

白术内酯Ⅱ促进大肠癌 Lovo 细胞凋亡及对 PARP1 和 Caspase-3 表达的影响

张彩霞¹, 张亚杰², 江滨^{2*}, 隆红艳², 阮杰², 朱维娜²

(1. 南京中医药大学, 南京 210000; 2. 南京市中医院, 南京中医药大学第三附属医院, 南京 210000)

[摘要] 目的:探讨白术内酯Ⅱ对人大肠癌 Lovo 细胞的抑制作用及其机制。方法:体外培养人大肠癌 Lovo 细胞,采用不同浓度的白术内酯Ⅱ分别作用于细胞,噻唑蓝(MTT)比色法检测其对细胞生长抑制率,流式细胞术(FCM)检测白术内酯Ⅱ对 Lovo 细胞凋亡的影响,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测白术内酯Ⅱ对大肠癌细胞聚腺苷酸二磷酸核糖转移酶-1(poly ADP-ribose polymerase1, PARP1),含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(cysteinyl aspartate specific proteinase-3, Caspase-3)蛋白表达水平的影响。结果:与空白组比较,白术内酯Ⅱ质量浓度达到 150 mg·L⁻¹时可明显抑制 Lovo 细胞增殖($P < 0.05$),随着白术内酯Ⅱ浓度的增高,细胞存活率逐渐下降,当质量浓度超过 300 mg·L⁻¹时,细胞存活率降到半数以下;白术内酯Ⅱ(300 mg·L⁻¹)可明显促进 Lovo 细胞的凋亡($P < 0.01$);白术内酯Ⅱ 100 mg·L⁻¹可使 PARP1 和 Caspase-3 开始发生剪切,随着药物质量浓度的增加,其剪切作用明显增强。白术内酯Ⅱ可抑制大肠癌 Lovo 细胞的生长和增殖,并能调节 PARP1, Caspase-3 蛋白表达,促进细胞凋亡。结论:白术内酯Ⅱ能显著抑制 Lovo 细胞的增殖并诱导其发生凋亡,其分子机制与促进 PARP1 的剪切,激活 Caspase-3 的表达相关。

[关键词] 白术内酯Ⅱ; Lovo 细胞; 聚腺苷酸二磷酸核糖转移酶-1; 含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)05-0157-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017050157

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161207.1426.066.html>

[网络出版时间] 2016-12-07 14:26

Effect of Atractylenolide II in Promoting Apoptosis of Lovo Cells and Its Impact on Expression of PARP1 and Caspase-3

ZHANG Cai-xia¹, ZHANG Ya-jie², JIANG Bin^{2*}, LONG Hong-yan², RUAN Jie², ZHU Wei-na²

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China; 2. Nanjing Hospital of Traditional Chinese Medicine, The Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the inhibitory effect of atractylenolide II on Lovo cells and its mechanism. **Method:** Lovo cells were cultured *in vitro*, and treated with respectively atractylenolide II at different concentrations to incubate for 24 h. The proliferation ability of Lovo cells was detected by 3-(4, 5-dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide (MTT) assay. The apoptosis of Lovo cells impacted by atractylenolide II were measured by flow cytometry (FCM), and the effect of atractylenolide II on the expression of poly ADP-ribose polymerase1 (PARP1) and cysteinyl aspartate specific proteinase-3 (Caspase-3) were detected by the Western blot. **Result:** Compared with the blank control group, at the dose of 150 mg·L⁻¹, atractylenolide II significantly inhibited the proliferation of Lovo cells ($P < 0.05$). With the increase of the concentration of

[收稿日期] 20160530(025)

[基金项目] 江苏省“六大人才高峰”第十二批高层次人才选拔培养计划项目(WSW-069);江苏省第四期“333工程”科研计划项目(24);南京市医学科技发展项目(ZKX15040)

[第一作者] 张彩霞,在读硕士,从事中医药对大肠癌的防治研究, Tel:15195753983, E-mail:sunclouds11@163.com

[通讯作者] * 江滨,博士,教授,博士生导师,从事中医药对大肠癌的防治研究, Tel:025-52276220, E-mail:jbfirsh@aliyun.com

atractylenolide II, cell survival rate was gradually decreasing. At the concentration of more than $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, cell survival rate dropped to less than half. High-dose ($300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) atractylenolide II can significantly promote the apoptosis of Lovo cells ($P < 0.01$). At the dose of $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, atractylenolide II can cause shear in PARP1 and Caspase-3. With the increase of drug concentration, the shearing effect was significantly enhanced. Atractylenolide II can inhibit the growth and proliferation of Lovo cells, regulate the expression of PARP1 and Caspase-3, and then promote the apoptosis of cells. **Conclusion:** Atractylenolide II can significantly inhibit the proliferation of Lovo cells and induce their apoptosis, its molecular mechanism may be related to the regulation of the expression of PARP1 and Caspase-3.

