

# 萜类天然产物抗肝细胞癌作用的研究进展

罗序凯<sup>1</sup>, 袁虎<sup>1</sup>, 李玉柱<sup>1</sup>, 孙青夔<sup>1\*</sup>, 张卫东<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>中国医药工业研究总院中药创新中心, 上海 201203; <sup>2</sup>第二军医大学药学院, 上海 200433

**摘要:**原发性肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 其中 90% 为肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC), 其具有发病隐匿、进展快、预后差、死亡率高等临床特点。目前临床一线治疗药物只有索拉菲尼一种药物, 因此迫切需要研究新型抗 HCC 药物。天然产物是新药研究的重要来源, 而萜类化合物是天然产物中的一大类, 其具有广泛的生物学活性。本文通过查阅文献, 整理总结了近年来天然产物中具有抗 HCC 作用的萜类化合物, 这类天然产物通过不同的作用机制发挥抗 HCC 作用。

**关键词:**天然产物; 肝细胞癌; 萜类; 研究进展

中图分类号: R932

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.S.037

## Review on Terpenoid Natural Products with Anti-hepatocellular Carcinoma Activity

LUO Xu-kai<sup>1</sup>, YUANG Hu<sup>1</sup>, LI Yu-zhu<sup>1</sup>, SUN Qing-yan<sup>2</sup>, ZHANG Wei-dong<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>China State Institute of Pharmaceutical Industry, Traditional Chinese Medicine Research Center, Shanghai, 201203, China;

<sup>2</sup>The Second Military Medical University, College of Pharmacy, Shanghai, 200433, China

**Abstract:** Primary liver cancer is one of the common malignant tumors in China, 90% of which are hepatocellular carcinoma (HCC). HCC has the clinical features of occult, rapid progress, poor prognosis and high mortality. At present, there is only one sorafenib for first-line clinical treatment, so it is urgent to develop new anti-HCC drugs. The natural products are important source in drug development, terpenoids are important components of natural products and have a wide range of biological activities. In this review, we summarize the terpenoids with anti-HCC effect from natural products in recent years. These natural products exert their anti-HCC effect through different mechanisms of action.

**Key words:** natural products; hepatocellular carcinoma; terpenoids; research progress

在全球范围内, 肝癌的发生率持续上升, 在常见的癌症中排第六位, 并且是全球范围内第二个引起癌症相关死亡的原因。中国更是肝癌的高发国家, 我国 2015 年肝癌的发病人数约为 46.61 万, 位于全部癌症的第四位, 肝癌死亡人数约为 42.2 万人, 位于全部癌症的第三位, 发病人数和死亡人数均占到全球的 50% 以上<sup>[1]</sup>。由此可见, 我国的肝癌形势严峻, 并且只有索拉菲尼一种药物是目前临床上用于治疗肝癌的一线药物, 其只能提高患者 3.8 个月的存活时间, 所以急需研究开发新型抗肝癌药物。天然产物一直是新药开发的重要来源之一, 萜类化合物是自然界常见的一大类天然烃类化合物, 其来源广, 化学结构多样, 迄今为止, 发现的萜类超过 5 万多种, 萜类化合物生物学活性广泛, 如抗肿瘤、抗疟、

保肝等作用<sup>[2]</sup>。萜类化合物有很大一部分具有抗肿瘤活性, 有些化合物已经作为临床药物使用, 如二萜紫杉醇 (紫杉醇注射液)、倍半萜  $\beta$ -榄香烯 (榄香烯乳注射液)。除此之外, 三萜化合物齐墩果酸和熊果酸也是目前研究的热门化合物, 在细胞及动物实验均表现出抗肿瘤活性, 其防癌、抗癌作用引起研究重视, 并且它们的 LD<sub>50</sub> 均大于 2000 mg/kg, 有望成为低毒有效的新型抗癌药物<sup>[3,4]</sup>。本文中综述了近年来天然产物中具有抗肝癌作用的萜类化合物, 并按照化学结构类别分类为单萜、倍半萜、二萜和三萜进行介绍。

