

齐墩果酸和熊果酸的抗肿瘤机制

杨夕鸣¹, 许润时¹, 罗旺¹, 陶阳阳¹, 蔺婷^{3,4,5}, 张乐轩¹,
邓璐瑶², 许玉峰³, 何迎春^{1,4,5*}

(¹湖南中医药大学医学院, 长沙 410208; ²湖南中医药大学中医学院, 长沙 410208; ³湖南中医药大学中西医结合学院, 长沙 410208; ⁴中医药防治眼耳鼻喉疾病湖南省重点实验室, 长沙 410208; ⁵湖南省中医药防治眼耳鼻喉疾病与视功能保护工程技术研究中心, 长沙 410208)

摘要: 齐墩果酸和熊果酸均为五环三萜类天然化合物, 多以游离或糖苷形式广泛存在于女贞子、夏枯草和山楂等植物中, 抗肿瘤谱广。二者药理作用相似, 但在体内外抗肿瘤的作用机制有所不同, 具有多条抗肿瘤途径, 包括预防肿瘤形成、抑制肿瘤细胞增殖与诱导分化、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤微循环、逆转放化疗耐药、免疫调节等。本文旨在比较二者在体内外抗肿瘤机制的不同之处, 总结二者抗肿瘤的关键分子机制, 为深入研究这两种中药单体的抗肿瘤作用提供参考。

关键词: 齐墩果酸; 熊果酸; 抗肿瘤作用; 分子机制

Anti-tumor mechanism of isomers oleanolic acid and ursolic acid

YANG Ximing¹, XU Runshi¹, LUO Wang¹, TAO Yangyang¹, LIN Ting^{3,4,5}, ZHANG Lexuan¹,
DENG Luyao², XU Yufeng³, HE Yingchun^{1,4,5*}

(¹Medical College, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China; ²College of Traditional Chinese Medicine, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China; ³College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China; ⁴Hunan Key Laboratory for Prevention and Treatment of Eye, Ear, Nose and Throat Diseases with Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China; ⁵Hunan Engineering Technology Research Center of TCM Prevention and Treatment of Eye, Otorhinolaryngology and Visual Function Protection, Changsha 410208, China)

Abstract: Oleanolic acid and ursolic acid are pentacyclic triterpenoids, which are widely found in plants such as *Ligustrum lucidum*, *Prunella vulgaris* and *Hawthorn* in the form of free or glycosides. Their pharmacological effects are similar, but their anti-tumor mechanisms are different *in vivo* and *in vitro*, and they have many anti-tumor pathways, including preventing tumor formation, inhibiting tumor cell proliferation and inducing differentiation, inducing tumor cell apoptosis, inhibiting tumor microcirculation, reversing radiotherapy and chemotherapy drug resistance, immune regulation and so on. The purpose of this paper is to compare the differences of their anti-tumor mechanisms *in vivo* and *in vitro*, summarize the key molecular mechanisms of their anti-tumor mechanisms, and provide references for the further studies of the anti-tumor effects of these two kinds of traditional Chinese medicine monomers.

收稿日期: 2022-01-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(81874408); 湖南省自然科学基金项目(2020JJ5419); 湖南省中医药管理局项目(2021014); 2021年湖南中医药大学大学生创新课题; 湖南省大学生创新课题基金项目(S202010541029)

第一作者: E-mail: 892286123@qq.com

*通信作者: E-mail: yingchunhe@aliyun.com

Key Words: oleanolic acid; ursolic acid; anti-tumor effect; molecular mechanism

齐墩果酸(oleanolic acid, OA)与熊果酸(ursolic acid, UA)均属五环三萜类天然化合物,二者互为同分异构体,药理作用相似,均具有抗肿瘤、抗炎、保肝、增强机体免疫等作用。但是有研究表明,这对同分异构体在抗肿瘤方面常表现出不同的药效,目前仍不清楚这是否与二者的结构差异有关,值得深入探究。接下来,本文就OA和UA的化学结构以及近年来二者抗肿瘤的机制作一综述,以期为进一步研究和应用提供参考依据。