[Key words] atractylenolide II; Lovo cell; poly ADP-ribose polymerase 1 (PARP1); cysteinyl aspartate specific proteinase-3 (Caspase-3)

大肠癌是全球范围内一种最常见的人类恶性肿瘤,每年大约 120 万人被诊断为大肠癌,超过 60 万人死于该病^[1]。包括中国在内的发展中国家大肠癌的发病率和死亡率在过去 10 年内呈直线上升^[2-3]。中医认为本病病位在大肠,发病和脾肾密切相关,脾虚湿毒瘀阻为主要发病机制,本病外因包括寒气客于肠外,或饮食不节,恣食肥腻,醇酒厚味,或误食不洁之品等;内因中包括忧思抑郁,遗传,正气不足,阴阳失调,引起脾虚、气滞、血瘀、痰凝、热毒、湿邪久聚,而为脏毒。脏毒者,“蕴毒积久而始见”,道出其发病的根本原因。目前临床常用治疗方法为手术切除,辅以放、化疗等。大肠癌西医治疗方法往往忽视了患者本身的正气虚弱,术后复发率超过 40%,而中医药在大肠癌的防治中显示出强大的优势。因而,众多医药科研人员致力于对中医中药的研究,欲以实现对于癌症的突破治疗。

白术性温味苦、甘,归脾胃经,为多年生草本植物 *Atractylodes macrocephala* 的干燥根茎,功用健脾益气、燥湿利水、止汗安胎。近年来对于白术的药理学研究表明,白术(生)的主要成分包括苍术酮、内酯类,其中苍术酮的含量最高,与 3 种内酯类成分的含量差异均较大,白术内酯作为白术的重要有效成分,其含量直接影响着白术的药效发挥^[4]。有研究表明,内酯类成分具有抗炎、抗肿瘤的作用^[5],高小玲等^[6]同时比较了白术 3 种内酯类成分的抗肿瘤作用,发现白术内酯 II 抗肿瘤作用更优于白术内酯 I,白术内酯 III。因此,本研究对白术内酯 II 的抗肿瘤作用进行深入研究。

1 材料

1.1 细胞株 Lovo 细胞,购自中国科学院上海生科细胞资源中心。

1.2 药物与试剂 白术内酯 II (ALB Technology Limited 公司,批号 ALB-20150921),DMEM 培养基,

胰蛋白酶-EDTA 消化液,磷酸盐缓冲液 (PBS) (Gibco 公司,批号分别为 8115337, 737903, 20160121),二甲基亚砜 (DMSO, Sigma 公司,批号 20150427);胎牛血清 (浙江天杭生物科技有限公司,批号 20150915);青霉素、链霉素 (Gibco 公司,批号均为 15140-122);噻唑蓝 (MTT, Amresco 公司,批号 20150706);Annexin V/7-AAD 试剂盒 (美国 Beckman 公司,批号 IM3614);鼠来源 β -肌动蛋白 (β -actin) 一抗,兔来源聚腺苷酸二磷酸核糖转移酶-1 (poly ADP-ribose polymerase 1, PARP1) 一抗,兔来源天冬氨酸蛋白水解酶-3 (cysteinyl aspartate specific proteinase-3, Caspase-3) 一抗及相应二抗 (上海艾博抗贸易有限公司,批号分别为 20151023, 20151202, 20150731)。

1.3 仪器 BSC1300-II B2 型新华生物安全柜 (山东新华医疗器械股份有限公司);HERACELL150i 型 CO_2 培养箱 (美国 Thermo Scientific 公司);UxF40086 型超低温冰箱 (美国 Thermo 公司);CKX41 型倒置相差显微镜 (日本 Olympus 公司);Avanti J-26XP 型低温高速离心机,FC500 型流式细胞仪 (美国贝克曼库尔特公司);Bio-Tek Epoch 型全波长酶标仪 (美国伯腾仪器有限公司);Bio-Rad PowerPac Mniversal™ 型电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养传代 取液氮低温保存的 Lovo 细胞,置于 37°C 水浴,使迅速融化后,将冻存液转移至离心管内,并滴加培养液,混匀后 $1\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,弃去上清液,加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液 2 mL,重新悬浮沉淀的细胞,接种于培养皿, 37°C 5% CO_2 培养,次日换液。当融合至 80% 左右时,用 0.25% 胰酶消化传代。