### 1 萜类

紫苏醇 (1) 即二氢桔草醇, 是从紫苏叶、姜草及薰衣草等植物中分离得到的单萜类天然产物。Ma 等人的研究表明, 紫苏醇可以通过调节 Notch 信号通路和 Notch1 调控的 Snail/E-cadherin 的表达来抑制 HepG2、SMMC-7721 和 MHCC97H 细胞的侵袭和

迁移<sup>[5]</sup>。

## 2 倍半萜类

姜醒等通过体外实验表明,从异型南五味子根茎中分离得到的 balsamiferine B(2)、asterothamnone A(3)和 asterothamnone B(4)三个倍半萜天然产物对人肝癌细胞 SMMC-7721 具有一定的抑制活性, IC<sub>50</sub>分别为 10.6、9.5 和 15.5 μmol/L<sup>[6]</sup>。

从南海珊瑚 *Sarcophyton tortuosum* 的内生菌 *Chondrostereum sp* 中分离得到的 Hirsutanol A(5)能显著提升人肝癌细胞 Hep3B 的 ROS 水平,通过增加 ROS 的产生诱导细胞自噬,从而抑制 Hep3B 细胞增殖,其 IC<sub>50</sub>为 3.59 μmol/L<sup>[7]</sup>。

陈进军等人通过体外和体内实验研究了异土木香内酯(6)对人肝肿瘤细胞增殖的抑制活性,发现异土木香内酯对人肝肿瘤细胞增殖具有剂量依赖性抑制作用,其 IC<sub>50</sub>为 19.41 μmol/L,并且对小鼠移植性肿瘤 H22 具有一定抑制作用。其活性与其具有的 α,β-不饱和五元内酯环的结构有关,若其五元内酯环的环外双键被还原,则会丧失活性;A-B 环的 C5-C10 键断开形成十元环也会丧失活性<sup>[8]</sup>。

莪术醇(7)又名姜黄环奥醇,是从中药莪术中分离得到的倍半萜类化合物,研究表明其对肝癌 HepG2 细胞的增殖具有显著的抑制作用,其机制可能是通过活化抑癌基因 p53 和 pRB1 进而上调 CDK8, p21WAF1 及 p27KIP1 的表达,同时下调 Cyclin A1 的表达、抑制多种 cyclin-CDK 复合物的活性和诱导细胞周期 G1 期阻滞来实现的<sup>[9]</sup>。α-红没药醇(8)也对 HepG2 有明显的细胞毒性,且凋亡作用呈药物时间剂量依赖关系,α-红没药醇对细胞的真实凋亡作用效果可能取决于 p53 和 NF-κB 这两种关键转录因子活性水平的对比和平衡<sup>[10]</sup>。

双氢青蒿素(9)是从青蒿中分离出来的一种半合成衍生物青蒿素,研究表明其具有诱导肝癌细胞凋亡和对 G2/M 期细胞周期阻滞的作用,其可能的机制是诱导 p21 的表达,抑制 cyclin B、Mcl-1 和 CDC25C 的表达,增强 Caspase-3 活性的途径<sup>[11]</sup>。

## 3 二萜类

Pteisolic acid G(10)和冬凌草甲(乙)素分别是植物半边旗和冬凌草分离得到的二萜类天然产物,能使人肝癌细胞 HepG2 (IC<sub>50</sub>为 24.8 μmol/L)阻滞在 G2/M 期,抑制 HepG2 细胞增殖,诱导 HepG2

