

# 双氢青蒿素联合奥沙利铂对人结肠癌 HCT116 细胞的增殖及凋亡的影响

李 霖,刘丹丹,周峰旭,李凌晨,纳 鑫\*

昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室,昆明 650500

**摘要:**研究双氢青蒿素(DHA)与奥沙利铂(L-OHP)联合对人结肠癌 HCT116 细胞的增殖及凋亡的影响,初步探讨凋亡的作用机制。运用 MTT 法检测不同浓度 DHA、L-OHP 及 DHA 与 L-OHP 联合对 HCT116 细胞的抑制作用,计算 DHA 与 L-OHP 是否发挥协同作用。实验结果显示 DHA 与 L-OHP 均对 HCT116 细胞增殖有抑制作用,二者联合在一定浓度下发挥协同作用。应用 AnnexinV-FITC/PI 双染检测药物联用后细胞凋亡情况,结果显示联合组比 DHA 组和 L-OHP 组凋亡率提高( $P < 0.01$ )。通过检测凋亡相关蛋白 Bcl-2 及 Bax 含量及 caspase-3、caspase-8 活性发现,与单药组比较 DHA、L-OHP 联合组 Bcl-2/Bax 降低,caspase-3、caspase-8 活性提高( $P < 0.01$ )。研究结果表明 DHA 与奥沙利铂联合能够显著抑制结肠癌 HCT116 细胞的增殖,在一定浓度下发挥协同作用,且能诱导细胞凋亡,其机制可能与加重 DNA 损伤,下调 Bcl-2/Bax,激活 caspase-3、caspase-8 有关。

**关键词:**双氢青蒿素;奥沙利铂;联合用药;凋亡;结肠癌

中图分类号:R284;R961

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.12.008

## Effects of Dihydroartemisinin and Oxaliplatin on Proliferation and Apoptosis of Human Colon Cancer HCT116 Cells

LI Ji, LIU Dan-dan, ZHOU Feng-xu, LI Ling-chen, NA Xin\*

School of Pharmaceutica Sciences and Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming 650500, China

**Abstract:** The effects of dihydroartemisinin (DHA) combined with oxaliplatin (L-OHP) on the proliferation and apoptosis of human colon cancer HCT116 cells were studied, and the mechanism of apoptosis was discussed. The effects of DHA, L-OHP and DHA combined with L-OHP in different concentrations on HCT116 cells were detected by MTT. The results showed that DHA and L-OHP inhibited the proliferation of HCT116 cells. Dihydroartemisinin and oxaliplatin played a synergistic effect at a certain concentration. AnnexinV-FITC/PI double staining was used to detect the apoptosis, and the results showed that the apoptosis rate of the combination group was higher than that of DHA group and L-OHP group ( $P < 0.01$ ). In addition, it was found that the apoptosis-related proteins Bcl-2/Bax was decreased and the caspase-3 and caspase-8 activity was increased in the combined group compared with the single drug group ( $P < 0.01$ ). The results showed that the combination of dihydroartemisinin and oxaliplatin could significantly inhibit the proliferation of colon cancer HCT116 cells, exert a synergistic effect at a certain concentration, and induce apoptosis, which may be related to enhance DNA damaged, down-regulation of Bcl-2/Bax and activated caspase-3, caspase-8.

**Key words:** dihydroartemisinin; oxaliplatin; combination therapy; apoptosis; colon cancer

结肠癌的死亡率位居我国恶性肿瘤的第三位,结肠癌治疗采用手术为主,化疗为辅的方法进行治疗。奥沙利铂(Oxaliplatin, L-OHP)是治疗结肠直肠癌的一线药物,已应用多年,但因易产生多药耐药及发

生末梢神经炎而限制了其使用<sup>[1,2]</sup>。青蒿素为我国首次从黄花蒿中提取的一种高效低毒的抗疟药,研究发现青蒿素及衍生物除具有抗疟作用外,还具有抗病毒和抗肿瘤作用。Efferth 等<sup>[3]</sup>对 55 个肿瘤细胞株研究发现结肠癌等肿瘤细胞对青蒿素类化合物敏感,双氢青蒿素(Dihydroartemisinin, DHA)为青蒿素类化合物在体内的主要活性代谢产物,与其他青蒿素类药物相比显示出较强的抗肿瘤活性且毒性较