2.2 细胞种植及给药 取对数期生长的 Lovo 细胞

消化计数,调整细胞悬液密度,按照 1×10^4 个/孔种植于 96 孔板,每孔加入细胞悬液 $100 \mu\text{L}$,边缘孔以无菌 PBS 填充补齐,置于 $5\% \text{CO}_2$ 37°C 培养箱孵育。以 DMSO 作为溶剂,配制白术内酯 II 溶液。24 h 后分别加入不同质量浓度的白术内酯 II ($10, 20, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),并设空白组,根据前期实验得出最佳浓度梯度,每孔 $100 \mu\text{L}$,每组设 6 个平行复孔,轻摇使药物充分混匀后置于 37°C 恒温培养箱。24 h 后于倒置显微镜下观察,MTT 法检测不同质量浓度白术内酯 II 对 Lovo 细胞增殖力的影响。

2.3 MTT 法检测细胞增殖能力 96 孔板中每孔加入 $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ MTT 溶液 $20 \mu\text{L}$,继续培养 4 h,终止培养,小心吸去各孔内培养液,每孔加入 DMSO $200 \mu\text{L}$,置摇床上低速 ($100 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$) 振荡 10 min,使结晶物充分溶解。在酶标仪 570 nm 波长处测量各孔吸光度 A 。

$$\text{细胞抑制率} = (1 - A_{\text{药物组}} / A_{\text{空白组}}) \times 100\%$$

2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡情况 Lovo 细胞按 $(3 \sim 5) \times 10^5$ 个/mL 接种 6 孔板,待细胞贴壁后分别加入不同质量浓度白术内酯 II,根据上述 MTT 结果确定白术内酯 II 质量浓度分别为 $50, 150, 300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,并设空白组,24 h 后收集上清,用预冷的 PBS 洗细胞 2 次,分别收集各组细胞,按照 Beckman Annexin V/7-AAD 试剂盒步骤操作,流式细胞仪检测细胞凋亡率。

2.5 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测 PARP1, Caspase-3 蛋白表达 将 Lovo 细胞种植于 6 孔细胞培养板,细胞贴壁后加入不同质量浓度梯度的白术内酯 II ($50, 100, 150, 200, 300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),并设空白组,药物作用 24 h 后收集各孔中所有细胞,用 RIPA 细胞裂解液提取 Lovo 细胞总蛋白,BCA 法测定蛋白质含量后,每组取蛋白 $40 \mu\text{g}$,制备上样样品,进行 SDS-PAGE 电泳。停止电泳后,将适当大小的 PVDF 膜 (经甲醇预浸泡 60 s) 和下层凝胶浸入转移缓冲液平衡 30 min,按照夹心法依次将海绵垫,滤纸, PVDF 膜,凝胶,滤纸,海绵垫顺序放好,赶走 PVDF 膜和凝胶夹心内气泡,放置于转移液中恒流 400 mA 转膜 60 min,使凝胶上蛋白质转印至 PVDF 膜上。将 PVDF 膜放入含 5% BSA 的 TBST 中,置于摇床上,室温封闭 1 h,后用 TBST 洗膜 5 次,每次 5 min。用鼠来源 β -actin,兔来源 PARP1 和兔来源 Caspase-3 一抗 ($1:1\ 000$) 4°C 孵育过夜,洗膜后加入相应二抗 ($1:2\ 000$),室温孵育 1 h 后洗膜 3 次,每次 10 min;

ECL 发光液显色,ChemiDoc™ XRS+ 型成像仪采集图像。

2.6 统计学方法 采用 Graphpad prism 6 软件分析和作图,正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,3 组或 3 组以上采用单因素方差分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 白术内酯 II 对大肠癌 Lovo 细胞增殖能力的影响 细胞接种 24 h 后,分别予以不同浓度的白术内酯 II 刺激,MTT 法检测给药 24 h 后 Lovo 细胞的增殖能力。分别计算不同浓度的白术内酯 II 对 Lovo 细胞生长的抑制情况。与空白组比较,白术内酯 II $10, 20, 50, 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用于 Lovo 细胞,对细胞增殖的抑制作用不明显;白术内酯 II $150, 200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 可明显抑制 Lovo 细胞增殖 ($P < 0.05$);当继续增加白术内酯 II 质量浓度至 $250, 300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,其抑制作用显著 ($P < 0.01$);白术内酯 II $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用于 Lovo 细胞,可显著抑制细胞增殖 ($P < 0.01$)。由此可见,随着白术内酯 II 浓度的增高,细胞存活率逐渐下降,当质量浓度超过 $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,细胞存活率降到半数以下。见表 1。