1 OA和UA的化学结构

在自然界中,OA和UA主要以游离酸或者三萜皂苷的苷元前体形式存在,在油橄榄科植物中尤为普遍。OA和UA互为同分异构体,分子式为 $C_{30}H_{48}O_3$,相对分子质量为456.71,区别在于二者在五环三萜E环的甲基异构,即:OA的甲基位于C-19位,而UA的甲基位于C-20位^[1]。

2 OA和UA的抗肿瘤机制

2.1 预防肿瘤形成

始发突变和促癌是肿瘤形成的可逆阶段。已有研究表明,OA和UA都能干扰上述过程,起到抗始发突变和抗促癌作用^[2]。

OA的预防作用包括抑制致癌物的活化和保护DNA免受氧化损伤。研究表明,OA化学预防作用的靶点之一可能是细胞色素P450,OA抑制其代谢活性进而抑制一些致癌物如1,2-二甲基肼的活化^[3]。在鼠白血病L1210和K562细胞中,Ovesná等^[4]用单细胞凝胶电泳测得,OA预处理可使K562细胞的DNA链断裂水平最高降低71.1%,而UA最高为54.4%,表明OA的抗氧化活性明显高于UA,能更有效地保护 H_2O_2 诱导的DNA损伤,且该作用与二者甲基位置不同有关。此外,OA呈浓度依赖性降低了人正常乳腺上皮细胞DNA的氧化损伤,同时,促进了乳腺癌MDA-MB-231细胞的DNA损伤,提示OA介导的DNA损伤可能具有双向作用^[5]。

与OA不同的是,UA不仅可以抗DNA损伤,还可以增强DNA修复活性。Furtado等^[3]证实,UA能抑制致癌物1,2-二甲基肼诱导的大鼠结肠癌前病变,其机制可能是UA通过清除自由基阻止脂质过氧化进而控制氧化损伤。Ramos等^[6]证实,OA和UA都未诱导脂质过氧化。他们进一步研究发现,UA能增加 H_2O_2 处理后结肠癌Caco-2细胞DNA的修复活性。此外,UA还可以抑制COX-2水平^[7]。花生四烯酸途径代谢的环氧合酶(cyclooxygenase, COX)已被认为是癌症的新型预防和治疗靶点,COX-2常在乳腺癌中高表达^[7],提示了UA有望作为COX-2抑制剂预防肿瘤形成。

2.2 抑制肿瘤细胞的增殖与诱导分化

2.2.1 抑制肿瘤细胞增殖

诱导细胞周期阻滞是目前许多化疗药物抑制肿瘤细胞增殖的作用途径,OA和UA也有类似的作用,且对细胞毒性更小。抑制CyclinD1和CDK4的表达有助于调控肿瘤细胞的增殖进程。李学超^[8]研究发现,OA能下调PI3K/Akt信号通路,阻止GSK-3 β 的磷酸化,抑制GSK-3 β 对CyclinD1表达的促进作用,最后阻滞前列腺癌细胞于G₀/G₁期。同时,Li等^[9]发现,OA能抑制胃癌细胞增殖,其机制可能与下调CyclinA和CDK2有关。上述研究结果说明,OA阻滞不同的癌细胞增殖可能与其调控不同的细胞周期相关蛋白有关。此外,microRNA可以抑制癌细胞的增殖和侵袭,已有研究表明,OA可以通过调节miR-122/CyclinG1/MEF2D轴导致肺癌细胞周期阻滞^[10]。UA也被证明有调节microRNA的能力,但常表现为诱导癌细胞凋亡^[11]。

UA同样具有阻滞细胞周期的作用,但与OA作用的时期有所不同。Weng等^[12]发现,UA同样能破坏胆囊癌细胞DNA合成,但阻滞其于S期。不过,UA作用的时期主要为G₁期,这可能与抑制CDK活性和启动p53/p21通路有关^[13]。