低<sup>[4,5]</sup>。因此本研究将双氢青蒿素和奥沙利铂联合应用,观察体外两药联合对结肠癌细胞株 HCT116 增殖和凋亡的影响,为双氢青蒿素抗肿瘤的临床应用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与材料

双氢青蒿素(Fluka 公司,美国);奥沙利铂(江苏恒瑞医药股份有限公司,中国);RPMI 1640 培养基(GIBCO 公司,美国);胎生牛血清(GIBCO 公司,美国);二甲基亚砷(Amresco 公司,美国);二甲基四氮唑蓝(Amresco 公司,美国);十二烷基硫酸钠(北京鼎国生物技术有限公司,中国);异丁醇(上海化学试剂公司生产,中国);浓盐酸(成都市欣海兴化工试剂厂,中国);Annexin V-FITC(欣博盛公司,中国);Bax、Bcl-2 抗体(Abcom 公司,英国)。

### 1.2 仪器与设备

酶标仪(Molecular Devices 公司,美国;型号 Plus384);倒置显微镜(OLYMPUS 公司,日本;型号 CKX31);流式细胞仪(Beckman 公司,美国;型号 Coulter FCS500);CO<sub>2</sub> 培养箱(Heraeus 公司,德国;型号 3111. REL#5)

### 1.3 细胞培养

HCT116 细胞(Human colon tumor-116)保存于云南省天然药物药理重点实验室,于 10% 新生牛血清 RPMI1640 培养液中,5% CO<sub>2</sub>,37 °C 孵育培养。

### 1.4 MTT 测定细胞增殖抑制率

取对数期的细胞接种于 96 孔培养板中,每孔含细胞  $8 \times 10^3$  个,培养 12 小时后加入 DHA, L-OHP, 每组样本设 3 个复孔,空白对照组加入等体积的 AS,溶媒对照组 0.5% DMSO。48 小时后,每孔加入 MTT 溶液(5 mg/mL)20  $\mu$ L,于 37 °C 继续孵育 4 h 终止培养,加入三联液 100 mL,过夜后比色,选择 570 nm 和 630 nm 为测定波长,在酶联检测仪双波长法上测定每孔吸光度(OD),记录结果。抑制率 = (1-实验组 OD/空白组 OD)  $\times$  100%。

### 1.5 联合用药药效评价

采用金正均 Q 值法分析两药联合效应,公式  $Q = E_{a+b}/(E_a + E_b - E_a \times E_b)$ ,其中  $E_a$ 、 $E_b$  表示 a、b 两药单独作用时的细胞抑制率, $E_{a+b}$  表示两药联合作用时的细胞抑制率,式中分母表示“期望合并效应”,分子表示“实测合并效应”,Q 值为二者的比值,Q < 0.85 表示两药联用为拮抗作用,0.85  $\leq$  Q  $\leq$

1.15 为相加作用,Q > 1.15 为协同作用。

### 1.6 AnnexinV-FITC/PI 双染检测细胞凋亡

药物作用 48 小时后,用 0.5% 胰酶消化细胞,各组样本细胞用冷 PBS 洗涤二次,并在染色缓冲液中以  $1 \times 10^6$  细胞/ml 的浓度重悬。吸取 100  $\mu$ L 的细胞至试管中,加入适量荧光标记的 Annexin-V 和 PI。按照说明书提示浓度操作,混匀后避光室温下孵育 10 min。孵育后加入 300  $\mu$ L 染色缓冲液,立即上流式细胞仪分析,实验重复 3 次。