细胞凋亡,其通过降低 HepG2 细胞内 caspase 3 和 PARP 的表达,增加 active-caspase 3 和 cleaved-PARP 的表达,显著提高 HepG2 细胞中 Bax/Bcl-2 的蛋白比值,发挥其抑制 HepG2 细胞增殖和促进凋亡,这些作用可能是通过升高细胞内 ROS 水平来实现的。冬凌草甲素(11)对 HepG2 细胞的 IC<sub>50</sub>为 24.90 μmol/L,其抗 HepG2 肝癌肿瘤机制可能是通过增加细胞周期相关蛋白磷酸例如 P-ATM、P-ATR、P-P53、P-Cdk1、P-CDC25C 等来激活细胞周期检查点来影响细胞周期进程,从而发挥对肿瘤细胞的抑制作用<sup>[12,13]</sup>。其结构修饰主要在 C1-OH 和 C14-OH 上,Xu 等人通过修饰得到对多种肿瘤细胞的抑制活性强于冬凌草甲素的衍生物,其中将 C1-OH 氧化成羰基并在 C14-OH 上连接苯丙氨酸的衍生物对 BEL-7402 细胞的 IC<sub>50</sub>值达到 1.0 μmol/L<sup>[14]</sup>,而 Wang 等人将 C-6、C-7 位邻二醇通过 NaIO<sub>4</sub> 氧化开环修饰,得到的衍生物均能抑制多种肿瘤细胞增殖,细胞活性最好的化合物的活性优于冬凌草甲素<sup>[15]</sup>。冬凌草甲素 D 环上的 α,β-不饱和酮结构在早期研究中被认为对于抗癌活性至关重要,后证实在 α,β-不饱和酮结构上进行修饰同样可以得到与冬凌草甲素活性相当的衍生物<sup>[16]</sup>。冬凌草乙素(12)具有诱导 HepG2 细胞凋亡的作用,下调 Survivin 和 Bcl-2 以及上调 Bax 的表达可能是重要的诱导凋亡机制<sup>[17]</sup>。

另据报道,姜黄酚 C(13)(curcuminol C)和珊瑚树 vibsanone 二萜类化合物 1(14)也能诱导 HepG2 细胞凋亡,党等研究了姜黄酚 C 对人肝癌 HepG2 细胞的作用及机制,凋亡通路的执行分子 Caspase-3 和 PARP(89KD)的表达量都显著升高,证明这可能是其诱导凋亡的作用机制,而 vibsanone 二萜类化合物 1 能呈时间剂量依赖关系抑制 HepG2 细胞增殖,其 IC<sub>50</sub>为 5.86 ± 1.85 μmol/L,机制研究表明,其可能通过诱导细胞周期阻滞和细胞凋亡发挥抗肿瘤作用,诱导 HepG2 细胞发生明显的细胞周期 G0/G1 期阻滞,并呈剂量依赖关系激活细胞内 Caspase3/7,诱导 HepG2 细胞凋亡。其构效关系分析表明珊瑚树 vibsanone 二萜类化合物 1 在 C14 和 C15 位分别连接-OH,活性均显著减弱,此外 C6 和 C7 位成环氧基团也会减弱活性<sup>[18,19]</sup>。

Pekinonal(15)是从植物京大戟(*Euphorbia pekinensis Rupr*)中分离得到的二萜类天然产物,pekinonal 能呈浓度依赖关系抑制 SMMC-7721 细胞增殖