2.2.2 诱导肿瘤细胞分化

肿瘤细胞的分化治疗往往采用诱导剂而非细胞毒性化合物,故毒副作用较传统化疗小。如果治疗得当,肿瘤细胞可能会失去增殖能力并发生

终末分化或凋亡。OA和UA的抗增殖作用都与诱导肿瘤细胞分化密切相关。Rawendra等^[14]发现, OA和UA都能诱导白血病细胞分化, 但OA的诱导作用似乎更强。他们进一步研究发现, OA能使外周血白血病细胞向正常白细胞分化, 减少外周血及骨髓的幼稚细胞数量, 抑制白血病细胞增殖。UA诱导分化的特异性较高, 可能与其靶向抑制内源性逆转录酶(reverse transcriptase, RT)有关。Bonaccorsi等^[15]发现, 经UA处理后的人类黑色素瘤A375和甲状腺间变性癌ARO细胞系中, 细胞表型更加扁平, 簇状形成显著减少。去除UA后, RT水平升高, 细胞增殖被上调。与上述两种癌细胞相比, 人成纤维细胞WI-38没有受UA影响。

2.3 诱导肿瘤细胞凋亡

细胞凋亡是细胞内在的自杀过程, 可由细胞内和细胞外信号触发, 常伴有细胞核和细胞质浓缩以及凋亡小体形成等。OA和UA抗肿瘤的重要机制之一就是诱导肿瘤细胞凋亡, 其作用途径包括: 线粒体通路(内源性途径)、死亡信号通路(外源性途径)和内质网应激通路。

2.3.1 线粒体通路

线粒体膜通透性的改变是线粒体通路活化的关键事件。细胞色素C(cytochrome C, CytC)与细胞凋亡关系紧密。研究表明, OA推动了凋亡复合体(CytC/Apaf-1/pro-caspase-9)的组装过程。Maphanao等^[16]发现, UA还能下调Bcl-2/Bax的表达比例, 使膜通透性增加, CytC释放进入细胞质, 启动凋亡级联反应, 同时, 线粒体的膜电位亦增高。线粒体通路活化的另一关键事件就是线粒体膜电位的改变。但亦有研究表明, UA能呈浓度依赖性地使TC-1癌细胞的线粒体膜电位降低, 线粒体膜电位的不同改变可能与不同的细胞系有关^[17]。李开瑞等^[18]通过JC-1染色等检测发现, 与对照组的红色荧光相比, OA低浓度组、高浓度组的绿色荧光显著升高, 线粒体膜电位降低, 提示细胞可能发生了凋亡。

除此之外, 有证据表明, 丝切蛋白1(cofilin-1)在线粒体通路上游扮演了重要角色。Rui等^[19]通过免疫荧光发现, cofilin-1的线粒体移位参与了CytC的释放, 进而促进caspase-3和caspase-9活化, 诱导胃癌SGC-7901细胞发生凋亡。在OA和UA诱导的

线粒体途径中, 二者对下游分子机制的影响相似, 但UA率先表现出调控线粒体上游凋亡信号(如cofilin-1)的作用。这是目前二者较大的不同之处。

以往的观点认为, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)在OA和UA诱导的线粒体途径中起关键作用。Liese等^[20]运用ROS清除剂 α -生育酚保护经OA处理后的肝癌HCC细胞免受死亡, 提示ROS可能是OA诱导的细胞凋亡所必需的。然而, ROS非依赖性的线粒体途径也是五环三萜诱导细胞凋亡的方式之一。有研究表明, 细胞骨架中的肌动蛋白参与了五环三萜诱导细胞凋亡的一般过程^[21]。Martin等^[22]发现, 经OA和另一种五环三萜酸——山楂酸处理后的人1321N1星形细胞瘤细胞, ROS水平虽有升高但先于凋亡的发生。细胞主要表现出黏附性受损、肌动蛋白细丝断裂、细胞中心的F-肌动蛋白标记增强等变化, 伴细胞变圆和星形形态消失, 进而发生凋亡。上述结果表明, ROS的显著增加和肌动蛋白变构可能分别参与了不同细胞系中的凋亡过程, 提示了OA或UA诱导的细胞凋亡途径可能并非单一而是存在交互的。

2.3.2 死亡信号通路

Fas/FasL信号通路与OA和UA诱导的细胞凋亡联系紧密。Fas和FasL在肿瘤细胞中常低表达^[23], OA和UA可以对Fas、FasL的表达和上述活化过程产生影响, 进而诱导肿瘤细胞凋亡。

