

DOI: 10.11830/ISSN.1000-5013.201805011



柯里拉京对顺铂抗卵巢癌 Hey 和 SKOV3 细胞的增敏作用

李旭丹^{1,2}, 林志灿², 李煜^{1,2}, 郑志忠², 明艳林^{1,2}

(1. 华侨大学 化工学院, 福建 厦门 361021;

2. 厦门华侨亚热带植物引种园 厦门市植物引种检疫与植物源产物重点实验室, 福建 厦门 361002)

摘要: 探讨柯里拉京(corilagin)与羟基喜树碱(HCPT)、顺铂(cDDP)单独及联合用药,体外抗卵巢癌细胞 Hey,SKOV3 的活性及与 cDDP 联用机制的初步研究. 利用四唑盐(MTT)比色法检测柯里拉京,HCPT,cDDP 在不同质量浓度下,单独及联合用药对卵巢癌细胞的增殖抑制率,并根据金氏公式计算其协同指数(Q),进而评价两药联用的增敏效果. 通过形态学观察吖啶橙(AO)/溴化乙啶(EB)和 Hoechst 33258 染色及线粒体膜电位变化,探究其诱导机制. 结果表明:柯里拉京对卵巢细胞 Hey,SKOV3 的半抑制浓度(IC₅₀值)分别为 19.20,17.17 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$;柯里拉京与 cDDP 联合作用对于 SKOV3,Hey 两种细胞均有协同作用,与 HCPT 联用只对 SKOV3 细胞有协同作用,对 Hey 细胞仅是相加效应;联合用药组对卵巢癌细胞的抑制效果显著高于单独用药组;柯里拉京与 cDDP 联合用药对卵巢癌细胞的杀伤效果可能是通过诱导细胞凋亡实现的.

关键词: 柯里拉京;顺铂;卵巢癌;增敏作用;细胞凋亡;四唑盐比色法

中图分类号: R 285

文献标志码: A

文章编号: 1000-5013(2018)06-0892-07

Sensitization Effect of Corilagin on Cisplatin Against Ovarian Cancer Hey and SKOV3 Cells

LI Xudan^{1,2}, LIN Zhican², LI Xuan^{1,2},
ZHENG Zhizhong², MING Yanlin^{1,2}

(1. College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China;

2. Key Laboratory of Plant Introduction and Quarantine and Plant Source Products of Xiamen,
Xiamen Overseas Chinese Subtropical Plant Introduction Park, Xiamen 361002, China)

Abstract: The activity against ovarian cancer cells (Hey, SKOV3) was investigated in vitro using corilagin, hydroxy camptothecine (HCPT), and cisplatin (cDDP) alone or in combination, and the combination mechanism of corilagin with cDDP was preliminarily studied. The inhibitory rate of corilagin, HCPT and cDDP alone or in combination with different concentrations on ovarian cancer cells was also determined by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) method. And the synergistic index (Q) which assesses the sensitization effect of corilagin for HCPT and cDDP was calculated according to Kim's formula. In addition, morphological observation and apoptosis staining including acridine orange (AO)/ethidium bromide (EB) and Hoechst 33258 and mitochondrial membrane potential staining were used to explore its potential induction mechanism. The results show

收稿日期: 2018-05-04

通信作者: 明艳林(1972-),男,研究员,博士,主要从事抗癌药用植物及其活性成分的研究. E-mail: xmyanlin@gmail.com.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81274149)

that the half maximal inhibitory concentration (IC₅₀ values) of corilagin on the ovarian cells Hey and SKOV3 were 19.20 and 17.17 μmol · L⁻¹, respectively. The combination of corilagin and cDDP had synergistic effects on both SKOV3 and Hey cells, while the combination of corilagin and HCPT only had synergistic effect on SKOV3 and additive effect on Hey. The inhibitory effect of combination therapy group on ovarian cancer cells was significantly higher than that of the control group. Moreover, the killing effect of corilagin in combination with cisplatin on ovarian cancer cells may be realized through the induction of cell apoptosis.