和诱导 SMMC-7721 细胞凋亡,使 SMMC-7721 细胞 S 期比例增高,说明 pekinenal 抗肝癌的作用可能是

通过抑制癌细胞 DNA 合成,将 SMMC-7721 细胞周期阻滞在 S 期而实现<sup>[20]</sup>。

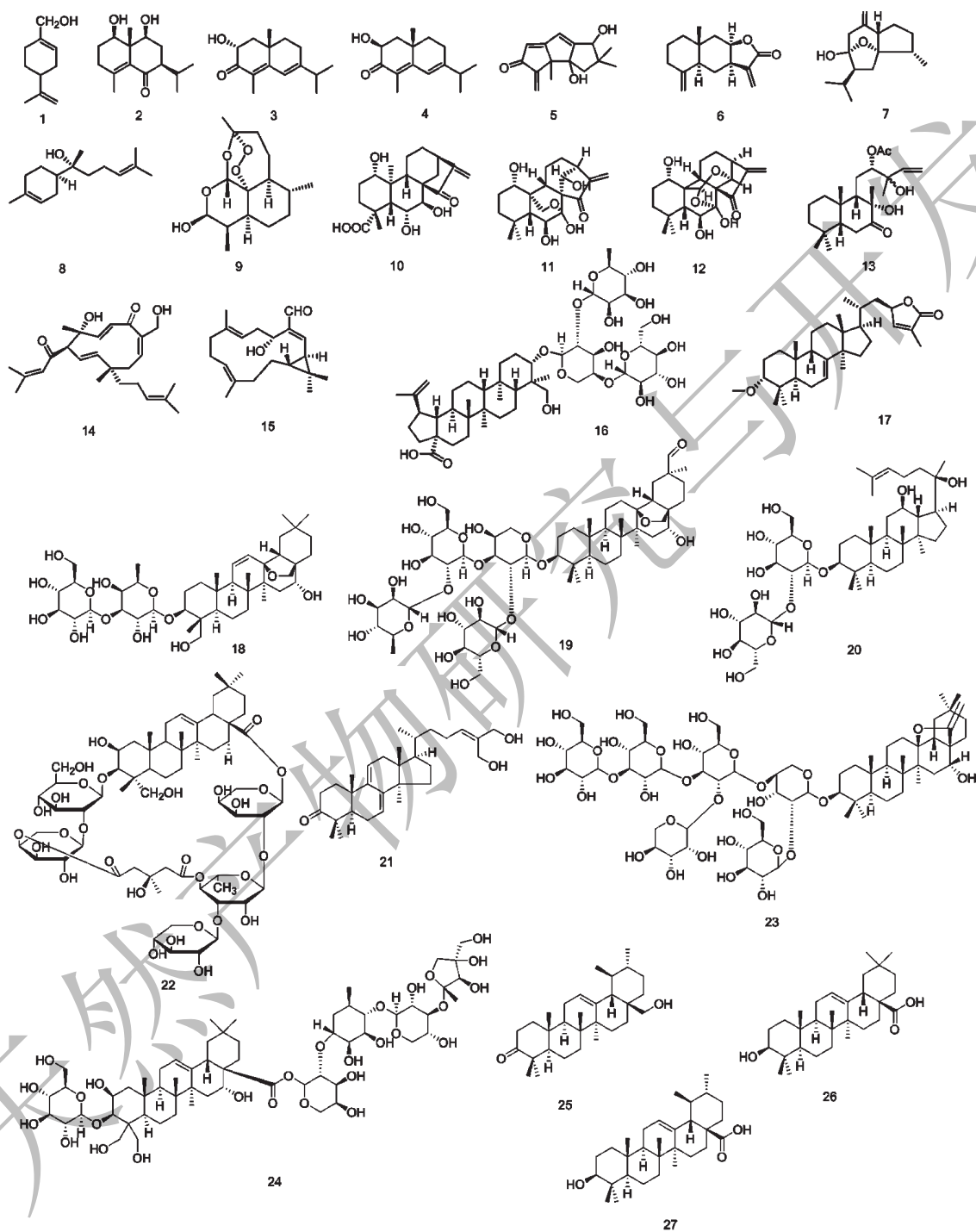


图 1 所有化合物结构

Fig. 1 Structure of all compounds

## 4 三萜类

白头翁皂苷 D(16)是 SB pharmaceutical 公司研

发,用于治疗肝细胞癌、结肠直肠癌和非小细胞肺癌的五环三萜皂苷,目前处于临床二期研究,白头翁皂苷 D 对 BEL-7402 细胞的  $IC_{50}$  为  $4.91 \pm 1.42 \mu\text{g}/$

mL,其可以明显下调 BEL-7402 细胞中 Bcl-2 蛋白的表达,显著上调 BEL-7402 细胞中磷酸化的 Caspase-3 蛋白表达,说明其抗肝癌活性可能是通过线粒体途径诱导细胞凋亡实现的<sup>[21]</sup>。有研究显示白头翁皂苷 D 的构效关系和构毒关系:C28-羧基与细胞毒性密切相关;C28-羧基酯化后,对改善皂苷的溶血性不利;C28-羧基分别与丝氨酸和脯氨酸形成氨基酸酯衍生物对多种肿瘤细胞的活性远远不如母体白头翁皂苷 D,而 C28-羧基与甘氨酸形成氨基酸酯衍生物对 BEL-7402 和 SMMC-7721 两种肝癌细胞活性均强于白头翁皂苷 D<sup>[22]</sup>。