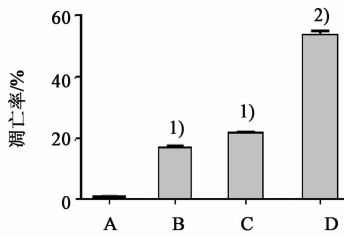
表 1 白术内酯 II 作用 24 h 后对 Lovo 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 1 Effect of atractylenolide II on proliferation of Lovo cells after 24 h ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	抑制率/%
空白	-	0
白术内酯 II	10	2.4 ± 1.2
	20	19.7 ± 6.7
	50	34.8 ± 5.8
	100	34.8 ± 9.2
	150	$38.9 \pm 6.1^{1)}$
	200	$45.3 \pm 2.3^{1)}$
	250	$48.0 \pm 1.1^{2)}$
300	$52.7 \pm 0.5^{2)}$	
500	$59.6 \pm 1.7^{2)}$	

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (图 2,3 同)。

3.2 白术内酯 II 对 Lovo 细胞凋亡的影响 细胞种植 24 h 后,给予不同质量浓度白术内酯 II 作用,给药 24 h 后检测细胞凋亡,与空白组比较,白术内酯 II ($50, 150, 300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 均可促进大肠癌 Lovo 细胞凋亡,尤其 $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 白术内酯 II 可显著促进 Lovo 细胞的凋亡 ($P < 0.01$)。见图 1。

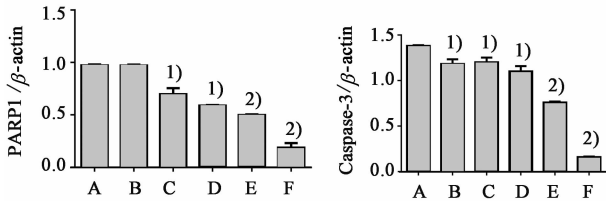
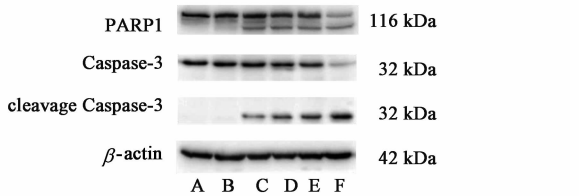
3.3 白术内酯 II 对 Lovo 细胞 Caspase-3, PARP1 蛋白表达的影响 白术内酯 II 作用于 Lovo 细胞后,



A. 空白组; B ~ F. 白术内酯 II (50, 150, 300 mg·L⁻¹) 组

图 1 白术内酯 II 作用于 Lovo 细胞 24 h 后凋亡率变化 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Fig. 1 Effect of different doses of Atractylenolide II on apoptosis rate of Lovo cells after 24 h ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

白术内酯 II 100 mg·L⁻¹ 时 PARP1 和 Caspase-3 开始发生剪切, 随着药物浓度的增加, 其剪切作用明显增强 ($P < 0.05, P < 0.01$), 提示白术内酯 II 可明显改变 PARP1 和 Caspase-3 的表达, 在促进肿瘤细胞的凋亡中发挥重要作用。见图 2。



A. 空白组; B ~ F. 白术内酯 II (50, 100, 150, 200, 300 mg·L⁻¹) 组

图 2 白术内酯 II 对 Lovo 细胞 PARP1 及 Caspase-3 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Fig. 2 Effect of different doses of atractylenolide II on expression of PARP1 and Caspase-3 in Lovo cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

4 讨论

白术是临床常用的健脾中药, 现代药理学研究表明, 白术的化学成分主要包括苍术酮, 白术内酯 I, II, III 及双白术内酯等, 白术具有抗菌、抗衰老、抗肿瘤、抗老年痴呆症、调节免疫、降血糖、保护神经系统等作用^[7-8]。白术内酯 I, II, III 是白术的特征性成分, 常用来作为衡量白术药材质量的参考指标^[9]。白术(生)和麸炒白术主要成分的含量有所差别。李伟等^[10]研究发现白术炮制后其内酯类成分含量发生改变, 炮制后白术内酯 I, 白术内酯 III 含量明显增加, 炮制过程中苍术酮可被氧化为白术内酯 II, 白术内酯 III 和双白术内酯, 同时白术内酯 III 在加热过程中也可生成白术内酯 II。