薛芳喜^[24]的研究表明, OA可以上调Fas mRNA的表达, 但对FasL的表达无明显影响。虞燕霞等^[25]在用多种染色法证实UA诱导肝癌SMMC-7721细胞凋亡后, 通过RT-PCR发现, UA可以上调p53进而增强Fas的表达。Zhang等^[26]发现, UA还可以通过抑制Akt磷酸化来上调FasL表达。他们进一步运用siRNA技术证明, 降低FasL表达可显著抑制UA诱导的caspase-8活化, 减少细胞凋亡, 提示了UA诱导细胞凋亡的作用依赖Fas/FasL通路。

2.3.3 内质网应激通路

内质网参与了 Ca^{2+} 储备和信号转导等过程。OA和UA通过调控细胞内 Ca^{2+} 和ROS水平引起内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS), 诱导肿瘤细胞凋亡。Lin等^[27]发现, UA呈剂量依赖性上调CHOP、p-eIF2 α 等蛋白的表达, 通过触发ERS, 激活了胰腺癌细胞的凋亡相关途径。黄开顺等^[28]

证实, OA可以增加肝癌Hep3B细胞内的 Ca^{2+} 浓度;线性相关分析显示,随着细胞内 Ca^{2+} 荧光强度增大,细胞凋亡率增加,提示OA可能通过增加 Ca^{2+} 浓度诱导细胞凋亡。然而,在内质网应激与内质网通路的活化之间,还存在caspase的级联激活等过程,目前这方面的研究仍较少。

2.4 抑制肿瘤微循环

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的高表达是血管生成和血管生成拟态(vasculogenic mimicry, VM)发生的重要诱因,因此抗VEGF治疗是公认的抑制肿瘤微循环方式。OA可以下调VEGF表达,抑制黑色素瘤发生肺转移^[29]。OA还能通过抑制STAT3和SHH信号通路激活,抑制VEGF-A和成纤维细胞生长因子的表达^[30]。UA不仅能降低VEGF水平,其效果优于卡培他滨^[31];还可以抑制EGF受体表达,阻碍肿瘤血管生成。

在缺氧条件下,肿瘤细胞中缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)的高表达也会引起VM。结肠癌中VM的存在已被证实^[32],因此靶向HIF-1 α 的治疗具有一定价值。研究发现,OA呈浓度依赖性增加NOX2和ROS生成,通过NOX2/ROS/HIF-1 α 轴抑制HIF-1 α 表达进而抑制结肠癌细胞增殖^[33],提示OA可能具有抑制VM形成的作用。无独有偶,Shan等^[34]发现,UA也可以抑制结肠癌细胞中HIF-1 α 、VEGF的表达,而且还能下调MDR1的表达,在缺氧条件下增加结肠癌细胞对5-FU和顺铂的敏感性。

2.5 逆转放化疗耐药

肿瘤多药耐药(multidrug resistance, MDR)的发展是一个复杂的过程,与药物外排增加、相关酶表达异常、耐药基因过表达等机制或这些机制的组合有关^[35]。许多化疗药物(如甲氨蝶呤)的主要作用是抑制关键酶,而癌细胞可以通过增强编码该酶的基因的转录来逆转这一抑制作用^[36]。丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)的表达增强已被证明在乳腺癌化疗后的耐药中起重要作用。Amara等^[37]利用特异性酶活性分析发现,OA处理高盐介导的渗透应激诱导的乳腺癌MDA-MB-231细胞后,PK活性降低了58.7%,说明PK引起的化疗耐药作用可