张卫东课题组从冷杉中分离得到的 Abieslactone(17)能通过 caspase 途径诱导肝癌细胞凋亡,通过线粒体途径和 ROS / Akt 途径使 HepG-2 和 SMMC-7721 细胞周期阻滞在 G1 期,其 IC<sub>50</sub> 分别为 9.8 μmol/L、14.3 μmol/L<sup>[23]</sup>。

柴胡皂苷 d(18)同样能通过诱导 G1 期细胞周期阻滞抑制 HepG2 细胞增殖(IC<sub>50</sub> 为 2.63 μmol/L),柴胡皂苷 d 通过诱导 p53 表达,进一步上调 p21/WAF1, Fas/Apo-1、Fas 配体和 Bax 的表达来发挥作用<sup>[24]</sup>。

Lou 等的研究表明九节龙皂苷 I(19)通过下调 MMP-9、MMP-2 和激活 RAC1 从而增强 E-cadherin 的活性的作用来抑制 SMMC-7721 肝癌细胞的增殖、侵袭和转移<sup>[25]</sup>。

人参皂甙 Rg3(20)因其独特的抗肿瘤作用而备受人们关注,研究表明人参皂甙 Rg3 能诱导体外培养的人肝癌 Bel-7402 细胞凋亡,下调抗凋亡的 Bcl-2 蛋白和上调促凋亡的 Bax 蛋白表达,活化 caspase-3 是人参皂甙 Rg3 诱导 Bel-7402 细胞凋亡的可能机制之一<sup>[26]</sup>。从中国传统中药灵芝中分离得到的四环三萜类化合物灵芝醇 F(21)对 HepG2 细胞的 IC<sub>50</sub> 为 17 μmol/L,其能通过激活 ERK 和上调 p16 基因的途径诱导肝癌 HepG2 细胞衰老<sup>[27]</sup>。

土贝母苷甲(22)具有抑制 HepG2 肝癌细胞生长和诱导细胞凋亡的作用,其 IC<sub>50</sub> 为 9.2 μmol/L,下调 Bcl-2 蛋白、升高 Bak 蛋白是其诱导细胞凋亡的重要机制。在细胞凋亡发生之前,土贝母苷甲能引起 HepG2 细胞的 G2/M 期周期阻滞,土贝母苷甲能抑制 TNF-α 和 NF-κB 在 HepG2 细胞中的表达,促进 JNK 分子的磷酸化,而 p53 蛋白的表达也在该过程中受到影响<sup>[28]</sup>。

紫金牛三萜皂苷(23)(TSP02)呈现明显的浓度

和时间依赖关系抑制人肝癌细胞 HepG2 的增殖,TSP02 可以提高促凋亡蛋白 Caspase-8 的表达和活化,所以认为 TSP02 通过调控 Caspase 信号通路达到促使细胞凋亡的目的;另外 TSP02 通过降低 CDK 调控蛋白的表达,来阻止细胞进入 S 期,从而抑制细胞增殖,促使细胞凋亡<sup>[29]</sup>。

常用传统中药桔梗的主要活性成分之一,桔梗皂苷 D(24)呈浓度依赖性抑制 HepG2 细胞的增殖,并显著抑制集落形成和诱导 HepG2 细胞凋亡,其可能的机制是通过上调 Bax 和 Survivin 表达下调<sup>[30]</sup>。长梗秦艽酮(25)通过 Akt 和 ERK1/2 磷酸化激活诱导 S 期细胞周期阻滞从而抑制 BEL-7402 肝癌细胞增殖<sup>[31]</sup>。