Keywords: corilagin; cisplatin; ovarian cancer; sensitization; apoptosis; methyl thiazolyl tetrazolium method

柯里拉京(corilagin), 分子式为 C₂₇H₂₂O₁₈, 是一种鞣质、多酚类化合物, 易溶于甲醇、二甲基亚砜(DMSO)等有机溶剂, 在植物中, 特别是大戟科植物中分布广泛. 药理研究表明, 柯里拉京具有抗肿瘤^[1]、抗氧化^[2]、抗炎^[3]、保护肝脏^[4]、保护神经细胞^[5]、保护心血管^[6]和辅助治疗 2 型糖尿病^[7]等多种生物活性. 近几年的研究表明, 柯里拉京具有显著的抗肿瘤活性, 在体外可抑制人肝癌^[8]、卵巢癌^[9]、喉癌^[10]、胆管癌^[11]等多种癌细胞株的生长, 在体内也可显著抑制卵巢癌和肝癌移植瘤的生长, 且对正常卵巢上皮细胞毒性非常低. 近年来, 本实验室对柯里拉京的提取制备及其抗肿瘤活性进行了较深入的研究, 并已申请柯里拉京作为抗癌植物新药的国家发明专利^[12]. 在前期研究的基础上, 本文选择合适的柯里拉京和顺铂(cisplatin, cDDP)浓度进行联合用药, 初步探讨柯里拉京对顺铂增敏的药理药效学.

1 实验部分

1.1 实验材料

柯里拉京由本实验室提取所得^[13], 纯度达 96.2%; 顺铂(cDDP)、吡啶橙(AO)购自美国 Sigma 公司; 羟基喜树碱(hydroxy camptothecine, HCPT)购自成都瑞芬思生物科技有限公司; Hoechst 33258, JC-1 购自上海碧云天生物技术研究所; RPMI 1640, 新生胎牛血清(FBS)购自美国 Hyclone 公司; 溴化乙锭(EB)、胰蛋白酶、双抗、四甲基偶氮唑盐(MTT)购自生工生物工程(上海)股份有限公司; 二甲基亚砜(DMSO)购自北京吉泰科技有限公司; 其余试剂均为国产分析纯. 人卵巢癌细胞 SKOV3 和 Hey 由复旦大学附属妇产科医院分子病理实验室郁茵华教授赠送.

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 SKOV3, Hey 细胞采用含体积分数为 10% 新生牛血清的 RPMI 1640 完全培养液, Chang Liver 采用含体积分数为 10% 新生牛血清的 DMEM 完全培养液, 于 37 ℃, 体积分数为 5% 的 CO₂ 和饱和湿度下培养, 待细胞生长至对数生长期时进行实验.

1.2.2 MTT 法测细胞的生长抑制率 取对数期的 SKOV3, Hey, Chang Liver 细胞, 按每孔 5 × 10⁴ 个细胞培养约 24 h, 使细胞贴壁完全. 根据预试验的结果, 加入 200 μL 药液继续培养 24 h 后, 吸掉上清液, 每孔加入 200 μL 的 MTT(500 μg · mL⁻¹)后, 置于 37 ℃ 温育 4 h, 弃上清; 然后, 每孔加入 200 μL 的 DMSO, 用微孔板快速振荡器振荡 20 min. 在波长 492 nm 处测定吸光值(A), 每个质量浓度设 4 个复孔, 重复 3 遍. 生长抑制率 E 的计算式为

$$E = \frac{A(\text{对照组}) - A(\text{用药组})}{A(\text{对照组}) - A(\text{空白组})} \times 100\%.$$

体外两药联合应用时, 用金正均法(即金氏公式法)求协同指数(Q), 再进行判断拮抗、相加、协同效果. 协同指数计算式为

$$Q = \frac{E_{ab}}{E_a + E_b - E_a \times E_b}.$$

上式中: E_{ab} 为联合用药的抑制率, 即实测合并效应; E_a 和 E_b 为单独用药时的抑制率; (E_a + E_b - E_a × E_b) 为期望合并效应. 当 Q < 0.85 时, 为拮抗; 当 Q 值在 0.85 ~ 1.15 时, 两药合并效应为相加; 当 Q > 1.15 时, 为协同.

1.2.3 吡啶橙(AO)/溴乙锭(EB)染色实验 取对数生长期的 SKOV3, Hey, Chang Liver 细胞, 按每孔 5 × 10⁴ 个细胞接种于 96 孔培养板中, 在 37 ℃, 体积分数为 5% CO₂ 的条件下培养 24 h. 药物处理为

柯里拉京($17\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和 cDDP($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)单独及联合作用 24 h 后,每孔加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ 荧光染色液(含 $50\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 AO 和 EB,即将 AO 和 EB 按体积比 1:1 混合,混合液再与培养液按相应的体积比混合成荧光染色液)染色 5 min. 将 96 孔板置于荧光显微镜下,随机选取 5 个视野观察拍照.

1.2.4 Hoechst 33258 染色 细胞培养及药物处理同上,每孔加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ 荧光染色液(含 $50\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Hoechst 33258,即将 Hoechst 33258 和体积分数为 75% 的冷乙醇按体积比 1:2 混合配成荧光染色液),避光孵育 10 min. 染色完成后,将 96 孔板置于荧光显微镜下,随机选取 5 个视野观察拍照.