### 1.7 caspase-3, caspase-8 活性检测

取对数生长期 HCT116 细胞,用 DHA(10  $\mu$ mol/L), L-OHP(0.02  $\mu$ mol/L), DHA(10  $\mu$ mol/L) + L-OHP(0.02  $\mu$ mol/L) 联合,设定空白对照组,分别诱导 24 h 后,收集细胞。加入 100  $\mu$ L 裂解缓冲液,涡旋振荡。然后置于冰上 15 min,每 5 min 涡旋振荡一次。在 4 °C,500  $\times$  g 下离心 5 min,取上清液。对上清液用考马斯亮蓝法进行蛋白定量。取 10  $\mu$ mol/L(大约含 20 ~ 50  $\mu$ g) 蛋白的上清液,加入 90  $\mu$ L 检测缓冲液和 10  $\mu$ L Ac-DEVD-pNA,在 37 °C 避光反应 1 ~ 2 h,出现黄色时检测其活性。在酶标仪上选择 450 nm 波长测定吸光度。根据凋亡诱导的细胞的吸光度与空白对照细胞的吸光度的比值计算相对的 caspase-3, caspase-8 的活性程度。

### 1.8 Western blot 分析

对数生长期的细胞,按试验要求处理后,收集细胞,PBS 洗涤 3 次,加入细胞裂解液,100  $\mu$ L,14 000 rpm 离心 10 min,蛋白定量,取 40  $\mu$ g 蛋白加入上样缓冲液,95 °C 下 10 min。10% 的聚丙烯酰胺 SDS 凝胶电泳后转移至硝酸纤维素膜上,5% 脱脂牛奶封闭后依次加入第一、二抗体,室温下孵育 2 h, TBST 缓冲液洗涤 3 次,加入化学发光剂,放入暗盒中并压片,2 ~ 5 min 后显影、定影。

### 1.9 单细胞凝胶电泳实验

(1)将处于对数生长期的 HCT116 细胞,接种于六孔板中,接种密度为  $5 \times 10^5$  个/孔。CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 4 h。重悬于冷 PBS 中,并调整细胞浓度为  $5 \times 10^3$  个/mL,置于冰上待用。(2)制备 1% 常温熔点琼脂糖凝胶,将凝胶涂布于载玻片上,涂布厚度约为 0.5 mm,并将制备好的凝胶置于 4 °C 冰箱中冷却凝固。同时制备 1% 低熔点琼脂糖凝胶,最后再在上层涂布一层常温熔点琼脂糖凝胶,形成一个“三明治凝胶”。加入 0.5X TBE 电泳缓冲液,30 V,电泳 15 min。最后置于 Du red 染色液中染色 1 h,置于荧

光显微镜下,采用 CASP 彗星分析软件分析。

### 1.10 统计学分析

实验重复 3 次,实验数据用 SPSS18.0 统计软件进行单因素方差分析,检验水准( $\alpha$ )为 0.05 和 0.01,数据以均数  $\pm$  标准差显示( $\bar{x} \pm SD$ )

## 2 实验结果

### 2.1 DHA 与 L-OHP 联合对 HCT116 人结肠癌细胞增

L-OHP 与 DHA 单独和联合使用对 HCT116 人结肠癌细胞增殖的抑制作用,单独使用 L-OHP 或 DHA 对 HCT116 细胞均具有明显的增殖抑制作用,并具有一定的量效关系。在 DHA10  $\mu\text{mol/L}$  与 L-

OHP 0.01、0.02、0.04、0.08、0.16  $\mu\text{mol/L}$  浓度对 HCT116 人结肠癌细胞进行联合应用,结果显示其抑制率分别达到 49.39%、64.99%、73.48%、75.21%、77.49%,比两药单独使用抑制率显著提高,结果有统计学意义,(\* \*  $P < 0.01$ )(见表 1)。

### 2.2 金正均 Q 值进行联合用药作用分析

DHA 在 10  $\mu\text{mol/L}$  浓度下,L-OHP 在 0.01  $\mu\text{mol/L}$ 、0.02  $\mu\text{mol/L}$ 、0.04  $\mu\text{mol/L}$  浓度下  $Q > 1.15$ ,两药联合应用可表现出明显的协同作用。而 DHA 在 10  $\mu\text{mol/L}$  浓度,L-OHP 在 0.08  $\mu\text{mol/L}$ 、0.16  $\mu\text{mol/L}$  浓度下  $Q$  值在 0.85~1.15 之间,两药联合应用表现出相加作用(见表 1)。