齐墩果酸(26)和熊果酸(27),是抗肿瘤研究的热点天然产物,齐墩果酸和熊果酸对人肝癌细胞有显著促凋亡作用,通过提高 DNA 片段化、降低线粒体膜电位、降低 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活性和升高 caspase-3 与 caspase-8 活性来抑制细胞粘附和减少 VEGF、ICAM-1 的生成,熊果酸还能诱导对多柔比星耐药的肝癌细胞凋亡,IC<sub>50</sub> 为 9.75 μg/mL,其通过激活 Bak 和促进凋亡诱导因子的释放<sup>[32,33]</sup>。另有研究表明,熊果酸可以通过活化 P38MAPK 激酶途径,从而增加 Bel-7402 和 HepG2 肝癌细胞中 IGFBP1 和转录因子 FOXO3a 蛋白的表达,并且可以使 Bel-7402、HepG2 细胞停滞于 G0/G1 期,从而抑制肝癌细胞的增殖<sup>[34]</sup>。齐墩果酸和熊果酸的结构修饰主要在 C-3 位、A 环和 C-28 位。Chen 等在齐墩果酸 C-3 位羟基通过琥珀酸基连接苯磺酰基咪唑氧化物和苯基咪唑氧化物得到部分衍生物,其中 C-28 位为游离的羧基对 HepG2 细胞的抑制活性较佳,但琥珀酸与咪唑氧化物之间的碳链长度对活性影响很大,以异丁基连接的衍生物活性最好,而将苯磺酰基咪唑氧化物和苯基咪唑氧化物与齐墩果酸 C-28 位羧基偶联得到的衍生物活性降低甚至丧失,说明 C-3 位的修饰对活性影响很大<sup>[35]</sup>;而对 A 环的结构修饰主要是将 A 环开环,Finlay 等将 A 环开环形成 4,24 位双键,C-3 位为不同取代基的化合物,这些开环化合物对前列腺癌细胞 NRP. 152 的抑制活性强于齐墩果酸,说明齐墩果酸开环后能增加活性,但 C-3 位上的取代基对活性影响也很大,当 C-3 位为 CN, COOH, NH<sub>2</sub> 等取代基时活性显著提高<sup>[36]</sup>。孟等人将熊果酸的 C-3 位羟基改造成羰基、乙酰氧亚氨基,同时 C-28 位引入芳香氨基或含氮杂环形成酰胺得

到衍生物,其抗肿瘤活性均明显高于熊果酸;在 C-2 位引入含氧基团(羟基、醛基)同时 C-28 位羧基成酯或引入芳香氨基,其活性也较熊果酸显著提高;C-28 位羧基成酯同时将 A 环改造成五元环但保留 C-3 位双键或 C-3 位引入烷酰氧基,其活性较熊果酸有所提高。以上结果表明熊果酸 C-3 位羟基以及 C-28 位羧基的改造对提高抗肿瘤活性起到关键作用,合理修饰熊果酸 C-3 位和 C-28 位,对熊果酸抗肿瘤活性有较大影响<sup>[37]</sup>。

## 5 展望

中药作为我国传统药物,临床使用历史悠久,与合成药物相比,天然产物一般副作用较弱、较容易获取且更有益于改善癌症患者的生存质量,中药在抗肿瘤方面有着不容忽视的作用。目前肝癌的治疗不尽如人意。具有抗癌作用的中草药化合物是重要的肝癌新药开发的资源,这些化合物可以作为单一的不加化学修饰的天然产物开发,也可以进一步进行化学修饰使其具有更好的生物活性,或者在中医和药理的指导原则下,与现代药物组合使用。萜类化合物是天然产物中的一大组成部分,而对于萜类天然产物抗 HCC 的研究并不深入,现有的研究表明,萜类天然产物发挥抗 HCC 的作用主要通过抑制细胞增殖、促进细胞凋亡、引起细胞周期阻滞、上调肿瘤抑癌基因及多种信号通路的相互作用等方式实现<sup>[38]</sup>。另外,这些天然萜类化合物还能够通过多种细胞内信号靶向作用于 HCC 的血管生成和肿瘤转移。因此,天然萜类化合物可能为癌症患者提供一个替代或辅助治疗的新选择。但是,还有一些尚未解决的关键问题限制了这类天然产物向临床应用的转化:①许多萜类天然产物的临床应用因水溶性较差和生物利用度较低而严重受限;②萜类天然产物需要足够而充分的体内评价和临床试验数据来说明其潜在毒性和副作用。这些问题有待我们更加深入的研究,相信通过以后的研究能逐步解决上述问题,使得萜类天然产物抗肝癌的作用能在临床上有更好的应用。