1.2.5 线粒体跨膜电位测定 细胞培养及药物处理同上,每孔加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ 的 JC-1 染色工作液后,放在体积分数为 5% 的 CO_2 , $37\text{ }^\circ\text{C}$ 培养箱中,孵育 20 min. 孵育完成后,吸去上清液,用 JC-1 染色缓冲液洗 2 遍,加入 $200\text{ }\mu\text{L}$ 细胞培养液;然后,将 96 孔板置于荧光显微镜下,随机选取 5 个视野观察拍照.

2 实验结果

2.1 柯里拉京单独作用对卵巢癌细胞的抑制效果

采用 MTT 法测定柯里拉京单独作用于卵巢癌细胞 SKOV3, Hey 24 h 后的抑制率,结果如图 1 所示. 图 1 中: η 表示存活率; c 为卵巢癌细胞 SKOV3, Hey 的浓度. 由图 1 可知:柯里拉京对卵巢癌细胞 Hey, SKOV3 的半抑制浓度(IC_{50})值分别为 $19.20, 17.17\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

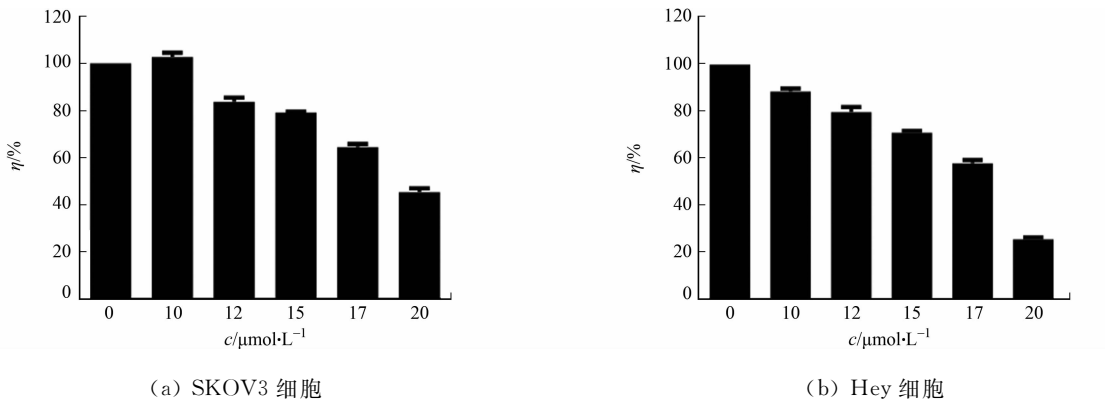


图 1 柯里拉京单独作用后 SKOV3 和 Hey 细胞的存活率

Fig. 1 Survival rate of SKOV3 and Hey cells after single action of corilagin

2.2 柯里拉京与羟基喜树碱和顺铂联合作用效果

柯里拉京联合 HCPT 及 cDDP 对 SKOV3 和 Hey 细胞的抑制率及 Q 值,如表 1 所示. 表 1 中: E_{ab} 为联合用药的抑制率; $c(\text{corilagin})$, $c(\text{HCPT})$, $c(\text{cDDP})$ 分别为柯里拉京, HCPT 和 cDDP 的浓度.

表 1 柯里拉京联合 HCPT 及 cDDP 对 SKOV3 和 Hey 细胞的抑制率及 Q 值($x\pm s, n=4$)

Tab. 1 Inhibition rate and Q value of corilagin combined with HCPT and cDDP on SKOV3 and Hey cells ($x\pm s, n=4$)

| 细胞株 | $c(\text{corilagin})/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ | 柯里拉京与 HCPT 联合作用 | | | 柯里拉京与 cDDP 联合作用 | | |
|-------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|------------------|------|--------------------------------------------------|-----------------|------|
| | | $c(\text{HCPT})/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ | $E_{ab}/\%$ | Q 值 | $c(\text{cDDP})/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ | $E_{ab}/\%$ | Q 值 |
| SKOV3 | 17 | 0.10 | 46.95 ± 6.27 | 1.40 | 10 | 61.70 ± 2.49 | 1.43 |
| | | 0.20 | 51.20 ± 2.39 | 1.36 | 15 | 75.26 ± 0.96 | 1.37 |
| | | 0.40 | 52.86 ± 12.76 | 1.38 | 20 | 79.16 ± 3.63 | 1.38 |
| | | 0.80 | 59.30 ± 7.03 | 1.30 | 40 | 83.36 ± 2.47 | 1.24 |
| | | 1.60 | 59.31 ± 4.45 | 1.16 | 60 | 78.69 ± 1.76 | 1.06 |
| | | | | | | | |
| Hey | 15 | 0.01 | 48.32 ± 2.90 | 1.43 | 5 | 70.80 ± 9.26 | 1.67 |
| | | 0.02 | 48.76 ± 2.45 | 0.98 | 10 | 79.97 ± 3.09 | 1.61 |
| | | 0.04 | 53.40 ± 1.76 | 1.13 | 15 | 77.91 ± 4.79 | 1.57 |
| | | 0.08 | 60.76 ± 6.43 | 1.06 | 20 | 78.36 ± 2.42 | 1.25 |
| | | 0.16 | 62.76 ± 0.58 | 0.89 | 25 | 80.75 ± 3.55 | 0.92 |
| | | | | | | | |

