

乳菇菌素D体外抗肿瘤活性及对细胞周期和凋亡的影响

戎瑞雪, 王中傲, 李晓婵, 韩跃华, 张 奇, 李志鹏, 郭云然, 曹志然*, 王 蓓*
(河北大学医学院, 河北 保定 071000)

摘 要: 目的: 研究来源于绒白乳菇菌的新型倍半萜类化合物——乳菇菌素D的抗肿瘤活性及对细胞周期和细胞凋亡的影响。方法: 运用噻唑蓝法检测乳菇菌素D对A549、HCT-8、Bel-7402、SMMC7721、HeLa细胞增殖的抑制作用并计算半数抑制率(half maximal inhibitory concentration, IC_{50}), 并以顺铂作为阳性对照; 选择对该化合物敏感的A549细胞株, 观察其作用后细胞的形态学改变、细胞凋亡率和细胞周期的变化。结果: 乳菇菌素D能够有效抑制A549、Bel-7402、SMMC7721和HeLa细胞的增殖, 作用72 h后的 IC_{50} 分别为2.46、19.09、18.21、17.05 $\mu\text{g/mL}$; 乳菇菌素D可引起A549细胞显著的形态学改变, 出现凋亡小体; 诱导A549细胞凋亡(100 $\mu\text{g/mL}$ 作用72 h时的凋亡率为32.14%)、使细胞阻滞于S期。结论: 该化合物能够抑制多种组织来源的肿瘤细胞增殖, 其中A549细胞最敏感; 其作用机制是通过干扰细胞增殖周期而诱导肿瘤细胞凋亡。本实验为乳菇菌素D的开发提供实验依据。

关键词: 绒白乳菇菌; 乳菇菌素D; 抗肿瘤活性; 细胞凋亡; 细胞周期

Anti-Tumor Activity of Mitissimol D and Its Effect on Apoptosis and Cell Cycle *in Vitro*

RONG Ruixue, WANG Zhongao, LI Xiaochan, HAN Yuehua, ZHANG Qi, LI Zhipeng, GUO Yunran, CAO Zhiran*, WANG Bei*
(Medical College, Hebei University, Baoding 071000, China)

Abstract: Objective: To investigate the anti-tumor activity of mitissimol D, a novel sesquiterpene compound extracted from *Lactarius vellereus*, and its effects on cell cycle and apoptosis. Methods: 3-(4,5)-Dimethylthiazoliumromide (MTT) assay was used to determine the inhibitory effect of mitissimol D on the proliferation of A549, HCT-8, Bel-7402, SMMC7721 and HeLa cells and to determine the half maximal inhibition concentration (IC_{50}) in comparison with cisplatin as a positive control. A549 cells sensitive to mitissimol D were selected to observe the morphological changes and the changes in cell apoptosis rate and cell cycle. Results: Mitissimol D could effectively inhibit the proliferation of A549, Bel-7402, SMMC7721 and HeLa cells with IC_{50} (72 h) of 2.46, 19.09, 18.21 and 17.05 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Mitissimol D could cause significant morphological changes of A549 cells, leading to the formation of apoptosomes and it also could induce apoptosis in A549 cells (32.14% apoptosis rate at 100 $\mu\text{g/mL}$ after 72 h) and lead to cell block in the S phase. Conclusion: Mitissimol D can significantly inhibit the proliferation of tumor cells from a variety of tissue sources, of which A549 cells are the most sensitive, by interfering with the cell cycle. These findings provide an experimental basis for the development of mitissimol D as a new sesquiterpene compound.