被OA有效逆转。

辅助敏感剂与抗癌药物的结合是OA和UA逆转化学耐药性共同的新策略。当OA与自噬抑制剂3-MA结合后,可以更好地发挥其抗癌作用。Villar等^[38]发现,80 $\mu\text{mol/L}$ 的OA将阿霉素的抗肿瘤效果提高了2.3倍,在分子水平上,抑制了多药耐药蛋白MRP-1介导的药物外排活动,但P糖蛋白没有被抑制。与OA相比,UA逆转MDR的机制有所不同。MDR1的过度表达是肿瘤细胞产生多药耐药的主要因素。Ramos等^[6]通过构建阿霉素耐药的卵巢癌细胞,发现UA降低其对阿霉素的耐药性的机制可能是通过介导Hur/MDR1轴实现的。UA通过促进Hur蛋白的胞核转位,降低MDR1 mRNA的稳定性,从而降低了MDR1的表达。此外,UA和奥沙利铂能协同抑制结肠癌RKO细胞的增殖,增加caspase-3、caspase-8和caspase-9的表达水平^[39,40],诱导RKO细胞凋亡。Manouchehri等^[41]还发现,UA可以增加Fas4和Fas5受体的表达,降低c-FLIPL转录,进而增强rhTRAIL耐药的乳腺癌TNBC细胞对rhTRAIL的敏感性。上述研究表明,UA的作用机制包括经线粒体或死亡受体途径诱导肿瘤细胞凋亡,实现了对MDR的逆转。

2.6 免疫调节

OA和UA的免疫调节作用是通过调控肿瘤微环境实现的,进而减少肿瘤细胞的免疫逃逸。其主要机制包括:(1)调节细胞因子;(2)调节T细胞亚群;(3)抑制NF- κB 表达水平;(4)阻滞肿瘤相关巨噬细胞分化等。此外,Gao等^[2]在经OA和UA处理后的裸鼠中检测到T细胞和NK细胞群体,说明二者可能通过刺激固有免疫系统发挥作用,从而抑制肿瘤生长。

NF- κB 和PD-L1过表达都会抑制T细胞对胃癌MKN-45细胞的杀伤活性。研究表明,OA能阻断胃癌细胞中的IL-1 β /NF- κB /TET3轴,导致PD-L1的DNA低甲基化和下调,这一作用与OA抑制NF- κB 表达水平有关^[42]。Xu等^[43]用OA处理胃癌细胞后,观察到miR-98-5p的上调和IL-6的下调,进而Treg/Th17平衡恢复。UA也被证明具有抑制肿瘤组织中IL-6信号通路激活的能力。乐红红等^[44]发现,UA能抑制肠癌细胞中IL-6、STAT3 mRNA的表达水平阻止信号转导;同时通过调控肿瘤微环境,减弱

骨髓来源的抑制细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)介导的免疫抑制作用,抑制小鼠肠癌细胞发生免疫逃逸。田力等^[45]发现,荷瘤小鼠经UA处理后,血清中IL-2和TNF- α 水平以及T细胞亚群数量显著提升,且荷瘤小鼠肠道的有益菌丰度有所提升,提示UA还具有调控菌群紊乱的能力。上述研究表明,UA和OA免疫调节的机制不尽相同。

3 OA和UA的共同点与中医运用

OA和UA除了上述的不同之外,在抗肿瘤方面亦有诸多相同之处。例如,从传统中药枇杷中提取的OA和UA均能抑制肺腺癌A549细胞增殖^[2];OA和UA还能通过相同的机制发挥抗肿瘤效应,如选择性阻滞黑色素瘤细胞于G₀/G₁期,而对人间充质干细胞没有影响^[46];呈浓度依赖性下调VEGF、HIF-1 α ,抑制肿瘤微循环等。

OA和UA同为中药单体,具有诸多功效,在中医方面的运用颇多。例如,益气解毒方是基于鼻咽癌“气虚染毒”病理机制建立的中药复方。OA和UA能呈剂量依赖性抑制鼻咽癌细胞增殖,被证明是益气解毒方发挥“补益正气,清热解毒”功效的主要三萜类化合物^[47]。例如,OA和UA与复方肠泰发挥“扶正祛邪,益气健脾”的功效密切相关,能诱导结直肠癌细胞自噬^[48];再如,中医的“引经之说”源于《神农本草经》,OA能通过“引经”作用增强大黄素的肝靶向性,发挥抗肝癌效应等^[49]。中药的成分复杂,机制多样,OA和UA能通过相同的机制发挥抗肿瘤效应,但也正因二者存在相同的靶点,二者能否配伍运用,共存时是否会发生协同或拮抗作用,值得进一步探究。

