

土槿皮乙酸在肿瘤中的作用及机制研究进展

李玉琼¹, 石少卿², 陈坪², 杨树峰², 孙瑞芬^{1*}

(1.云南中医药大学中药学院, 云南省昆明市, 650500;

2.昆明医科大学第一附属医院医院科研实验中心, 云南省昆明市, 650500;

*通讯作者, sunruifen@ynucm.edu.cn)

摘 要: 土槿皮是松科植物金钱松的近根树皮或干燥根皮, 可治顽癣和食积等症。土槿皮乙酸(Pseudolaric acid B, PAB)是土槿皮中分离得到的二萜类化合物, 具有广泛的生理活性, 如抗真菌、抗肿瘤、抗生育等。目前有许多研究报道聚焦于PAB的抗肿瘤作用, 包括抑制细胞增殖、抑制肿瘤细胞侵袭与迁移、诱导细胞凋亡、诱导细胞自噬、抑制血管生成、诱导铁死亡。对于不同类型恶性肿瘤PAB的抗肿瘤作用机制也各有不同, 因此本篇文章对PAB在不同恶性肿瘤抑制作用及其分子机制进行总结, 探讨其抗肿瘤研究现状, 为PAB在肿瘤治疗与研究开发过程中提供新研究思路。

关键词: 土槿皮乙酸; PAB; 恶性肿瘤; 铁死亡; 自噬

引言

由于现代社会快速发展, 人们生活水平不断提升造成人口老龄化增加, 随之而来伴有不同程度的疾病, 其中癌症是全球的发病率及死亡率最高的恶性肿瘤之一[1, 2]。在中国常见的癌症类型为肺癌, 而在美国则为乳腺癌[1, 3]。截至目前恶性肿瘤已然成为了当今世界危害人类身体健康的主要因素之一。尽管随着医疗技术发展, 癌症治疗手段也愈发成熟, 包括手术、放疗、化疗和靶向治疗, 但由于难以早期诊断, 同时药物生物利用度低以及获得性耐药等问题都极大限制了治疗的效果, 造成肿瘤患者预后不佳[4]。因此探索新的肿瘤治疗方法已迫在眉睫。

中国传统中医药在肿瘤治疗方面显示出独特的优势, 从多个靶点发挥抗肿瘤作用, 且具有毒副作用小的特点[5]。随着对中药抗肿瘤研究的深入, 传统中医药在治疗肿瘤领域备受关注。土槿皮是松科植物金钱松的近根树皮或干燥根皮, 可治顽癣和食积等症[6, 7]。目前, 现已有成熟的土槿皮制剂应用于临床, 复方土槿皮酊主要用于治疗真菌感染所致的手足癣病, 具有优秀的临床表现, 具有无耐药性, 且毒副作用小的独特优势[8]。土槿皮乙酸(Pseudolaric acid B, PAB)是从土槿皮中分离得到的新型二萜类化合物[9], 分子式为 $C_{23}H_{28}O_8$ 分子量为432.464[10]。PAB具有多种药理活性, 包括抗真菌[11], 抗生育[12], 抗肿瘤。近年来对于PAB的研究主要聚焦于抗肿瘤方面。PAB可对肺癌[13]、胃癌[14]、肝癌[15]、胰腺癌[16]等的多种肿瘤细胞均有优秀的抗肿瘤作用。抑制肿瘤发生发展的机制包括抑制细胞增殖、阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡、抑制肿瘤细胞侵袭和转移、诱导铁死亡等。本文将对PAB在抑制肿瘤发生发展的作用机制进行总结。

1 抑制细胞增殖与阻滞细胞周期

细胞增殖是细胞生命周期的重要特征之一, 当细胞增殖发生紊乱时则会发生不同疾病, 而癌症的一个决定性标志就是异常的细胞增殖[17]。抑制细胞增殖主要通过阻滞细胞周期来实现, 因为当细胞被阻滞时, 细胞则不能进入下一个周期进行复制、分裂、扩增的过程。Yi等的研究发现, 随着PAB剂量和治疗时间的增加, 食管鳞状细胞癌细胞的抑制率显著增强, 证明PAB可以抑制食管鳞状细胞癌细胞的细胞活性[18]。对于HepG2细胞, 发现经PAB处理后HepG2细胞在G0-G1期细胞明显减少[19]。无论是正常细胞还是癌细胞都无法避免