Keywords: *Lactarius vellereus*; mitissimol D; anti-tumor activity; apoptosis; cell cycle

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201809018

中图分类号: R966

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2018) 09-0116-05

引文格式:

戎瑞雪, 王中傲, 李晓婵, 等. 乳菇菌素D体外抗肿瘤活性及对细胞周期和凋亡的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(9): 116-120. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201809018. <http://www.spkx.net.cn>

RONG Ruixue, WANG Zhongao, LI Xiaochan, et al. Anti-tumor activity of mitissimol D and its effect on apoptosis and cell cycle *in vitro*[J]. Food Science, 2018, 39(9): 116-120. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201809018. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2017-01-20

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(30671385); 河北省卫生厅指令性项目(20120134); 国家级大学生创新项目(201610075021)

第一作者简介: 戎瑞雪(1980—), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为抗肿瘤免疫、抗感染免疫。E-mail: rongruixue_1234@163.com

*通信作者简介: 曹志然(1963—), 女, 教授, 硕士, 研究方向为抗肿瘤免疫、抗感染免疫。E-mail: caozhiran@163.com

王蓓(1978—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为抗肿瘤免疫、抗感染免疫。E-mail: wp780203@163.com

恶性肿瘤是严重威胁人类生命健康的主要疾病之一,为全球人类死亡的第二大原因^[1-2]。据国家卫生和计划生育委员会最新公布的数据,我国每年新发癌症病例约310万,死亡约200万。近20年来,我国癌症发病率呈逐年上升趋势,随着老龄化进程的加快,我国癌症发病、死亡率还将不断上升,对国家、社会和个人造成沉重的经济负担^[3-5]。目前药物治疗是肿瘤综合治疗的重要治疗手段之一。从天然动、植物中提取的天然活性物质是抗癌药物的重要来源之一^[6-7],其中倍半萜类化合物具有抗肿瘤活性,广泛分布于高等真菌、植物、昆虫和海洋生物体内^[8-10]。绒白乳菇(*Lactarius vellereus*)属红菇科(Russulaceae)乳菇属(*Lactarius*)^[11-12]。绒白乳菇虽有毒,但经过浸泡、煮沸后即可食用,具有食药同源的功效。本课题组从绒白乳菇中分离纯化出多种新的蛇麻烷Humulane倍半萜(正在申请专利),前期的初筛实验发现其中的一种新型倍半萜(命名为乳菇菌素D)具有较强的抑制肿瘤细胞增殖的作用。本实验通过体外细胞培养的方法,进一步研究乳菇菌素D对多种不同组织来源的肿瘤细胞的抑制作用;并选取敏感肿瘤细胞株初步研究其抗肿瘤作用机制,为绒白乳菇的食药同源应用与开发提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

A549(人肺腺癌细胞株)、HCT-8(人结肠癌细胞株)、Bel-7402(人肝癌细胞株)、SMMC7721(人肝癌细胞株)、HeLa(人宫颈癌细胞株)均购自中国医学科学院基础医学研究所北京协和医学院细胞资源中心;在-196℃液氮中冻存,由本实验室体外传代培养。

乳菇菌素D为本课题组从绒白乳菇中提取,纯度为98.8%,用二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)溶解为10 mg/mL的储存液,-20℃保存备用;DMEM培养基、胎牛血清 美国GIBCO公司;胰蛋白酶(1:250)北京Solarbio公司;噻唑蓝(3-(4,5)-dimethylthiazolium(-z-y1)-3,5-di-phenyltetrazolium bromide, MTT) 美国Amresco公司。

1.2 仪器与设备

SpectraMax M4多功能酶标仪 美国Molecular Devices有限公司;8000二氧化碳培养箱 美国赛默飞世尔科技公司;CKX41倒置显微镜 日本Olympus公司;SW-CJ-2FD洁净工作台 苏州安泰空气技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 MTT法检测乳菇菌素D对几种人肿瘤细胞增殖抑制作用

常规复苏HeLa、A549、SMMC7721、Bel-7402和HCT-8细胞,调整细胞浓度为 2×10^4 个/mL,90 μ L/孔

接种于96孔培养板,37℃、5% CO₂培养24 h待细胞贴壁后换为含乳菇菌素D终质量浓度分别为100、10、1、0.1、0.01 μ g/L的完全培养液;同时设阳性对照与阴性对照:阳性对照为与乳菇菌素D终质量浓度相同的顺铂;阴性对照为分别含有质量分数1%、0.1%、0.01%、0.001%、0.000 1% DMSO的培养液(与待测样品中含的DMSO质量分数相同),各质量浓度组均设3个复孔。在37℃、5% CO₂条件下分别培养20、44、68 h后,加MTT (5 mg/mL) 15 μ L/孔,4 h后弃上清液,加DMSO 150 μ L/孔,振荡5 min,经多功能酶标仪490 nm波长处测吸光度,并通过软件计算药物的半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)。