近年来, 对白术内酯类成分及其药理作用的

研究颇受学者关注, 尤其是抗肿瘤作用。白术可有效抑制肿瘤细胞的生长和增殖, 目前已有部分实验研究证实其内酯类成分是实现抑瘤作用的基础^[11]。相关研究发现白术内酯 I 具有很好的抗癌活性, 能够显著抑制多种肿瘤细胞的活力, 包括 MCF7, HepG, Dul45, A549, A875, P-388 和 HL-60 等^[12-14]。白术内酯 I 还可诱导白血病细胞凋亡并产生细胞毒作用^[15]。白术内酯 I 抗肿瘤的具体机制尚不明确, 汪雯^[16]发现白术内酯 I 可以下调卵巢癌细胞血管内皮生长因子(VEGF)的表达, 高浓度时可直接抑制卵巢癌细胞分泌 VEGF, 从而抑制卵巢癌血管生成, 但对于人卵巢癌细胞的增殖抑制作用却不明显。相关研究发现白术内酯 I 可以通过调节某些细胞因子如白细胞介素(IL)-1, IL-2, 肿瘤坏死因子(TNF)- α 及蛋白水解诱导因子(PIF)的水平, 改善肿瘤恶病质的情况, 诱导肿瘤细胞凋亡, 抑制肿瘤生长, 实现其抗肿瘤作用^[17-19]。

白术内酯类在来源 Caco-2 细胞单层模型中可以很好的被吸收, 其机制主要是通过被动扩散实现^[20]。研究表明大肠癌术后复发转移大多数出现在术后 2 ~ 3 年^[21], 钱垠等^[22]临床研究发现健脾方(黄芪, 党参, 麸炒白术, 茯苓, 甘草, 薏苡仁, 陈皮)可明显降低结直肠癌患者 2 年复发转移率, 说明健脾中药在结直肠癌患者的防治中具有重要作用。白术内酯 II 是常用健脾中药白术的主要化学成分之一, 属倍半萜类内酯化合物, 能阻滞黑色素瘤细胞的细胞周期并诱导细胞凋亡, 且对血小板活性有抑制作用^[15, 23-24]。同时, YE 等^[25]也发现从白术中分离出的倍半萜烯成分可抑制黑色素瘤 B16 细胞的生长。

本研究表明白术内酯 II 对大肠癌 Lovo 细胞增殖的抑制作用明显, 且在一定范围(0 ~ 300 mg·L⁻¹)内随着质量浓度的增高, 抑制作用逐渐增强, 但当质量浓度超过 300 mg·L⁻¹ 时, 其抑制率超过 50%。因此, 本研究用 50, 150, 300 mg·L⁻¹ 白术内酯 II 作用于 Lovo 细胞, 流式细胞仪检测发现, 随着质量浓度增高, 细胞凋亡数量逐渐增加, 具有质量浓度依赖性, 证明白术内酯 II 可以促进大肠癌 Lovo 细胞凋亡, 质量浓度为 300 mg·L⁻¹ 时, 细胞凋亡率为 55%, 这与白术内酯 II 抑制 Lovo 细胞增殖实验的结果一致。在此基础上本研究进一步实验, 发现高浓度白术内酯 II 可促进 PARP1, Caspase-3 的剪切, 因此推测白术内酯 II 能显著抑制 Lovo 细胞的增殖并诱导其发生凋亡, 其分子机制与调节 PARP1,

Caspase-3 的表达相关,但白术内酯 II 调控 PARP1, Caspase-3 表达的具体机制仍需进一步实验验证。

[参考文献]