### 参考文献

- 1 Chen W, *et al.* Cancer statistics in China. 2015. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66: 115-132.
- 2 Sun LC(孙丽超), *et al.* Research progresses in the synthetic biology of terpenoids. *Biot Bull* (生物技术通报), 2017, 33(1): 64-75.
- 3 Nong CZ(农朝赞), *et al.* The effect on ERK and Cyclin D1 by the ursolic acid of kuding tea that reduces the proliferation of human nasopharyngeal carcinoma cell. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2010, 26: 1678-1679.
- 4 Chang S(昌盛), *et al.* Advances in research on pharmacological activities of oleanolic acid. *Guangzhou Chem Ind* (广州化工), 2011, 39(14): 30-32.
- 5 Ma Y, *et al.* Inhibition of perillyl alcohol on cell invasion and migration depends on the Notch signaling pathway in hepatoma cells. *Mol Cell Biochem*, 2016, 411: 307-315.
- 6 Jiang X(姜醒), *et al.* Sesquiterpenes from *Kadsura heteroclita* rhizome and their cytotoxic activity. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2017(9): 46-50.
- 7 Yang F, *et al.* A novel sesquiterpene Hirsutanol A induces autophagical cell death in human hepatocellular carcinoma cells by increasing reactive oxygen species. *Chin J Cancer*, 2010, 29: 655-660.
- 8 Chen JJ(陈进军), *et al.* Anti-human hepatoma activity of five sesquiterpenoids from *Inula helenium*. *CARCINOGENESIS, Teratogenesis & Mutagenesis* (癌变 畸变 突变), 2010, 22: 440-443.
- 9 Huang LZ(黄岚珍), *et al.* Mechanism study on anti-proliferative effects of curcumol in human hepatocarcinoma HepG2 cells. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2013, 38: 1812-1815.
- 10 Chen W, *et al.*  $\alpha$ -Bisabolol induces dose- and time-dependent apoptosis in HepG2 cells via a Fas- and mitochondrial-related pathway, involves p53 and NF- $\kappa$ B. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80: 247-254.
- 11 Zhang CZ, *et al.* Dihydroartemisinin exhibits antitumor activity toward hepatocellular carcinoma *in vitro* and *in vivo*. *Biochem Pharm*, 2012, 83: 1278-1289.
- 12 Wu X(巫鑫), *et al.* Induction of apoptosis by PAG from *pteris semipinna* in hepatocarcinoma cells through ROS. *Genom Appl Biol* (基因组学与应用生物学), 2016, 35: 1288-1293.
- 13 Wang H, *et al.* Oridonin induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis through MAPK and p53 signaling pathways in HepG2 cells. *Oncol Rep*, 2010, 24: 647-651.
- 14 Xu JY, *et al.* Synthesis and biological evaluation of novel 1-O- and 14-O-derivatives of oridonin as potential anticancer drug candidates. *Bioorg Med Chem Lett*. 2008, 18: 4741-4744.
- 15 Wang L, *et al.* The conversion of oridonin to spiro-lactone-type or enmein-type diterpenoid: Synthesis and biological evaluation of ent-6, 7-seco-oridonin derivatives as novel potential