1.3.2 乳菇菌素D作用A549细胞后倒置显微镜下形态学观察

调整A549细胞浓度为 1×10^5 个/mL,以2 mL/皿接种于玻底小皿中,37℃、5% CO₂培养过夜,换为终质量浓度为10 μ g/mL乳菇菌素D的DMEM培养液,阴性对照组加入等体积含质量分数0.1% DMSO的完全培养液,37℃、5% CO₂继续培养24、48 h,在倒置显微镜下观察细胞形态并拍照。

1.3.3 乳菇菌素D作用A549细胞后瑞-姬氏染色光学显微镜下形态学观察

将 1×10^5 个/mL的A549细胞接种于预置盖玻片的6孔培养板中,2 mL/孔,37℃、5% CO₂培养过夜,换为终质量浓度为10 μ g/mL乳菇菌素D,并设阴性对照组(同1.3.2节)。继续培养48 h后,取出盖玻片,磷酸盐缓冲液冲洗后,进行瑞-姬氏染色,光学显微镜下观察并拍照。

1.3.4 流式细胞仪检测乳菇菌素D处理的A549细胞凋亡率及周期分布

A549细胞以 1×10^5 个/mL接种于6孔板,2 mL/孔,37℃、5% CO₂培养过夜,换终质量浓度分别为100、10、1 μ g/mL的含乳菇菌素D的完全培养液,继续培养72 h,并设阴性对照(同1.3.2节)。收集孔内所有细胞,磷酸盐缓冲液洗2次。分别取细胞 1×10^6 个,每份样本加入5 μ L Annexin V染液和10 μ L碘化丙啶染液,室温避光染色20 min,经流式细胞仪检测凋亡率。

用上述相同方法处理收集细胞,分别取 1×10^6 个细胞,体积分数70%乙醇溶液1 mL(4℃预冷)固定,4℃过夜;1 000 r/min离心5 min除去固定液,磷酸盐缓冲液洗涤2次后,100 μ g/mL RNA酶100 μ L 37℃消化30 min;加入50 μ g/mL碘化丙啶染色液100 μ L,4℃避光染色30 min;经流式细胞仪检测细胞周期分布。

1.4 数据统计分析

统计学方法采用单因素方差分析和t检验,所有数据统计均在计算机SPSS 16.0软件包内进行, $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 乳菇菌素D对不同组织来源肿瘤细胞的抑制作用

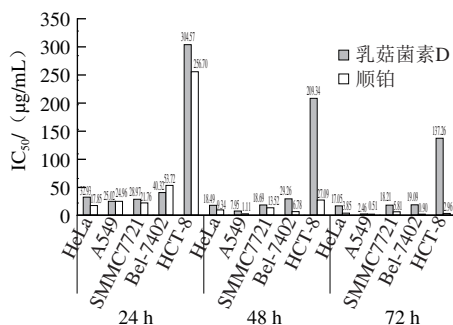
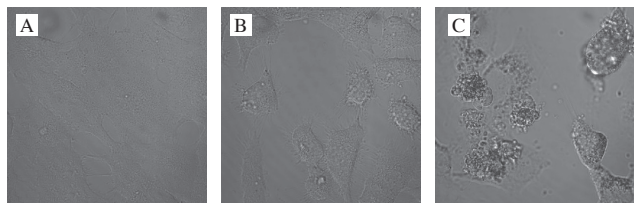