表 1 DHA、L-OHP 及联合用药对 HCT116 细胞的抑制率( $n=3, \bar{x} \pm SD$ )

Table 1 Inhibitory effects of DHA and L-OHP and combination on HCT116 cells( $n=3, \bar{x} \pm SD$ )

DHA ( $\mu\text{mol/L}$ )	L-OHP ( $\mu\text{mol/L}$ )	抑制率 Inhibition rate (% , $\bar{x} \pm SD$ )	Q 值
5	0	13.47 $\pm$ 2.57	-
10	0	21.25 $\pm$ 3.48	-
20	0	42.56 $\pm$ 2.19	-
40	0	51.38 $\pm$ 5.21	-
80	0	65.47 $\pm$ 3.15	-
0	0.01	25.88 $\pm$ 2.98	-
0	0.02	30.08 $\pm$ 4.37	-
0	0.04	38.78 $\pm$ 3.51	-
0	0.08	54.25 $\pm$ 5.54	-
0	0.16	72.92 $\pm$ 3.41	-
10	0.01	49.39 $\pm$ 4.47 * * ##	1.186
10	0.02	64.99 $\pm$ 5.58 * * ##	1.290
10	0.04	73.48 $\pm$ 5.96 * * ##	1.418
10	0.08	75.21 $\pm$ 6.38 * * #	1.175
10	0.16	77.49 $\pm$ 5.45 * * #	0.985

注:与 10  $\mu\text{mol/L}$  DHA 组比较 \*  $P < 0.05$ ; \* \*  $P < 0.01$ 。与同浓度的 L-OHP 组比较, #  $P < 0.05$ ; ##  $P < 0.01$ 。  $Q < 0.85$  表示两药联用为拮抗作用,  $0.85 \leq Q \leq 1.15$  为相加作用,  $Q > 1.15$  为协同作用。

Note: Compared with 10  $\mu\text{mol/L}$  DHA group \*  $P < 0.05$ ; \* \*  $P < 0.01$ . Compared with the same concentration of L-OHP group, #  $P < 0.05$ ; ##  $P < 0.01$ .  $Q < 0.85$  indicates that the two drugs are combined for antagonism,  $0.85 \leq Q \leq 1.15$  for additive effect, and  $Q > 1.15$  for synergistic effect.

### 2.3 DHA 与 L-OHP 联合应用对 HCT116 细胞凋亡的影响

DHA 与 L-OHP 单独和联合作用于结肠癌细胞 HCT116 48 小时后,对照组凋亡率为 3.91%; DHA 组在 10  $\mu\text{mol/L}$  浓度下调亡率为 19.14%; L-OHP 组在 0.02  $\mu\text{mol/L}$  浓度下调亡率为 27.31%; 两药联合组凋亡率为 35.52% 比 DHA 组和 L-OHP 组均较高,(\* \*  $P < 0.01$ )(见图 1)。

### 2.4 Western-blot 检测 Bcl-2 及 Bax 蛋白

Western-blot 检测 Bcl-2 及 Bax 蛋白,结果显示,

DHA 组、L-OHP 组以及 DHA、L-OHP 联合组作用 HCT116 细胞 24 h 后,检测 Bcl-2/Bax 蛋白变化, DHA、L-OHP 联合组与 DHA 组比较, Bcl-2/Bax 降低, \* \*  $P < 0.01$ , DHA、L-OHP 联合组与 L-OHP 比较, Bcl-2/Bax 降低, (##  $P < 0.01$ )(见图 2)。

### 2.5 Caspase-3、Caspase-8 活性检测

对给药后的 Caspase-3、Caspase-8 进行活性检测,结果显示, DHA 组、L-OHP 组以及 DHA、L-OHP 联合组作用 HCT116 细胞 24h 后, DHA、L-OHP 联合