- [1] Karsa L V, Lignini T A, Patnick J, et al. The dimensions of the CRC problem [J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2010, 24(4):381-396.
- [2] 周脉耕, 王晓风, 胡建平, 等. 2004-2005 年中国主要恶性肿瘤死亡的地理分布特点[J]. *中华预防医学杂志*, 2010, 44(4):303-308.
- [3] 雷涛, 陈万青, 张思维, 等. 1988-2002 年中国 10 个市县大肠癌的流行特征[J]. *中华肿瘤杂志*, 2009, 31(6):428-433.
- [4] 尹华, 王知青, 王玲, 等. HPLC-DAD 波长切换法同时测定白术中白术内酯 I, II, III 和苍术酮的含量[J]. *中华中医药杂志*, 2013, 28(1):233-236.
- [5] 彭腾, 李鸿翔, 邓赞, 等. 白术内酯类成分及其药理作用研究进展[J]. *中国药房*, 2012, 23(39):3732-3734.
- [6] 高小玲, 汪保英, 陈玉龙, 等. 白术内酯对小鼠结肠癌细胞增殖能力的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2013, 21(26):2690-2693.
- [7] 陈文, 何鸽飞, 姜曼花, 等. 近 10 年白术的研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(2):338-340.
- [8] 陈晓萍, 张长林. 白术不同化学成分的药理作用研究概况[J]. *中医药信息*, 2011, 28(2):124-126.
- [9] 汤得芳, 郝玉笛, 刘佐雅, 等. 平江白术根茎挥发油的成分及其抑瘤作用研究[J]. *中国药学杂志*, 1984, 19(9):43-46.
- [10] 李伟, 文红梅, 崔小兵, 等. 白术炮制的机制及其倍半萜成分转化的研究[J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(19):1600-1603.
- [11] 徐玲玲, 张耀斌. 白术挥发油抑瘤作用研究进展[J]. *西安文理学院学报:自然科学版*, 2010, 13(1):59-61.
- [12] 许志超, 韩凌, 赵余庆, 等. 绞股蓝总皂苷水解产物中稀有抗肿瘤活性成分的化学研究[J]. *亚太传统医药*, 2008, 4(11):41-43.
- [13] 潘利文, 宋捷. 白术内酯 I 体内外的抗黑色素瘤研究[J]. *中国医院药学杂志*, 2015, 35(8):682-685.
- [14] WANG C C, LIN S Y, CHENG H C, et al. Pro-oxidant and cytotoxic activities of atractylenolide I in human promyeloleukemic HL-60 cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2006, 44(8):1308-1315.
- [15] YE Y, WANG H, CHU J H, et al. Atractylenolide II induces G1 cell-cycle arrest and apoptosis in B16 melanoma cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 136(1):279-282.
- [16] 汪雯. 白术内酯 I 下调 TLR4 介导的 MyD88 + 人卵巢癌细胞 VEGF 表达的研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2011.
- [17] LIU Y, JIA Z, DONG L, et al. A randomized pilot study of atractylenolide I on gastric cancer cachexia Patients [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2008, 5(3):337-344.
- [18] 刘映, 叶峰, 邱根全, 等. 白术内酯 I 对肿瘤恶病质患者细胞因子和肿瘤代谢因子的影响[J]. *第一军医大学学报*, 2005, 25(10):1308-1311.
- [19] 孙焯, 蔡云, 刘映, 等. 白术内酯对癌性恶病质小鼠血清细胞因子的影响[J]. *河北中医*, 2013, 35(7):1059-1062.
- [20] GUO J, YANG X W. Intestinal permeability of atractylenolides across the human Caco-2 cell monolayer model[J]. *J Chinese Pharm Science*, 2011, 20(5):505-509.
- [21] Park Y J, Park K J, Park J G, et al. Prognosis factor in 2230 Korean colorectal cancer patients: analysis of consecutively operated cases[J]. *World J Surg*, 1999, 23(7):721-726.
- [22] 钱垠, 黄欣, 刘青. 健脾中药对结直肠癌术后复发转移的干预作用[J]. *中国中医药信息杂志*, 2009, 16(1):80-81.
- [23] GE J, WANG Y W, LU X C, et al. Determination of atractylenolide II in rat plasma by reversed-phase high-performance liquid chromatography [J]. *Biomed Chromatogr*, 2007, 21(3):299-303.
- [24] 陈一竹, 杨文龙, 郭玲玉, 等. 白术内酯 II 抗血小板作用及对血小板中蛋白激酶 B 磷酸化水平的影响[A]. *中国医药导报*, 2016, 13(11):18-21, 26.
- [25] YE Y, CHOU G X, WANG H, et al. Effects of sesquiterpenes isolated from largehead atractylodes rhizome on growth, migration, and differentiation of B16 melanoma cells [J]. *Integr Cancer Ther*, 2011, 10(1):92-100.

[责任编辑 张丰丰]