由表 1 可知:将柯里拉京分别与 HCPT, cDDP 联合作用于 SKOV3 细胞、Hey 细胞,与 HCPT, cDDP 单独作用时进行对比,联合作用能够明显降低细胞的 IC_{50} 值,且在所选取的用药浓度中,均有合适浓

度的组合 Q 值($Q>1.15$);柯里拉京与 HCPT 联用,对于 SKOV3 细胞二者具有协同效应,而对于 Hey 细胞二者仅是相加效应;与 cDDP 联用对于 SKOV3,Hey 两种细胞均有协同作用。

2.3 柯里拉京与顺铂联用对细胞形态的影响

柯里拉京与 cDDP 单独或联合作用 SKOV3 细胞、Hey 细胞的形态学变化,如图 2,3 所示。

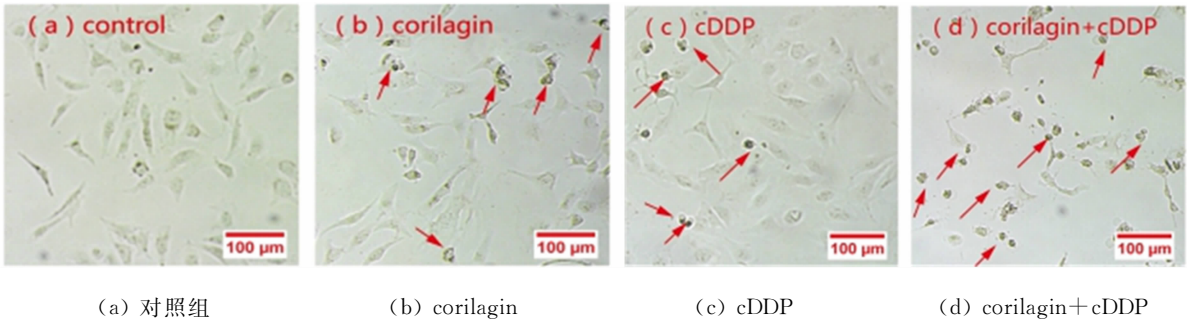


图 2 柯里拉京与 cDDP 单独或联合作用 SKOV3 细胞的形态学变化

Fig. 2 Morphological changes of SKOV3 cells treated with corilagin and cDDP alone or in combination

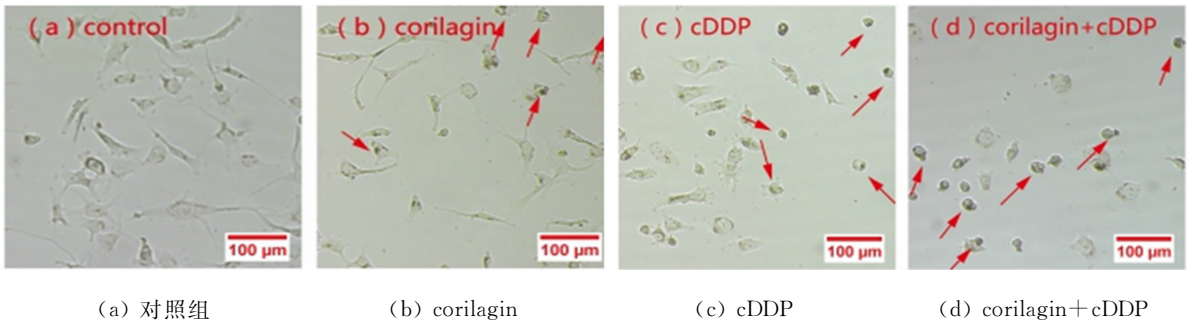


图 3 柯里拉京与 cDDP 单独或联合作用 Hey 细胞的形态学变化

Fig. 3 Morphological changes of Hey cells treated with corilagin and cDDP alone or in combination