图1 乳菇菌素D对肿瘤细胞作用24、48、72 h的IC₅₀

Fig. 1 IC₅₀ of mitissimol D against cancer cells at 24, 48 and 72 h

由图1可知,乳菇菌素D对A549、Bel-7402、SMMC7721和HeLa细胞的体外增殖有显著的抑制作用,其作用72 h的IC₅₀分别为2.46、19.09、18.21、17.05 μg/mL,均小于20 μg/mL,而对HCT-8抑制作用较弱(IC₅₀为137.26 μg/mL)。

2.2 倒置显微镜观察乳菇菌素D对A549细胞形态的影响



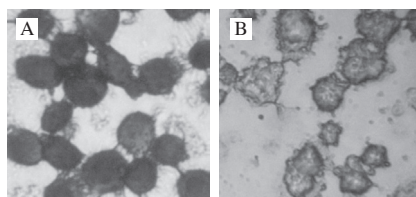
A.阴性对照; B.作用时间24 h; C.作用时间48 h。

图2 乳菇菌素D作用24 h和48 h后A549细胞形态变化(×1 000)

Fig. 2 Morphological observation of A549 cells treated with mitissimol D for 24 and 48 h (× 1 000)

由图2可知,乳菇菌素D作用后24 h, A549细胞连接开始消失、细胞变圆、脱落,随着作用时间的延长细胞脱落逐渐明显,至作用后48 h全部脱落,且细胞皱缩,体积变小,细胞浆内出现大量颗粒。

2.3 瑞-姬氏染色光学显微镜下观察乳菇菌素D对A549细胞作用后形态学变化



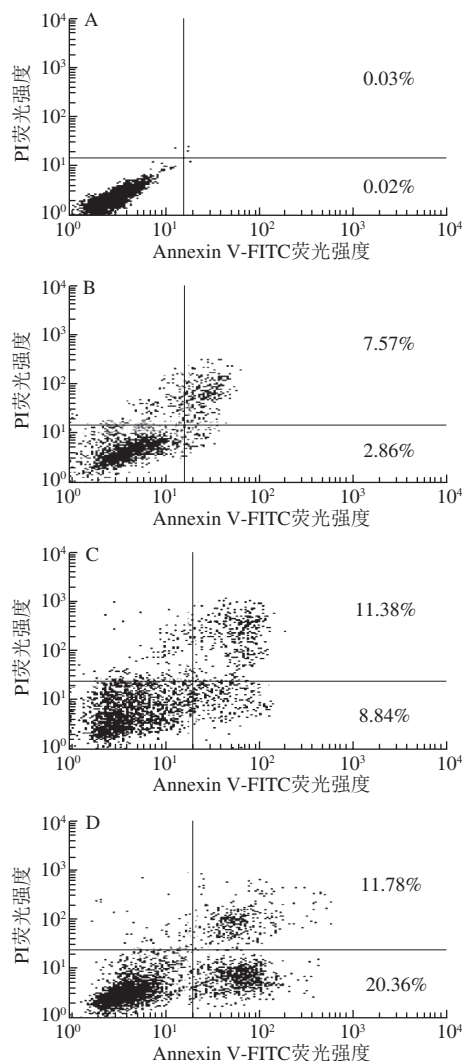
A.阴性对照; B.作用时间48 h。

图3 瑞-姬氏染色光学显微镜下乳菇菌素D作用48 h后A549细胞形态变化(×400)

Fig. 3 Morphological changes of A549 cells by Wrights-Giemsa staining after being treated with mitissimol D for 48 h (× 400)

由图3可知,阴性对照组细胞,染成深蓝色或蓝紫色(图中未显示),色泽均一,胞膜完整;10 μg/mL乳菇菌素D组细胞,胞膜皱缩,染色质在核周聚集,细胞核固缩碎裂成数个圆形颗粒即界限分明的凋亡小体。

