胞内 bcl-2 和 Bax 和细胞色素 C 的表达, 触发 caspase-3、caspase-8 和 caspase-9 的活性而诱导细胞凋亡^[20,21], 17-羟-岩大戟内酯 B 能够强烈的抑制 STAT3 蛋白, 干扰细胞代谢和生长, 促进 HepG2 等肿瘤细胞凋亡^[14]。12-脱氧佛波醇-13-棕榈酸酯也能够明显抑制 Akt 信号通路, 降低 MCF-7 细胞分泌 VEGF 或 HIF-1α^[22], 这与我们的研究结果有些相似, 说明化学结构相似的二萜类化合物作用的抗肿瘤机制可能具有相似性。

以上研究结果表明, 岩大戟内酯 B 明显地通过抑制 Akt-STAT3 信号通路而抑制 MCF-7 细胞增殖, 促进 MCF-7 细胞凋亡, 这与狼毒大戟尚可以通过抑制 PI3K/Akt 信号通路而下调黑色素瘤的生长的研究结果类似^[23]。在接下来的实验中, 课题组会继续探讨 JA 或 JB 抗肿瘤作用的其他机制, 为利用狼毒大戟等中草药抗恶性肿瘤发生发展奠定研究基础。

参考文献

- Sopik V, Nofech-Mozes S, Sun P, et al. The relationship between local recurrence and death in early-stage breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2016, 155:175-185.
- Mazroui Y, Mauguen A, Mathoulin-Pélissier S, et al. Time-varying coefficients in a multivariate frailty model: Application to breast cancer recurrences of several types and death. *Lifetime Data Anal*, 2016, 22:191-215.
- Autier P, Boniol M, Smans M, et al. Observed and predicted risk of breast cancer death in randomized trials on breast cancer screening. *PLoS One*, 2016, 11:e0154113.
- Lin LG, Ung CO, Feng ZL, et al. Naturally occurring diterpenoid dimers: Source, biosynthesis, chemistry and bioactivities. *Planta Med*, 2016, 82:1309-1328.
- Shi Q, Sun YW, Meng D. Phytochemical and cytotoxic studies on the roots of *Euphorbia fischeriana*. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27:266-270.
- Lin Y (林宇), Yue LL (岳丽玲), Jiang LY (蒋丽艳). Effects of Jolkinolide B on proliferation of MDA-MB-231 cells in human breast cancer. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2016, 22:132-136.
- Shen L, Zhang S Q, Liu L, et al. Jolkinolide A and Jolkinolide B inhibit proliferation of A549 cells and activity of human