由图 2 可知:对于 SKOV3 细胞,对照组细胞贴壁舒展均匀,长势良好;柯里拉京与 cDDP 单独用药组,细胞数量略为减少,部分细胞呈现出典型的凋亡形态,紧缩变圆,体积变小,细胞核皱缩;联合用药组的细胞减少量较单独用药组多,且几乎全部细胞呈现出典型的凋亡形态.所有用药组与对照组相比,细胞形态都有明显变化,且联合用药组的变化比单独用药组的变化更为明显.由图 3 可知:柯里拉京与 cDDP 单独和联合作用对 Hey 细胞的抑制效果与对 SKOV3 的抑制效果相似。

2.4 吖啶橙/溴化乙啶双染法观察细胞凋亡

采用 AO/EB 双染色法,观察柯里拉京与 cDDP 单独或联合作用 SKOV3,Hey 的细胞凋亡情况,如图 4,5 所示.图 4,5 中:箭头所指为凋亡细胞。

由图 4 可知:对于 SKOV3 细胞,对照组细胞核发出均匀弥散绿色荧光;柯里拉京与 cDDP 单独用药组,细胞数量减少,部分细胞核体积变小,发出橘红色荧光;联合用药组细胞数量减少,几乎全部细胞核体积变小发出橘红色荧光.即联合用药组呈橘红色细胞的比例比单独用药组的有显著的提高.由图 5

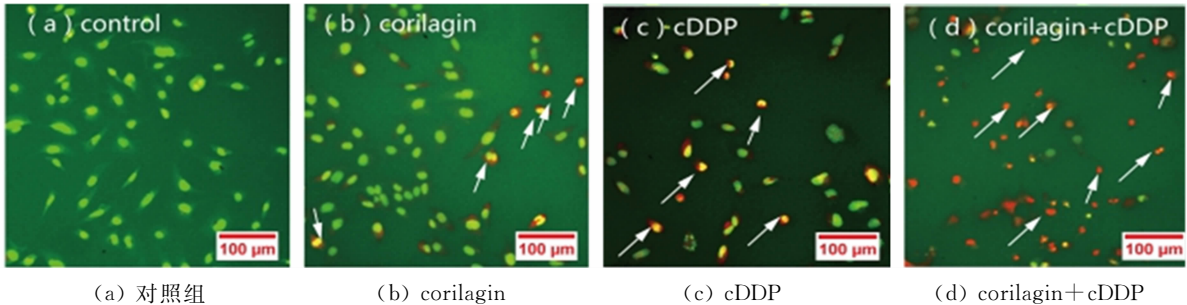
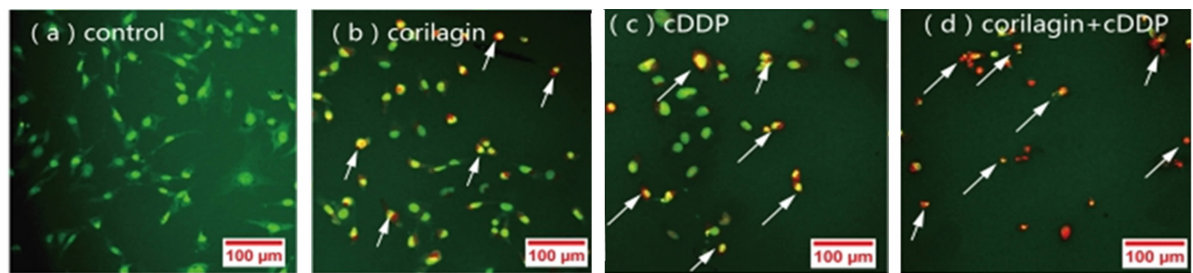


图 4 柯里拉京与 cDDP 单独或联合作用 SKOV3 细胞凋亡的形态学观察

Fig. 4 Morphological observation of apoptosis in SKOV3 cells induced by corilagin and cDDP alone or in combination



(a) 对照组 (b) corilagin (c) cDDP (d) corilagin+cDDP

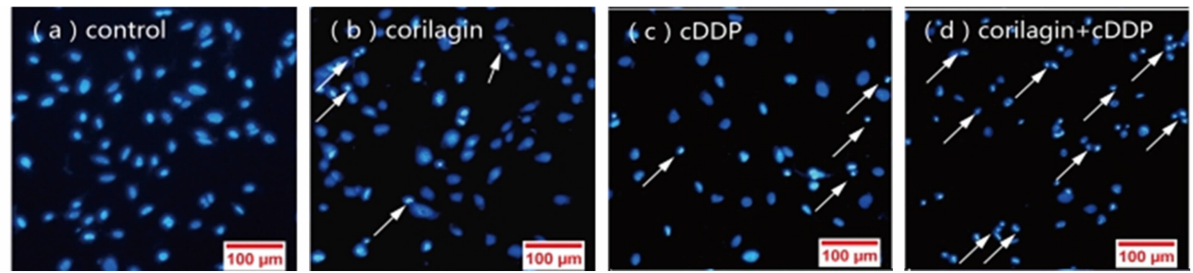
图 5 柯里拉京与 cDDP 单独或联合作用 Hey 细胞凋亡的形态学观察

Fig. 5 Morphological observation of apoptosis in Hey cells induced by corilagin and cDDP alone or in combination