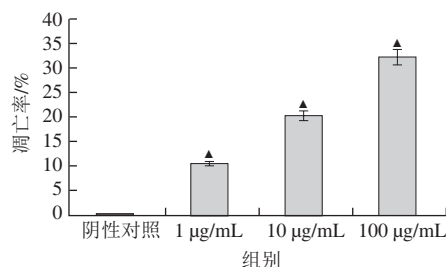
2.4 乳菇菌素D对A549细胞凋亡的影响



A.阴性对照; B~D.乳菇菌素D质量浓度分别为1、10、100 μg/mL。图6同。

图4 不同质量浓度的乳菇菌素D作用于A549细胞72 h的凋亡率

Fig. 4 Apoptosis rates of A549 cells treated with mitissimol D at different concentrations for 72 h



▲.与阴性对照组相比差异极显著($P < 0.01$)。

图5 乳菇菌素D作用于A549细胞72 h的凋亡率

Fig. 5 Apoptosis rates of A549 treated with mitissimol D at 72 h

如图4、5所示, 1、10、100 $\mu\text{g/mL}$ 乳菇菌素D作用于A549细胞72 h后, 细胞凋亡率分别为 $(10.43 \pm 2.32)\%$ 、 $(20.22 \pm 1.96)\%$ 、 $(32.14 \pm 3.04)\%$, 与阴性对照组的 $(4.98 \pm 0.59)\%$ 比较, 凋亡率升高($P < 0.01$)。

2.5 乳菇菌素D对A549细胞周期分布的影响

表1 乳菇菌素D作用72 h对A549细胞周期的影响
Table 1 Effect of mitissimol D on cell cycle of A549 cells at 72 h

组别	G1	S	G2
阴性对照组	61.70 \pm 3.12	29.30 \pm 4.99	9.02 \pm 0.72
1 $\mu\text{g/mL}$ 乳菇菌素D	53.00 \pm 3.24	34.40 \pm 3.25*	12.70 \pm 1.52
10 $\mu\text{g/mL}$ 乳菇菌素D	44.20 \pm 3.16 \blacktriangle	40.60 \pm 3.50 \blacktriangle	15.20 \pm 3.25 \blacktriangle
100 $\mu\text{g/mL}$ 乳菇菌素D	29.60 \pm 4.57 \blacktriangle	47.80 \pm 3.21 \blacktriangle	22.50 \pm 4.97 \blacktriangle