有丝分裂, 有丝分裂进展依赖于纺锤体, 而阻滞有丝分裂的药物会干扰有丝分裂纺锤体装置检查点[20]。那么抑制有丝分裂纺锤体的功能, 以阻滞有丝分裂中的细胞周期发展并诱导肿瘤细胞凋亡, 以微管结合类药物作为代表[21]。研究发现 PAB 具有干扰微管功能的作用[19], 调节微管药物分为两种, 一种是抑制微管蛋白聚合的药物, 例如秋水仙碱[22]; 紫杉类药物则是另一种是抑制微管蛋白解聚的代表药物[23]; PAB 属于抑制微管聚合的药物与秋水仙碱为一类药物[22]。微管聚合抑制剂是通过与微管蛋白二聚体结合而阻止细胞分裂的正常过程并导致细胞死亡的化合物。它们引起有丝分裂的抑制, 影响细胞骨架并破坏血管生成过程[24]。Wen 等研究发现, 有丝分裂进展的标志细胞周期蛋白 B1 和磷酸组蛋白 H3 蛋白, 其标志蛋白表达水平增加, 表明 PAB 阻滞细胞的有丝分裂。其机制是 PAB 通过干扰有丝分裂纺锤体和激活结直肠癌细胞的纺锤体检查点来阻止有丝分裂从而影响细胞周期进展[25]。Yu 等, Li 等人研究发现, PAB 通过下调 α -微管蛋白的表达并影响其聚合, 将肺癌细胞阻滞于 G2/M 期[26, 27]。

基于上述研究结果表明 PAB 抑制肺癌细胞增殖, 在 G2/M 期阻滞细胞增殖, 同时阻滞细胞有丝分裂, 调节 α -微管蛋白的表达并影响其聚合, 抑制肿瘤的发生发展。

2 诱导肿瘤细胞发生凋亡

细胞凋亡是一种程序性细胞死亡方式, 对于维持细胞增殖和稳态至关重要。细胞凋亡生理机制发生紊乱时, 可能造成不同疾病, 如癌症[28]。在细胞凋亡时细胞会表现出不同的形态学特征性, 如细胞质收缩、细胞外侧磷脂酰丝氨酸膜暴露、和 DNA 片段化[29]。Guan 等人研究发现, 通过检测宫颈癌 Hela 细胞中 PAB 诱导的核形态变化。随着 PAB 处理浓度的增加, 细胞核变得明亮和萎缩, 表现出细胞凋亡典型的不规则形态, 同时 PAB 浓度的增加而造成细胞凋亡比例增加, 并且在 PAB 浓度较高时, 核崩解和破裂最为明显, 表明 PAB 促进 Hela 细胞的凋亡。其机制为 PAB 抑制 Wnt/ β -连环蛋白信号传导和配对盒基因 2 (PAX2) 的表达而诱导细胞凋亡[30]。Gong 等人研究发现, 在 Hela 细胞中的通过激活 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 和半胱天冬酶-3 (Caspase-3), 同样可以诱导细胞凋亡[31]。Yao 等人研究发现, PAB 在较低浓度条件下通过激活 ATM-p53 通路可以抑制 Hela 细胞凋亡率[32]。Zhang 等人研究发现, PAB 引起人肝癌细胞同样有显著形态变化, 包括细胞变圆、细胞收缩、核凝聚和凋亡小体的形成, 其机制是作为磷脂酰肌醇 3/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 途径的重要下游靶标 GSK-3 β , 使 PAB 通过抑制 Akt 活化来降低 Ser3 处的 GSK-9 β 磷酸化, 同时使细胞周期蛋白 D1, c-Myc, Bcl-2 和 Survivin 表达下降而达到诱导细胞凋亡[15]。Yao 等人研究发现, 在 p53 野生型 A549 细胞中, PAB 使葡萄糖利用率增加, 引起细胞衰老; 将 p53 和 p21 下调可显著降低葡萄糖的摄取和代谢, PAB 诱导的细胞凋亡率升高。在 p53 野生型 H460 细胞中也观察到类似的结果。与之相反, 在 p53 缺失的细胞中 PAB 降低了葡萄糖的利用度, 使衰老细胞向凋亡转变。因此 PAB 通过降低葡萄糖利用诱导细胞凋亡, 而 p53 在此过程中起着重要作用[33]。Guan 等人研究发现, PAB 诱导通过上调 Bax 和 Bad 以及下调 Bcl-2 和 Bcl-xl 的蛋白表达, 诱导肺癌细胞 A549 细胞凋亡[34]。Li 等人研究发现, 在胃癌细胞系中, PAB 同样诱导细胞凋亡[35]。Zhao 等人研究发现, PAB 在激素抵抗性前列腺癌 DU145 细胞抑制其生长, 通过激活泛素-蛋白酶体途径产生活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 和降解 Bcl-2 诱导细胞凋亡[36]。在最新的研究中发现 PAB 造成线粒体裂变, 导致线粒体功能异常, 当激活 JNK/AMPK 通路时最终诱导肿瘤细胞凋亡, 发挥抗肿瘤作用[37]。