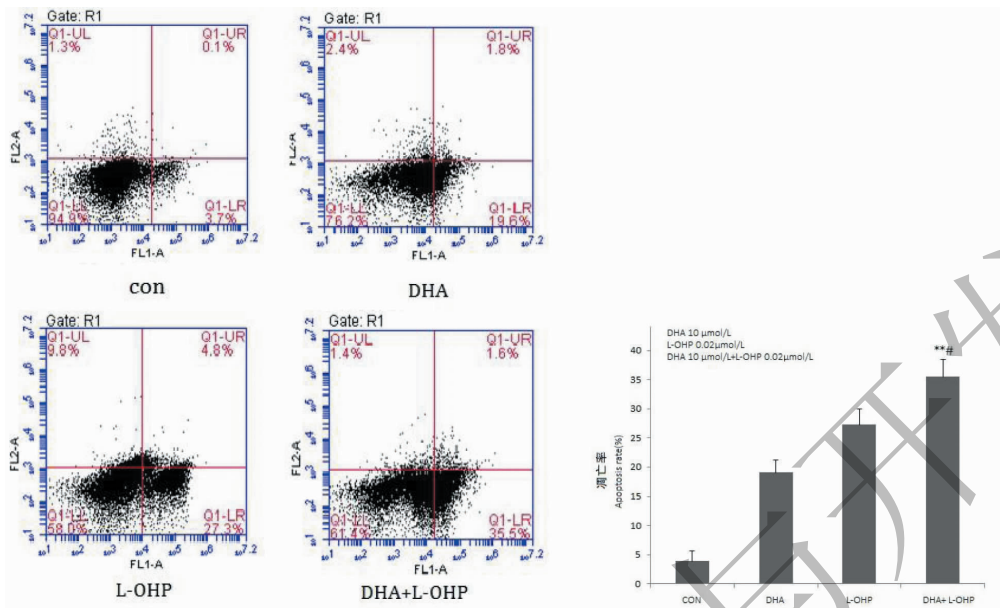


图1 DHA 与 L-OHP 联合对 HCT116 细胞凋亡的影响

Fig. 1 Effect of DHA combined with L-OHP on apoptosis of HCT116 cells

注:与 DHA 组比较 \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ , 与 L-OHP 组比较, #  $P < 0.05$ 。

Note: Compared with DHA group \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ , compared with L-OHP group, #  $P < 0.05$ .

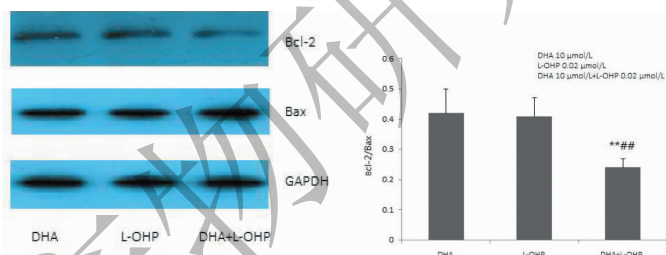


图2 DHA 与 L-OHP 联合对 HCT116 细胞凋亡相关蛋白的影响

Fig. 2 Effect of DHA combined with L-OHP on apoptosis-related proteins in HCT116 cells

注:与 DHA 组比较, \*\*  $P < 0.01$ ; 与 L-OHP 组比较, ##  $P < 0.01$ 。

Note: Compared with DHA group, \*\*  $P < 0.01$ ; compared with L-OHP group, ##  $P < 0.01$ .

组的 Caspase-3 活性显著提高,与 DHA 组和 L-OHP 组比较有统计学意义  $P < 0.01$ 。DHA 组、L-OHP 组以及 DHA、L-OHP 联合组作用 HCT116 细胞 24 h 后 Caspase-8 显著提高,与 DHA 组及 L-OHP 组比较 DHA、L-OHP 联合组 caspase-8 显著提高与 L-OHP 组比较  $P < 0.05$ ,与 DHA 组比较  $P < 0.01$ (见图 3)。

## 2.6 单细胞凝胶电泳实验

给药后进行单细胞凝胶电泳实验,结果显示, DHA 组、L-OHP 组以及 DHA、L-OHP 联合组作用 HCT116 细胞后, DHA、L-OHP 联合组的慧尾率显著提高,与 DHA 组和 L-OHP 组比较有统计学意义 ( $P < 0.01$  和  $P < 0.05$ )(见图 4)。