注: *, 与阴性对照组相比差异显著($P < 0.05$); \blacktriangle , 与阴性对照组相比差异极显著($P < 0.01$)。

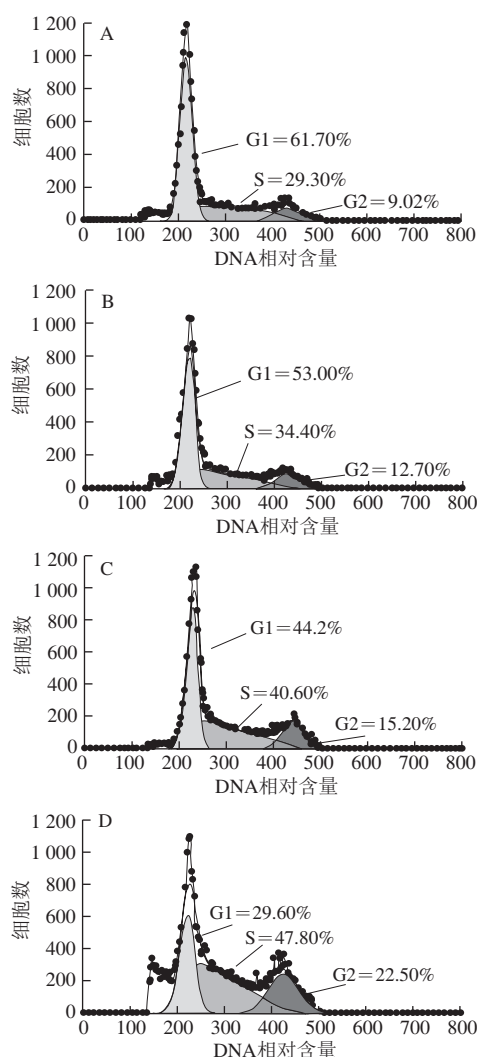


图6 乳菇菌素D对A549细胞周期的影响

Fig. 6 Effect of mitissimol D on cell cycle of A549 cells

由表1、图6可知, 与阴性对照组相比, 不同质量浓度的乳菇菌素D (100、10、1 $\mu\text{g/mL}$) 作用于A549细胞

72 h, S期细胞比例明显增多, G1期细胞比例明显减少, 并且随乳菇菌素D剂量的增加, 乳菇菌素D对A549细胞周期的影响增强。其中10、100 $\mu\text{g/mL}$ 剂量组变化明显, 与阴性对照组相比, G1期、S期细胞比例差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果表明乳菇菌素D使A549细胞主要阻滞于S期。

3 讨论

高等真菌又称为大型真菌, 包括蘑菇、香菇、银耳、金针菇、竹荪、牛肝菌、灵芝等, 许多高等真菌素有“三高”美称, 即蛋白质含量高、维生素含量高、纤维素含量高^[13]。真菌还有很高的药用价值, 由于其中含有较多的真菌多糖和小分子的萜类物质, 具有提高免疫力、抑制癌细胞增殖等生物活性^[14-15]。真菌多糖的药用活性被很多学者关注研究^[16-18], 其中香菇多糖腹腔灌注治疗晚期肝癌腹水, 效果显著^[19], 此外香菇多糖对小鼠体内抗氧化活性有显著提高作用^[20]。继真菌多糖后, 萜类化合物也是重要的抗肿瘤活性成分之一^[21-25]。高等真菌中提取物倍半萜的抗肿瘤作用机制, 国内外学者有多篇文献报道, 目前其抗肿瘤作用机制的阐述主要有: 作用于线粒体导致其功能紊乱、抑制肿瘤细胞血管生成能力、干扰细胞循环及信号转导导致癌细胞程序化凋亡、直接作用于肿瘤细胞、扰乱细胞周期诱导细胞程序化死亡、通过对关键酶的磷酸化造成DNA损伤影响细胞增殖等^[1,26]。

本实验经MTT法检测发现, 从绒毛乳菇菌中提取的倍半萜类化合物-乳菇菌素D对不同组织来源的肿瘤细胞均有一定的增殖抑制作用, 其中对人肺腺癌细胞株A549抑制作用最强, 而对人结肠癌细胞株HCT-8细胞毒性作用较弱, 表明其抗肿瘤作用具有一定的组织选择性, 因此选择A549作为敏感瘤株进行后续实验, 研究其抗肿瘤作用机制。

首先, 从形态学上, 参照侯毅鞠等^[27]对镰刀菌属真菌产生的倍半萜类化合物T-2毒素对体外培养急性早幼粒白血病细胞HL60生长抑制作用的研究, 本实验应用瑞-姬氏染色法观察到了乳菇菌素D对A549细胞作用48 h后的凋亡小体。

随后, 从诱导细胞凋亡方面着手, 根据Zheng Yongbiao等^[28]对从中国食用菌鲍鱼菇中提取的新倍半萜类化合物抑制人前列腺癌细胞的研究结果, 本实验经流式细胞仪检测了乳菇菌素D作用于A549细胞72 h后的凋亡率为32.14%。乳菇菌素D对A549细胞的 IC_{50} 为2.46 $\mu\text{g/mL}$, 用100 $\mu\text{g/mL}$ 的乳菇菌素D处理后凋亡率只有32.14%, 说明该化合物的除了诱导肿瘤细胞凋亡外, 可能存在其他抑制细胞增殖的机制, 有待进一步深入研究。

再次, 本实验追踪药物引起细胞凋亡的原因。王佳丽等^[29]从莪术油中提取倍半萜类化合物作用于肝癌细胞HepG2, 使得细胞周期阻滞在G0/G1-S期和S-G2/M期; Imamura等^[30]从日本北部的可食用野生植物delphiniifolia中分离提取的没药烷型倍半萜过氧化物, 引起G1和G2期细胞阻滞。本实验通过流式细胞仪检测发现, 乳菇菌素D对A549细胞作用72 h后, 多数细胞阻滞于S期, 并且有剂量依赖性。由此可见, 乳菇菌素D可通过扰乱细胞周期诱导细胞程序性死亡。