可知:柯里拉京与 cDDP 单独和联合作用对 Hey 细胞的抑制效果与对 SKOV3 的抑制效果相似。

2.5 Hoechst 33258 染色观察细胞凋亡

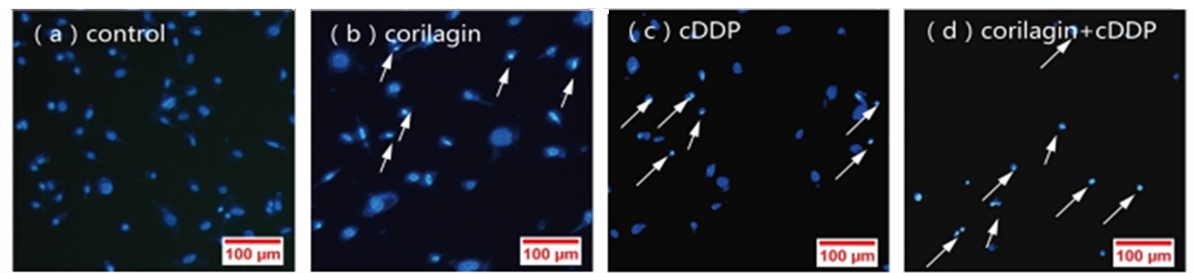
采用 Hoechst 33258 染色法,观察柯里拉京与顺铂单独或联合作用诱导 SKOV3,Hey 的细胞凋亡情况,如图 6,7 所示.图 6,7 中:箭头所指为凋亡细胞。



(a) 对照组 (b) corilagin (c) cDDP (d) corilagin+cDDP

图 6 柯里拉京与顺铂单独或联合作用诱导 SKOV3 细胞凋亡的形态学观察

Fig. 6 Morphological observation of apoptosis in SKOV3 cells induced by corilagin and cDDP alone or in combination



(a) 对照组 (b) corilagin (c) cDDP (d) corilagin+cDDP

图 7 柯里拉京与顺铂单独或联合作用诱导 Hey 细胞凋亡的形态学观察

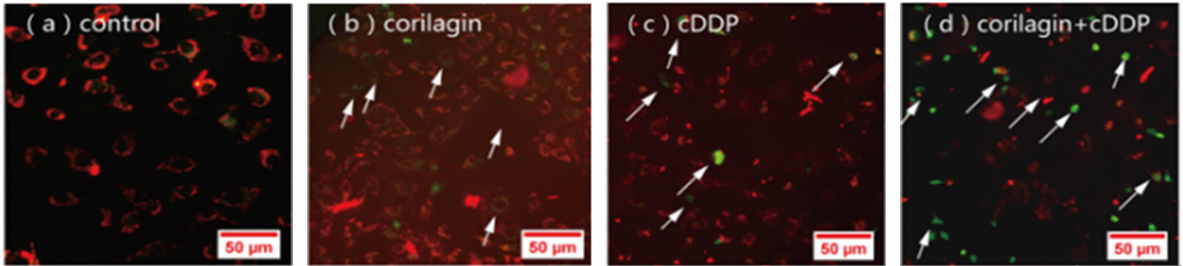
Fig. 7 Morphological observation of apoptosis in Hey cells induced by corilagin and cDDP alone or in combination

由图 6 可知:对于 SKOV3 细胞,对照组细胞核发出的蓝色荧光呈均匀弥散且较弱;柯里拉京与 cDDP 单独用药组,细胞数量减少,部分细胞核发出明亮的蓝色荧光;联合用药组细胞数量减少,几乎全部细胞核都发出明亮的蓝色荧光.即联合用药组呈明亮蓝色荧光细胞的比例比单独用药组的有显著提高.由图 7 可知:柯里拉京与 cDDP 单独和联合作用诱导 Hey 细胞凋亡的效果与对 SKOV3 的效果相似。