## 3 讨论

奥沙利铂是临床上一线的治疗结直肠癌的抗肿瘤药物,抗肿瘤作用显著,但奥沙利铂长时间大量使用会产生肾毒性、耳毒性、神经毒性等毒副作用,肿瘤细胞对奥沙利铂的耐药性产生降低了奥沙利铂的疗效,是目前肿瘤化疗失败的重要原因<sup>[6]</sup>。因此利用毒性较低的具备抗肿瘤活性的化合物使化疗药物增敏从而减少化疗药物用量是一种提高抗肿瘤药物化疗作用降低毒性的重要方法。青蒿素类药物毒性小对包括结肠癌在内的多种肿瘤有效,有研究报道其甚至可以逆转结肠癌的耐药<sup>[7,8]</sup>,因此本研究将

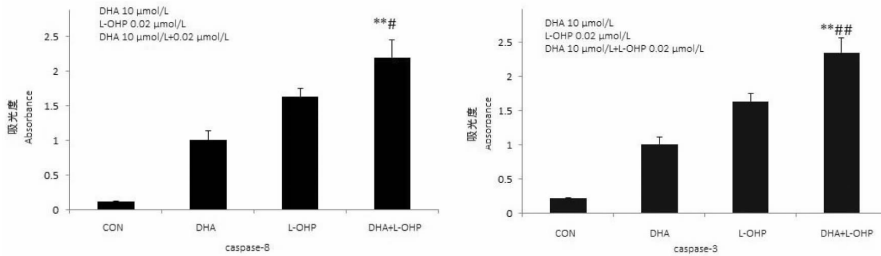


图3 DHA与L-OHP联合用药对HCT116细胞凋亡相关蛋白活性的影响

Fig. 3 The effects of DHA and L-OHP on activity of apoptosis-related proteins

注:检测 caspase-3 活性,与 DHA 组比较,  $**P < 0.01$ ; 与 L-OHP 组比较,  $##P < 0.01$ ; 检测 caspase-8 活性,与 DHA 组比较,  $**P < 0.01$ ; 与 L-OHP 组比较,  $#P < 0.05$ 。

Note: Detection of caspase-3 activity, compared with DHA group,  $**P < 0.01$ ; compared with L-OHP group,  $##P < 0.01$ ; detection of caspase-8 activity, compared with DHA group,  $**P < 0.01$ ; and compared with L-OHP group,  $#P < 0.05$ .