- anticancer agents. *Eur J Med Chem*, 2012, 52:242-250.
- 16 Yan XB (闫学斌), *et al.* Synthesis of amino-derivatives of oridonin and their antitumor activity. *Zhengzhou Univ, Med Sci*, 2007, 42:39-41.
  - 17 Zhang JF, *et al.* Ponicidin inhibits cell growth on hepatocellular carcinoma cells by induction of apoptosis. *Digest Liver Dis*, 2007, 39:160-166.
  - 18 Dang N (党宁). Study on human hepatocellular carcinoma HepG-2 cell apoptosis inducing effect and its mechanism of diterpenoid curcuminol C from ether extract of Radix Curcumae. *Guide of China Medicine(中国医药指南)*, 2012, 10(4):80-82.
  - 19 Zhang HF (张海芳), *et al.* Study on the effect of vibsane-type diterpenoids of Viburnum Odoratissimum on human HepG2 cell growth and its underlying mechanism. *Chin J Appl Physiol(中国应用生理学杂志)*, 2014, 30:343-347.
  - 20 Chen FY (陈飞燕), *et al.* Effects of diterpenoid pekinenal of *Euphorbia pekinensis* Rupr on proliferation, cell cycle and apoptosis of hepatoma cells. *Chin Pharm Bull (中国药理学通报)*, 2016, 32:519-524.
  - 21 Yue WH (岳文华), *et al.* Antihepatocarcinoma effect *in vitro* of pulchinoside D and mechanisms. *Chin Tradit Herb Drugs(中草药)*. 2014, 45:3295-3301.
  - 22 Wang Z, *et al.* Synthesis, cytotoxicity and haemolytic activity of Pulsatilla saponin A, D derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2015, 25:2550-2554.
  - 23 Wang GW, *et al.* Abieslactone induces cell cycle arrest and apoptosis in human hepatocellular carcinomas through the mitochondrial pathway and the generation of reactive oxygen species. *PLoS One*, 2014, 9(12):e115151/1-e115151/19.
  - 24 Hsu YL, *et al.* Involvement of p53, nuclear factor kappaB and Fas/Fas ligand in induction of apoptosis and cell cycle arrest by saikosaponin d in human hepatoma cell lines. *Cancer Lett*, 2004, 213:213-221.
  - 25 Lou L, *et al.* Ardipusilloside inhibits survival, invasion and metastasis of human hepatocellular carcinoma cells. *Phyto-medicine*, 2012, 19:603-608.
  - 26 Pu LH (朴丽花), *et al.* Effects of Ginsenoside Rg3 on growth and apoptosis of hepatic carcinoma cells lines *in vitro*. *Chin J Clin Pharm(中国临床药理学杂志)*, 2012, 28:659-661.
  - 27 Chang UM, *et al.* Ganoderiol F, a ganoderma triterpene, induces senescence in hepatoma HepG2 cells. *Life Sci*, 2006, 79:1129-1139.
  - 28 Wang Y, *et al.* Natural plant extract tubeimoside I promotes apoptosis-mediated cell death in cultured human hepatoma (HepG2) cells. *Biol Pharm Bull*, 2011, 34:831-838.
  - 29 Zhao CY (赵晨阳), *et al.* Study on inhibitory effect of triterpenoid saponin from *Ardisia japonica* TSP02 on proliferation and metastasis of human hepatocellular carcinoma cells and its mechanism. *Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2013, 38:861-865.
  - 30 T Li, *et al.* Platycodin D induces apoptosis, and inhibits adhesion, migration and invasion in HepG2 hepatocellular carcinoma cells. *Asian Pac J Cancer P*, 2014, 15:1745-1749.
  - 31 Zhang Z (章漳), *et al.* WT inhibit human hepatocellular carcinoma BEL-7402 cells growth by modulating Akt and ERK1/2 phosphorylation. *Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2009, 34:3277-3280.
  - 32 SL Yan, *et al.* Oleanolic acid and ursolic acid induce apoptosis in four human liver cancer cell lines. *Toxicol In Vitro*, 2010, 24:842-848.
  - 33 Yang L, *et al.* Ursolic acid induces doxorubicin-resistant HepG2 cell death via the release of apoptosis-inducing factor. *Cancer Lett*, 2010, 298:128-138.
  - 34 Yang L, *et al.* Inter-regulation of IGFBP1 and FOXO3a unveils novel mechanism in ursolic acid inhibited growth of hepatocellular carcinoma cells. *J Exp Clin Canc Res*, 2016, 35:59/1-59/13.
  - 35 Chen L, *et al.* Design, synthesis, and antihepatocellular carcinoma activity of nitric oxide releasing derivatives of oleanolic acid. *J Med Chem*, 2008, 5:4834-4838.
  - 36 Finlay HT, *et al.* Novel a-ring cleaved analogs of oleanolic and ursolic acids which affect growth regulation in NRP. 152 prostate cells. *Bioorg Med Chem Lett.* 1997, 7:1769-1772.
  - 37 Meng YQ (孟艳秋), *et al.* Synthesis and anti-tumor activity of ursolic acid derivatives. *J Pharm Res(药学研究)*, 2016, 35:514-516.
  - 38 Hu B, *et al.* Preventive and therapeutic effects of Chinese herbal compounds against hepatocellular carcinoma. *Molecules*, 2016, 21:142/1-142/26.