4 结语

OA和UA对肿瘤既有直接抑制作用,也可通过调控机体免疫力产生间接的抗肿瘤效应。免疫治疗的年代已经来临,最新的研究发现OA除了能下调PD-L1,还可以调控Treg/Th17平衡,证明OA在免疫调节方面颇具潜力。然而,OA和UA的水溶性差和生物利用度低,是限制二者应用的关键问题。已有一些研究针对OA或UA母环的结构修饰,或包装成纳米载体、脂质体的新剂型。虽然通过

结构修饰或剂型优化,二者的水溶性和生物利用度有所改善,但仍不甚理想。与此同时,如何在提升OA和UA疗效的同时保证其生物安全性,也是需要关注的问题之一。

参考文献

- [1] Shi Y, Leng Y, Liu D, et al. Research advances in protective effects of ursolic acid and oleanolic acid against gastrointestinal diseases. *Am J Chin Med*, 2021, 49(2): 413-435
- [2] Gao YS, Yuan Y, Song G, et al. Inhibitory effect of ursolic acid and oleanolic acid from *eriobotrya fragrans* on A549 cell viability *in vivo*. *Genet Mol Res*, 2016, 15(2): doi: 10.4238/gmr.152864
- [3] Furtado RA, Rodrigues EP, Araújo FRR, et al. Ursolic acid and oleanolic acid suppress preneoplastic lesions induced by 1,2-dimethylhydrazine in rat colon. *Toxicol Pathol*, 2008, 36(4): 576-580
- [4] Ovesná Z, Kozics K, Slamenová D. Protective effects of ursolic acid and oleanolic acid in leukemic cells. *Mutat Res Fundamental Mol Mech Mutagenesis*, 2006, 600(1-2): 131-137
- [5] Sánchez-Quesada C, López-Biedma A, Gaforio J. Oleanolic acid, a compound present in grapes and olives, protects against genotoxicity in human mammary epithelial cells. *Molecules*, 2015, 20(8): 13670-13688
- [6] Ramos AA, Pereira-Wilson C, Collins AR. Protective effects of ursolic acid and luteolin against oxidative DNA damage include enhancement of DNA repair in Caco-2 cells. *Mutat Res Fundamental Mol Mech Mutagenesis*, 2010, 692(1-2): 6-11
- [7] Jaman MS, Sayeed MA. Ellagic acid, sulforaphane, and ursolic acid in the prevention and therapy of breast cancer: current evidence and future perspectives. *Breast Cancer*, 2018, 25(5): 517-528
- [8] 李学超. 齐墩果酸在人前列腺癌细胞中的抗癌疗效及其作用机制[D]. 武汉: 华中科技大学, 2016
- [9] Li Y, Xu Q, Yang W, et al. Oleanolic acid reduces aerobic glycolysis-associated proliferation by inhibiting yes-associated protein in gastric cancer cells. *Gene*, 2019, 712: 143956
- [10] Zhao X, Liu M, Li D. Oleanolic acid suppresses the proliferation of lung carcinoma cells by miR-122/Cyclin G₁/MEF2D axis. *Mol Cell Biochem*, 2015, 400(1-2): 1-7
- [11] Kim K, Shin EA, Jung JH, et al. Ursolic acid induces apoptosis in colorectal cancer cells partially via upregulation of microRNA-4500 and inhibition of JAK2/STAT3 phosphorylation. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(1): 114