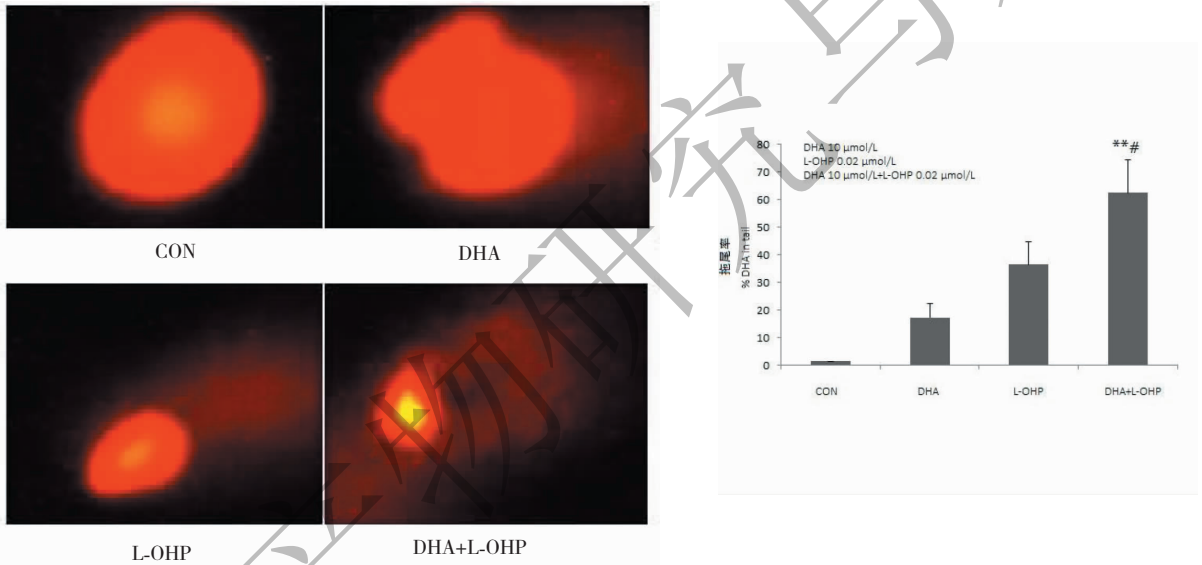


图4 DHA与L-OHP联合用药对HCT116细胞DNA损伤的影响

Fig. 4 The effects of DNA damage on DHA and L-OHP

注:与 DHA 组比较,  $**P < 0.01$ ; 与 L-OHP 组比较,  $#P < 0.05$ 。

Note: Compared with DHA group,  $**P < 0.01$ ; compared with L-OHP group,  $#P < 0.05$ .

双氢青蒿素与奥沙利铂联用观察其对结肠癌细胞 HCT116 的抑制作用,计算药物联用是否有协同效应,对其凋亡及相关蛋白进行研究,为青蒿素类药物进入抗肿瘤的临床治疗提供依据。

L-OHP 与 DHA 单独和联合使用对 HCT116 人结肠癌细胞增殖均有抑制作用,联合用药抑制率比两药单独使用抑制率提高,应用金正均 Q 值法进行联合用药分析发现两药联合使用在一定浓度下发挥协同作用,而在 L-OHP 相对较高的浓度下只发生相加作用。DHA 可诱导 DNA 氧化损伤,而 L-OHP 抗肿瘤的主要机制是与肿瘤细胞 DNA 形成链内、外交

联,影响 DNA 的复制和转录<sup>[9,10]</sup>。DHA 与 L-OHP 二者都能通过影响肿瘤细胞的 DNA 来发挥抗肿瘤作用,通过 DNA 损伤实验发现,在 DHA 与 L-OHP 联合应用后 DNA 损伤加重,影响肿瘤细胞的增殖,甚至可能进一步引起细胞凋亡。

观察 DHA 与 L-OHP 联合应用对 HCT116 细胞凋亡作用发现,与单药组比较两药联合应用凋亡率显著提高,有研究显示 DHA 能促进肿瘤细胞凋亡并对多种肿瘤有杀伤作用<sup>[11,12]</sup>,研究表明 DHA 与顺铂联用可提高抗肿瘤细胞的作用<sup>[13]</sup>,L-OHP 也可引起多种肿瘤细胞凋亡,并且可通过 Fas/FasL 和

caspase-8 诱导细胞凋亡<sup>[14,15]</sup>。凋亡是多基因多因素相互之间影响和调控的结果。Bcl-2 基因是重要的凋亡抑制基因,Bcl-2 /Bax 比值决定细胞是否进入凋亡状态,若 Bax 越高,Bcl-2 就被抑制,细胞凋亡被诱导,反过来 Bax 受抑,细胞得以生存<sup>[16]</sup>。研究显示两药联用 Bcl-2 /Bax 显著降低,诱发凋亡,Bax 是 Bcl-2 家族成员,其可通过活化 Caspases 促进凋亡。Caspases 是凋亡信号转导的共同通路,其中 Caspase-3 是核心效应器,负责对凋亡途径最后执行阶段的全部或部分关键性蛋白的酶切,可引发瀑布式激活下游的 Caspase 蛋白酶家族,最终诱导细胞凋亡<sup>[6]</sup>,本研究结果显示两药联合应用可显著提高 Caspase-3 的活性,同时也提高 Caspase-8 的活性,从而诱导 HCT116 细胞的凋亡。