综上所述, 本实验对绒白乳菇菌中提取的乳菇菌素D的抗肿瘤作用进行研究, 发现了此类倍半萜类化合物抗肿瘤活性具有选择性, 对人肺腺癌细胞株A549细胞增殖的抑制作用显著, 可通过干扰细胞增殖周期诱导细胞凋亡。乳菇菌素D作用机制的研究对以乳菇菌素为主要成分的新型抗肿瘤药物及相关制剂的研发具有重要的指导意义。

参考文献:

- [1] WANG Weilan, CHEN Kaixu, LIU Qing, et al. Suppression of tumor growth by pleurotus ferulae ethanol extract through induction of cell apoptosis, and inhibition of cell proliferation and migration[J]. PLoS ONE, 2014, 9(7): e102673. DOI:10.1371/journal.pone.0102673.
- [2] 陈万青, 郑荣寿, 张思维, 等. 2013年中国恶性肿瘤发病和死亡分析中国肿瘤[J]. 中国肿瘤, 2017, 26(1): 1-7. DOI:10.11735/j.issn.1004-0242.2017.01.A001.
- [3] 陈万青, 郑荣寿, 张思维, 等. 2012年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2016, 25(1): 1-8. DOI:10.11735/j.issn.1004-0242.2016.01.A001.
- [4] 贺宇彤, 梁迪, 李道娟, 等. 河北省2012年恶性肿瘤发病与死亡估计[J]. 中国肿瘤, 2016, 25(12): 965-972. DOI:10.11735/j.issn.1004-0242.2016.12.A005.
- [5] 付振涛, 徐爱强, 鹿子龙, 等. 山东省2012年恶性肿瘤发病与死亡[J]. 中国肿瘤, 2016, 25(12): 942-949. DOI:10.11735/j.issn.1004-0242.2016.12.A002.
- [6] 容士宏. 将灵芝开发为抗癌药物刍议[J]. 中国药物化学杂志, 2016, 26(3): 189-196. DOI:10.14142/j.cnki.cn21-1313/r.2016.03.005.
- [7] 吴晓凤, 石磊, 张实. 天然抗癌药物的研究进展[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2016, 25(9): 769-772. DOI:10.16548/j.2095-3720.2016.09.024.
- [8] LIU Hongxin, ZHANG Ling, CHEN Yuchan, et al. Monoterpenes and sesquiterpenes from the marine sediment-derived fungus *Eutypella scoparia* FS46[J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2016, 6(3): 1-7. DOI:1080/10286020.2016.1189906.
- [9] PAL H C, SEHAR I, BHUSHAN S, et al. Activation of caspases and poly (ADPribose ADPribose) polymerase cleavage to induce apoptosis in leukemia HL-60 cells by *Inula racemosa*[J]. Toxicol in Vitro, 2010, 24: 1599-1609. DOI:10.1016/J.TIV.2010.06.007.
- [10] LAN Wenjian, FU Shengjiao, XU Mengyang, et al. Five new cytotoxic metabolites from the marine fungus *Neosartorya pseudofischeri*[J]. Marine Drugs, 2016, 14(1): 1-13. DOI:10.3390/md14010018.
- [11] 赵丽艳, 左伟, 付琪镜, 等. 绒白乳菇子实体的化学成分研究[J]. 中草药, 2010, 41(10): 1604-1608.
- [12] 计红芳, 张令文, 张慧蓉, 等. 绒白乳菇菌丝体多糖提取工艺的研究[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2011, 27(2): 231-234.
- [13] 田彦辉, 董娜. 几种常见药食两用真菌概述[J]. 生物学教学, 2015, 40(6): 4-6.
- [14] 马维娜, 孟拥军. 香菇多糖的作用机制及临床应用进展[J]. 医学综述, 2016(22): 4396-4399. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2016.22.008.
- [15] 李六文, 赵刚. 药用真菌多糖抗肿瘤免疫生物活性研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(14): 1156-1160. DOI:10.16073/j.cnki.cjcp.2015.14.021.