- [12] Weng H, Tan ZJ, Hu YP, et al. Ursolic acid induces cell cycle arrest and apoptosis of gallbladder carcinoma cells. *Cancer Cell Int*, 2014, 14(1): 96
- [13] Yin R, Li T, Tian JX, et al. Ursolic acid, a potential anticancer compound for breast cancer therapy. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2018, 58(4): 568-574
- [14] Rawendra RD, Lin PY, Chang CD, et al. Potentiation of acute promyelocytic leukemia cell differentiation and prevention of leukemia development in mice by oleanolic acid. *Anticancer Res*, 2015, 35(12): 6583-6590
- [15] Bonaccorsi I, Altieri F, Sciamanna I, et al. Endogenous reverse transcriptase as a mediator of ursolic acid's anti-proliferative and differentiating effects in human cancer cell lines. *Cancer Lett*, 2008, 263(1): 130-139
- [16] Maphanao P, Thanan R, Loilome W, et al. Synchrotron FTIR microspectroscopy revealed apoptosis-induced biomolecular changes of cholangiocarcinoma cells treated with ursolic acid. *Biochim Biophys Acta*, 2020, 1864(12): 129708
- [17] Leng S, Hao Y, Du D, et al. Ursolic acid promotes cancer cell death by inducing Atg5-dependent autophagy. *Int J Cancer*, 2013, 133(12): 2781-2790
- [18] 李开瑞, 刘洁, 李小娜, 等. 齐墩果酸对肺腺癌A549细胞增殖及凋亡的影响及机制. *中国医药导报*, 2019, 16(31): 4-9
- [19] Li R, Wang X, Zhang XH, et al. Ursolic acid promotes apoptosis of SGC-7901 gastric cancer cells through ROCK/PTEN mediated mitochondrial translocation of cofilin-1. *Asian Pac J Cancer Prevention*, 2014, 15(22): 9593-9597
- [20] Liese J, Hinrichs TM, Lange M, et al. Cotreatment with sorafenib and oleanolic acid induces reactive oxygen species-dependent and mitochondrial-mediated apoptotic cell death in hepatocellular carcinoma cells. *Anti-Cancer Drugs*, 2019, 30(3): 209-217
- [21] Chen CJ, Shih YL, Yeh MY, et al. Ursolic acid induces apoptotic cell death through AIF and endo G release through a mitochondria-dependent pathway in NCI-H292 human lung cancer cells *in vitro*. *In Vivo*, 2019, 33(2): 383-391
- [22] Martin R, Carvalho-Tavares J, Carvalho J, et al. Acidic triterpenes compromise growth and survival of astrocytoma cell lines by regulating reactive oxygen species accumulation. *Cancer Res*, 2007, 67(8): 3741-3751
- [23] Tschumi BO, Dumauthioz N, Marti B, et al. CART cells are prone to Fas- and DR5-mediated cell death. *J Immunother Cancer*, 2018, 6(1): 71
- [24] 薛芳喜. 齐墩果酸对K562白血病细胞凋亡相关基因表达影响的实验研究[D]. 佳木斯: 佳木斯大学, 2008
- [25] 虞燕霞, 尚尔宁, 陈伯文. 熊果酸通过内质网应激通路诱导肝癌SMMC-7721细胞凋亡. *江苏医药*, 2016, 42(9): 1000-1003
- [26] Zhang Y, Kong C, Zeng Y, et al. Ursolic acid induces PC-3 cell apoptosis via activation of JNK and inhibition of Akt pathways *in vitro*. *Mol Carcinog*, 2010, 49(4): 374-385
- [27] Lin JH, Chen SY, Lu CC, et al. Ursolic acid promotes apoptosis, autophagy, and chemosensitivity in gemcitabine-resistant human pancreatic cancer cells. *Phytother Res*, 2020, 34(8): 2053-2066
- [28] 黄开顺, 朱链链, 刘丹, 等. 齐墩果酸对肝癌细胞Hep3B增殖和凋亡的作用研究. *第三军医大学学报*, 2011, 33(5): 531-534
- [29] Lúcio KA, Rocha GG, Monção-Ribeiro LC, et al. Oleanolic acid initiates apoptosis in non-small cell lung cancer cell lines and reduces metastasis of a B16F10 melanoma model *in vivo*. *PLoS One*, 2011, 6(12): e28596
- [30] Li LI, Lin J, Sun G, et al. Oleanolic acid inhibits colorectal cancer angiogenesis *in vivo* and *in vitro* via suppression of STAT3 and Hedgehog pathways. *Mol Med Rep*, 2016, 13(6): 5276-5282
- [31] Prasad S, Yadav VR, Sung B, et al. Ursolic acid inhibits growth and metastasis of human colorectal cancer in an orthotopic nude mouse model by targeting multiple cell signaling pathways: chemosensitization with capecitabine. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(18): 4942-4953
- [32] 杨莹, 胡叶, 吴娜, 等. 肿瘤血管生成拟态在结肠癌中的研究进展. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(1): 149-152
- [33] Guo Y, Han B, Luo K, et al. NOX2-ROS-HIF-1 α signaling is critical for the inhibitory effect of oleanolic acid on rectal cancer cell proliferation. *Biomed Pharmacother*, 2017, 85: 733-739
- [34] Shan JZ, Xuan YY, Zhang Q, et al. Ursolic acid sensitized colon cancer cells to chemotherapy under hypoxia by inhibiting MDR1 through HIF-1 α . *J Zhejiang Univ Sci B*, 2016, 17(9): 672-682
- [35] Wei J, Liu Z, He J, et al. Traditional Chinese medicine reverses cancer multidrug resistance and its mechanism. *Clin Transl Oncol*, 2022, 24(3): 471-482
- [36] Bukowski K, Kciuk M, Kontek R. Mechanisms of multidrug resistance in cancer chemotherapy. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9): 3233
- [37] Amara S, Zheng M, Tiriveedhi V. Oleanolic acid inhibits high salt-induced exaggeration of warburg-like metabolism in breast cancer cells. *Cell Biochem Biophys*, 2016, 74(3): 427-434
- [38] Villar VH, Vögler O, Barceló F, et al. Oleanolic and maslinic acid sensitize soft tissue sarcoma cells to doxorubicin by inhibiting the multidrug resistance protein MRP-1, but not P-glycoprotein. *J Nutrat Biochem*, 2014,