综上所述,本研究发现双氢青蒿素及奥沙利铂可抑制 HCT116 结肠癌细胞的增殖作用,二者联用在一定浓度下可对 HCT116 结肠癌细胞发挥协同作用,显著提高抑制率。同时可通过下调 Bcl-2/Bax 表达比值,激活 Caspase-3、Caspase-8 的活性,促进 HCT116 结肠癌细胞凋亡。两药联合可促进 DNA 损伤加重,抑制肿瘤细胞生长,其协同作用发生的具体靶点和机制,有待进一步研究。

#### 参考文献

- Zhang DM(张冬梅),Zhang YM(张雅明). Effects of matrine on reversal of oxaliplatin resistance in human colon cancer cell line (HT-29) and its mechanism [J]. *J Hunan Univ Chin Med*(湖南中医药大学学报),2016,36(11):22-26.
- Du ZJ(杜志杰),Dong JY(董金焱),Guo JS(郭建昇), et al. Effects of artesunate plus oxaliplatin on human colon cancer cell HCT116 [J]. *World J Integr Tradit Chin West Med*(世界中西医结合杂志),2014,9:710-713.
- Efferth T. Willmar Schwabe Award, et al. Anti-plasmodial and antitumor activity of artemisinin from bench to bedside [J]. *Planta Med*,2007,73:299-309.
- Efferth T, et al. Molecular pharmacology and pharmacogenomics of artemisinin and its derivatives in cancer cells [J]. *Current Drug Targets*,2006,7:407-421.
- Lu JJ. Progress in the research on the anti-cancer activity of

- artemisinin compounds [J]. *Chin Pharmacol Bull*,2010,26(6):818-820.
- Li Q(李琪),Ren LQ(任立群),Wang YD(王亚帝). Effects of rutin combined with oxaliplatin on proliferation and apoptosis of human gastric cancer SGC-7901 cells [J]. *Chin J Clin Pharm Therap*(中国临床药理学与治疗学),2017,22:1099-1105.
- Tao PY(陶鹏宇),Shi MJ(施明杰),Xu Q(徐勤). Reversal of drug resistance of human colon cancer drug-resistant cells by dihydroartemisinin [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med*(广州中医药大学学报),2016,33:698-703.
- Zhou JY(周洁芸),Zhu Y(朱焰). Research progress on antitumor effects of artemisinin and its derivatives [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2014,26:975-981.
- Berdelle N, Nikolova T, Quiros. Artesunate induces oxidative DNA damage, Sustained DNA double-strand breaks, and the ATM/ATR damage response in cancer cells [J]. *Mol Cancer Ther*,2011,10:2224-2233.
- Wu JJ(吴建军),Chen WR(陈维荣). New generation of platinum drugs oxaliplatin research progress [J]. *Medical Review*(医学综述),2012,18:1906-1908.
- Lucibello M, Adanti S, Antelmi E, et al. Phospho-TCTP as a therapeutic target of dihydroartemisinin for aggressive breast cancer cells [J]. *Oncotarget*,2015,6:5275-5291.
- Hu C J, Zhou L, Cai Y. dihydroartemisinin induces apoptosis of cervical cancer cells via upregulation of RKIP and down-regulation of Bcl-2 [J]. *Cancer Biol Ther*,2014,15:279-288.
- Zhao J, Pan Y, Li X et al. Dihydroartemisinin and curcumin synergistically induce apoptosis in SKOV3 cells via upregulation of MiR-124 targeting midkine [J]. *Cell Physiol Biochem*,2017;43:589-601.
- Park BB, Kim WS, Eom HS, et al. Salvage therapy with gemcitabine, ifosfamide, dexamethasone, and oxaliplatin (GID-OX) for Bcell non-Hodgkin's lymphoma; a consortium for improving survival of lymphoma (CISL) trial [J]. *Invest New Drugs*,2011,29:154-160.
- Yang C, Liu HZ, Fu ZX. PEG-liposomal oxaliplatin induces apoptosis in human colorectal cancer cells via Fas /FasL and caspase-8 [J]. *Cell Biol Inter*,2012,36:289-296.
- Wang WD(王卫东),Chen ZT(陈正堂). Bcl-2/Bax ratio and cell "fate" [J]. *Chinese J Cancer Bio*(中国肿瘤生物治疗杂志),2007,14:393-396.