- [16] XUE Zhaohui, LI Jiaomei, CHENG Aiqing, et al. Structure identification of triterpene from the mushroom *Pleurotus eryngii* with inhibitory effects against breast cancer[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2015, 70(3): 291-296. DOI:10.1007/s11130-015-0492-7.
- [17] CHEN C C, KUO Y H, CHENG J J, et al. Three new sesquiterpene aryl esters from the mycelium of *Armillaria mellea*[J]. Molecules, 2015, 20(6): 9994-10003. DOI:10.3390/molecules20069994.
- [18] 朱玲, 史吉平, 王晨光, 等. 灵芝多糖的提取方法及其功能特性研究进展[J]. 现代化工, 2017, 37(1): 55-59. DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2017.01.013.
- [19] 周观林. 香菇多糖腹腔灌注治疗晚期肝癌腹水的疗效观察[J]. 江西医药, 2016, 51(7): 663-664. DOI:10.3969/j.issn.1006-2238.2016.07.023.
- [20] 杨溢烁, 曾德永, 刘艳, 等. 香菇多糖体内抗氧化活性研究[J]. 中国食物与营养, 2016, 22(8): 72-74.
- [21] 唐潮, 叶科元, 方莎莎, 等. 北极真菌 *Nectria* sp.B-13中酚醛倍半萜类化合物的研究[J]. 中国海洋药物, 2016, 35(5): 35-39. DOI:10.13400/j.cnki.cjmd.2016.05.006.
- [22] 刘庆朝, 马寨璞, 安秋丹. 倍半萜类抗癌抑制剂的定量构效关系研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(6): 2365-2369. DOI:10.13989/j.cnki.0517-6611.2013.06.079.
- [23] 朱华野, 朴惠顺. 倍半萜内酯类化合物抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. 华西药理学杂志, 2015, 30(3): 381-383. DOI:10.13375/j.cnki.wcjps.2015.03.043.
- [24] 乔巍, 汪小尧, 李晓春, 等. 四种倍半萜类化合物广谱抗肿瘤效应的研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(3): 5-8. DOI:10.3969/j.issn.1005-1678.2016.03.02.
- [25] 李勇, 丛斌, 董玫, 等. 土木香中倍半萜内酯抗肿瘤活性及构效关系研究[J]. 中草药, 2010, 41(8): 1336-1338.
- [26] 田慧敏, 朱月. 药用真菌三萜抗肿瘤作用及机制的研究进展[J]. 赤峰学院学报(自然科学版), 2014, 30(19): 47-48. DOI:10.13398/j.cnki.issn1673-260x.2014.19.022.
- [27] 侯毅鞠, 袁忠海, 国巍, 等. 镰刀菌T-2毒素对人急性早幼粒白血病细胞HL60增殖与凋亡的影响[J]. 卫生研究, 2013, 42(3): 381-385.
- [28] ZHENG Yongbiao, PANG Haiyue, WANG Jifeng, et al. New apoptosis-inducing sesquiterpenoids from the mycelial culture of Chinese edible fungus *Pleurotus cystidiosus*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(2): 545-551. DOI:10.1021/jf504931n.
- [29] 王佳丽, 王秀, 夏泉, 等. 莪术油中3种倍半萜类化合物对肝癌HepG2细胞增殖抑制作用的研究[J]. 中成药, 2014, 36(7): 1535-1539. DOI:10.3969/j.issn.1001-1528.2014.07.045.
- [30] IMAMURA Y, YUKAWA M, UENO M, et al. 3,6-Epidioxo-1,10-bisaboladiene inhibits G1-specific transcription through Swi4/Swi6 and Mbp1/Swi6 via the Hog1 stress pathway in yeast[J]. FEBS Journal, 2014, 281: 4612-4621. DOI:10.1111/febs.12965.