- umbilical vein endothelial cells. *Med Sci Monitor*, 2017, 23: 223-237.
- 8 Hong B (洪博), Li WJ (李文静), Liu SM (刘树民), et al. HPLC fingerprinting and cluster analysis of diterpenoids-constituents in *Euphorbia fischeriana*. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27: 617-620.
- 9 Ernst M, Grace OM, Saslis-Lagoudakis CH, et al. Global medicinal uses of *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae). *J Ethnopharmacol*, 2015, 176: 90-101.
- 10 Wang Y, Yu H, Zhang J, et al. Anti-tumor effect of emodin on gynecological cancer cells. *Cell Oncol (Dordr)*, 2015, 38: 353-363.
- 11 Ji Q, Luo YQ, Wang WH, et al. Research advances in traditional Chinese medicine syndromes in cancer patients. *J Integrgr Med*, 2016, 14: 12-21.
- 12 King AJ, Brown GD, Gilday AD, et al. Production of bioactive diterpenoids in the euphorbiaceae depends on evolutionarily conserved gene clusters. *Plant Cell*, 2014, 26: 3286-3298.
- 13 Nützmann HW, Huang A, Osbourn A. Plant metabolic clusters-from genetics to genomics. *New Phytol*, 2016, 211: 771-789.
- 14 Wang Y, Ma X, Yan S, et al. 17-hydroxy-jolkinolide B inhibits signal transducers and activators of transcription 3 signaling by covalently cross-linking Janus kinases and induces apoptosis of human cancer cells. *Cancer Res*, 2009, 69: 7302-7310.
- 15 Lin Y, Cui H, Xu H, et al. Jolkinolide B induces apoptosis in MDA-MB-231 cells through inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway. *Oncol Rep*, 2012, 27: 1976-1980.
- 16 Xu HY, Pan YM, Chen ZW, et al. 12-Deoxyphorbol 13-palmitate inhibit VEGF-induced angiogenesis via suppression of VEGFR-2-signaling pathway. *J Ethnopharmacol*, 2013, 146: 724-733.
- 17 Xu HY, Chen ZW, Li H, et al. 12-Deoxyphorbol 13-palmitate mediated cell growth inhibition, G2-M cell cycle arrest and apoptosis in BGC823 cells. *Eur J Pharmacol*, 2013, 700: 13-22.
- 18 Kuang X, Li W, Kanno Y, et al. ent-Atisanediterpenoids from *Euphorbia fischeriana* inhibit mammosphere formation in MCF-7 cells. *J Nat Med*, 2016, 70: 120-126.
- 19 Sarnelli G, D'Alessandro A, Iuvone T, et al. Palmitoylethanolamide Modulates Inflammation-Associated Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Signaling via the Akt/mTOR Pathway in a Selective Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha (PPAR- α) -Dependent Manner. *PLoS One*, 2016, 11: e0156198.
- 20 Wang JH, Zhou YJ, Bai X, et al. Jolkinolide B from *Euphorbia fischeriana* induces apoptosis in human leukemic U937 cells through PI3K/Akt and XIAP pathways. *Mol Cells*, 2011, 32: 451-457.
- 21 Luo H, Wang A. Induction of apoptosis in K562 cells by jolkinolide B. *Can J Physiol Pharmacol*, 2006, 84: 959-965.
- 22 Yang Y, Cong H, Han C, et al. 12-Deoxyphorbol 13-palmitate inhibits the expression of VEGF and HIF-1 α in MCF-7 cells by blocking the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Oncol Rep*, 2015, 34: 1755-1760.
- 23 Dong MH, Zhang Q, Wang YY, et al. Euphorbia fischeriana-Steud inhibits malignant melanoma via modulation of the phosphoinositide-3-kinase/Akt signaling pathway. *Exp Ther Med*, 2016, 11: 1475-1480.

(上接第 1402 页)

- 3 Lung WW, Liang CW, Fu CC. Cytotoxic activities of tanshinone against human carcinoma cell linea. *Am J Chin Med*, 2001, 19: 207-216.
- 4 Yang C (杨琛), Hu H (胡辉). Studies on extraction and purification of salvianolic acid B of *Salvia miltiorrhiza* Bge. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2014, 25: 1127-1128.
- 5 Jiang B, Zhang L, Li M, et al. Salvianolic acids prevent acute doxorubicin cardiotoxicity in mice through suppression of oxidative stress. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46: 1510-1515.
- 6 Su ZR (苏子仁), Liu ZQ (刘中秋), Zhou H (周华). Studies on the chemical composition of tanshinone alcohol extract in concentration and drying process. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1997, 19 (11): 1-3.
- 7 Hou GL (侯桂兰), Wang CN (王春雷). Studies on extraction method of liposoluble effective part of *Salvia miltiorrhiza*. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中华中医药学刊), 2014, 32: 1491-1493.
- 8 Yuan LC (苑立超). Preparation of high purity Salvianolic acid B (一种高纯度丹酚酸 B 的制备方法). CN102472456A, 2014-10-01.
- 9 Zhang XJ (张小娟). Studies on extraction and separation of tanshinone from *Salvia miltiorrhiza* Bunge and derivative synthesis. Zhengzhou: Zhengzhou University (郑州大学), PhD. 2009.
- 10 Li GZ (李国章). Studies on extraction and purification of tanshinone IIA from *salvia miltiorrhiza* Bunge. Hunan: Hunan Agricultural University (湖南农业大学), PhD. 2006.