- 25(4): 429-438
- [39] Li W, Luo L, Shi W, et al. Ursolic acid reduces Adriamycin resistance of human ovarian cancer cells through promoting the HuR translocation from cytoplasm to nucleus. *Environ Toxicol*, 2021, 36(2): 267-275
- [40] Zheng J, Wang SS, Shen KP, et al. Ursolic acid potentiated oxaliplatin to induce apoptosis in colorectal cancer RKO cells. *Pharmazie*, 2020, 75(6): 246-249
- [41] Manouchehri JM, Kalafatis M. Ursolic acid promotes the sensitization of rhtrail-resistant triple-negative breast cancer. *Anticancer Res*, 2018, 38(12): 6789-6795
- [42] Lu X, Li Y, Yang W, et al. Inhibition of NF- κ B is required for oleanolic acid to downregulate PD-L1 by promoting DNA demethylation in gastric cancer cells. *J Biochem Mol Toxicol*, 2021, 35(1): e22621
- [43] Xu QF, Peng HP, Lu XR, et al. Oleanolic acid regulates the Treg/Th17 imbalance in gastric cancer by targeting IL-6 with miR-98-5p. *Cytokine*, 2021, 148: 155656
- [44] 乐红红, 郝文斌, 相芬芬, 等. 熊果酸对小鼠结直肠肿瘤及微环境的作用初探. *国际肿瘤学杂志*, 2017, 44(11): 806-811
- [45] 田力, 万端静, 邱丹纓, 等. 熊果酸对H22荷瘤小鼠抗肿瘤及肠道细菌群落结构多样性的影响. *食品工业科技*, 2021, 42(4): 86-91
- [46] Oprean C, Ivan A, Bojin F, et al. Selective *in vitro* anti-melanoma activity of ursolic and oleanolic acids. *Toxicol Mech Methods*, 2018, 28(2): 148-156
- [47] 刘洁, 胡晶, 戴娜, 等. 益气解毒方主要三萜类化合物抑制鼻咽癌CNE2细胞增殖效应的比较. *湖南中医药大学学报*, 2019, 39(11): 1315-1320
- [48] 钱雨凡, 刘宇婧, 陆璐, 等. 中医药调节结直肠癌免疫微环境的研究进展. *上海中医药大学学报*, 2021(4): 94-100
- [49] 张梦. 齐墩果酸“引经”作用增强大黄素肝靶向性的研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2015