2.6 JC-1 检测线粒体膜电位

采用 JC-1 检测线粒体膜电位,结果如图 8,9 所示。

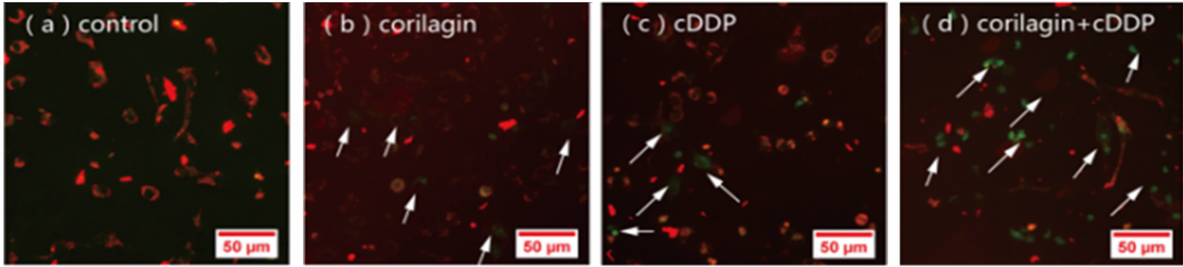
由图 8 可知:对照组细胞均发出红色荧光;柯里拉京与 cDDP 单独用药组,细胞数量减少,部分细胞呈绿色荧光;联合用药组细胞数量减少,几乎全部细胞都发出绿色荧光.即联合用药组呈绿色荧光的细胞的比例比单独用药组的有显著的提高.由图 9 可知:柯里拉京与 cDDP 单独和联合作用诱导 Hey 细胞凋亡的效果与对 SKOV3 的效果相似。



(a) 对照组 (b) corilagin (c) cDDP (d) corilagin+cDDP

图 8 柯里拉京与 cDDP 单独或联合作用引起 SKOV3 细胞跨膜电位的变化

Fig. 8 Changes of transmembrane potential of SKOV3 cells caused by corilagin and cisplatin alone or in combination



(a) 对照组 (b) corilagin (c) cDDP (d) corilagin+cDDP

图 9 柯里拉京与 cDDP 单独或联合作用引起 Hey 细胞跨膜电位的变化

Fig. 9 Changes of transmembrane potential of Hey cells caused by corilagin and cisplatin alone or in combination

3 分析与讨论

中药及其有效成分是近年来肿瘤治疗研究的热点之一^[14]. 柯里拉京是一种具有多种药理活性的天然产物^[15], 它具有良好的抗肿瘤、抗炎活性, 是一个极具开发潜力的单宁类物质. 日本学者 Okabe 等从传统中草药中筛选肿瘤预防剂的研究中发现, 柯里拉京能抑制肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的分泌, 从而对肿瘤的发生有一定化学预防作用. Gambari 等^[16]研究发现, 柯里拉京能够抑制小鼠体内的人肝癌细胞 (Hep3B) 的生长, 而且不会对小鼠的肝功能造成损伤. Jia 等^[9]发现, 柯里拉京可以引起卵巢癌 (SKOV3, Hey) 细胞周期 G2/M 的阻滞, 并且能通过下调 p-Akt, p-ERK, p-Smad 等凋亡相关蛋白引起卵巢癌细胞的凋亡, 但对正常卵巢上皮细胞 (NOE01, NOE02, NOE03) 的毒性作用却非常低.

研究结果显示, 柯里拉京单独作用对卵巢癌细胞 Hey, SKOV3 有明显的抑制作用, 表明柯里拉京对卵巢癌细胞的生长具有抑制作用. 当浓度为 $17 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的柯里拉京与不同浓度的 HCPT 和 cDDP 联合用药后, 作用于 SKOV3 的抑制率随着联合用药的浓度增大而不断增加; 当浓度为 $15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的柯里拉京与不同浓度的 HCPT 和 cDDP 联合用药后, 作用于 Hey 的抑制率随着联合用药浓度的增大也不断增加. 说明柯里拉京可增强 cDDP 对卵巢癌细胞 SKOV3, Hey 的增殖抑制作用, 提高两种细胞对 cDDP 的敏感性, 且柯里拉京与 cDDP 联用对于 SKOV3, Hey 细胞二者联用均有协同作用 ($Q > 1.15$). 另外, 柯里拉京与 HCPT 联合用药对于 SKOV3 细胞, 二者具有协同效应 ($Q > 1.15$), 虽然对于 Hey 细胞不产生协同效果, 但有相加效应, 这表明柯里拉京具有化疗协同或相加作用, 且具有一定的抗卵巢癌广谱性.

柯里拉京对肿瘤细胞抑制作用为其抗肿瘤的研究提供了更多的实验依据, 其与 cDDP 的联合应用也为肿瘤的临床联合用药拓宽了思路. 抑制形态学观察实验表明, 联合用药对卵巢癌细胞的杀伤作用与单独用药相比有显著的提高. JC-1 线粒体膜电位检测联合用药组较多细胞膜电位发生下降, 表明柯里拉京可以促进线粒体膜电位发生变化, 推测其有可能引起凋亡相关因子的释放, 促进细胞凋亡. 这为柯里拉京与铂类药物联合用药的机理研究提供了参考. 由于文中研究是体外细胞学实验, 与体内药物学实验有一定的差距, 化疗增敏的机制尚不清楚, 真正应用于临床还需要进行更加深入的研究.

参考文献:

[1] ZHOU Jie,ZHANG Ci'an,SUN Yuanyuan,*et al.* Corilagin attenuates allergy and anaphylactic reaction by inhibiting degranulation of mast cells[J]. Medical Science Monitor International Medical Journal of Experimental and Clinical Research,2018,24:891-896. DOI:10.12659/MSM.906098.

[2] KINOSHITA S,INOUE Y,NAKAMA S,*et al.* Antioxidant and hepatoprotective actions of medicinal herb, *Terminalia catappa* L. from Okinawa Island and its tannin corilagin[J]. Phytomedicine,2007,14(11):755-762. DOI:10.1016/j.phymed.2006.12.012.

[3] GUO Yuanjin,ZHAO Lei,LI Xiaofeng,*et al.* Effect of corilagin on anti-inflammation in HSV-1 encephalitis and HSV-1 infected microglia[J]. European Journal of Pharmacology,2010,635(1/2/3):79-86. DOI:10.1016/j.ejphar.2010.02.049.

[4] DENG Yuan,LI Xudan,LI Xuan,*et al.* Corilagin induces the apoptosis of hepatocellular carcinoma cells through the mitochondrial apoptotic and death receptor pathways[J]. Oncology Reports,2018,39(6):2545-2552. DOI:10.3892/or.2018.6396.

[5] SASIDHARAN I,SUNDARESAN A,NISHA V M,*et al.* Inhibitory effect of *Terminalia chebula* Retz. fruit extracts on digestive enzyme related to diabetes and oxidative stress[J]. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry,2012,27(4):578-586. DOI:10.3109/14756366.2011.603130.

[6] 刘朝阳,王德昌,陈玉武,等. 柯里拉京抗肿瘤作用的研究[J]. 肿瘤防治研究,2002,29(5):356-358. DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2002.05.003.

[7] HONMA A,KOYAMA T,YAZAWA K. Antihyperglycemic effects of Japanese maple *Acer amoenum*, leaf extract and its constituent corilagin[J]. Journal of Wood Science,2010,56(6):507-512. DOI:10.1007/s10086-010-1130-5.

[8] MING Yanlin,ZHENG Zhizhong,CHEN Lianghua,*et al.* Corilagin inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation by inducing G2/M phase arrest[J]. Cell Biology International,2013,37(10):1046-1054. DOI:10.1002/cbin.10132.

[9] JIA Luoqi,JIN Hongyan,ZHOU Jiayi,*et al.* A potential anti-tumor herb medicine, corilagin, inhibits ovarian cancer cell growth by blockage of TGF- β /AKT/ERK signaling pathways [J]. BMC Complementary and Alternative Medicine,2013,13(1):33-44. DOI:10.1186/1472-6882-13-33.

[10] 康健,张岩岩,陈冬,等. 柯里拉京对人喉癌 Hep-2 细胞生长的研究[J]. 中药药理与临床,2012,28(6):24-27. DOI:10.13412/j.cnki.zyyl.2012.06.010.

[11] GU Yue,XIAO Linfeng,MING Yanlin,*et al.* Corilagin suppresses cholangiocarcinoma progression through Notch signaling pathway *in vitro* and *in vivo* [J]. International Journal of Oncology,2016,48(5):1868-1876. DOI:10.3892/ijo.2016.3413.

[12] 明艳林,郁茵华,陈良华,等. 柯里拉京在制备抗肿瘤药物中的应用: 中国,CN101879173A[P]. 2010-11-10.

[13] 童宇星. Corilagin 的提取制备及其抗肿瘤作用机制研究[D]. 厦门:华侨大学,2012.

[14] 徐韬,许瑞安. 中药及其有效成分抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 华侨大学学报(自然科学版),2009,30(4):359-365. DOI:10.11830/ISSN.1000-5013.2009.04.0359.

[15] 陈一燕,陈崇宏. 柯里拉京药理活性研究进展[J]. 中国现代应用药学,2010,27(5):390-394. DOI:10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2010.05.005.

[16] GAMBARI R,HAU D K,WONG W Y,*et al.* Sensitization of Hep3B hepatoma cells to cisplatin and doxorubicin by corilagin[J]. Phytotherapy Research,2014,28(5):781-783. DOI:10.1002/ptr.5049.

(责任编辑: 黄晓楠 英文审校: 刘源岗)