总而言之, PAB 在宫颈癌、肝癌等不同肿瘤细胞促进凋亡, 在此过程中涉及不同的信号通路, 包括破坏线粒体功能、PI3K/Akt、JNK/AMPK、Wnt/ β -连环蛋白和转录因子 p53、Bcl-2、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶家族分子等。

3 诱导肿瘤细胞发生自噬

自噬是一种溶酶体降解途径, 在生物过程中扮演重要角色。它与发育、分化、先天性和适应性免疫、衰老和细胞死亡有关[38]。自噬在肿瘤环境中存在矛盾的作用, 自噬抑制肿瘤发生, 但在大多数情况下, 自噬促进肿瘤发生[39]。自噬与凋亡之间存在密切联系, 在具有细胞凋亡缺陷的肿瘤细胞中, 自噬可以延长存活期。矛盾的是, 自噬缺陷与肿瘤发生增加有关[40]。

Yu 等人研究中发现 PAB 通过自噬抑制了细胞增殖,但是在使用 3-甲基腺嘌呤 3-MA (自噬抑制剂)后则导致进一步促进细胞凋亡,表明自噬可能抑制细胞凋亡[41]。Yu 后续的研究中, PAB 在 L929 细胞中的抑制机制不是通过细胞凋亡,而是通过 PKC (PKC 酶在 G2/M 期转变起重要作用)诱导小鼠纤维肉瘤 L929 细胞的细胞周期停滞、自噬和衰老。PAB 诱导高水平的自噬,可以抑制有丝分裂停滞后的细胞凋亡,但低剂量 PAB 诱导的低水平自噬不能拮抗有丝分裂停滞后的细胞凋亡[42]。Yu 随后在人乳腺癌细胞 MCF-7 中的发现, PAB 联合应用自噬抑制剂 3-MA 可消除 PAB 诱导的自噬[43]。此前在小鼠纤维肉瘤细胞中发现 PAB 未诱导细胞凋亡,而是诱导了自噬,但是 PAB 与自噬抑制剂联合使用后促进细胞的凋亡。Wang 等人研究中也展现出了相同的结果, PAB 不会诱导 MRC5 细胞凋亡,而抑制自噬促进 PAB 处理的 MRC5 细胞的凋亡,其机制为 3MA 处理上调 p-JNK,下调 p-ERK,而促进细胞凋亡[44]。

上述研究结果共同证实 PAB 可以诱导部分发生自噬,而并不造成细胞凋亡,但是联合使用自噬抑制剂时,则会诱导肿瘤细胞凋亡延缓肿瘤发展进程。

4 抑制肿瘤侵袭和转移

细胞运动是一个复杂且高度协调的过程,受到细胞运动基因协调调控,共同构成了转移和侵袭基因表达特征。特别是成纤维细胞和浸润白细胞,通过产生生长因子和蛋白酶来调节癌细胞运动[45]。癌细胞经历迁移和侵袭的能力使其能够改变组织内的位置[46]。转移是癌症致死的主要原因[47],基质金属蛋白酶 (Matrix metalloproteinases, MMP) 是锌依赖性蛋白水解金属酶 (MMP-9) 复杂的基质金属蛋白酶的形式之一,属于明胶酶家族。成纤维细胞和巨噬细胞在许多肿瘤中产生。MMP-9 可降解明胶和不同类型胶原。MMP-9 通过打破细胞外基质 (Extracellular matrix, ECM) 的物理屏障来促进转移[48]。Ezrin 过表达时会促进肿瘤的转移进展[49]。E-钙粘蛋白一种与肿瘤侵袭性、转移性播散和患者预后不良密切相关的蛋白质在癌症抑制中具有关键作用[50, 51]。

Wang 等人研究, PAB 可以抑制 PI3K/AKT, ERK1/2 和线粒体介导细胞凋亡, PAB 对抗转移的抑制作用可能涉及调节转移相关蛋白 MMP-9, HIF-1 α , VEGF, VEGFR2, E-钙粘蛋白和 Ezrin 的表达, PAB 能抑制 BGC-823 和 MKN-45 细胞对基质胶的粘附能力、迁移、侵袭和集落形成能力[52]。Wang 等人研究, PAB 对子宫内腺癌细胞的影响进行了研究,发现通过增加 E-钙粘蛋白、Ezrin 和 Kiss-1 的表达, MMP-9 和血管内皮生长因子的表达,抑制细胞的粘附、侵袭、迁移和集落形成能力[53]。同样地,在 Li 等人研究中,在肝癌 HepG2 细胞中也展示出相似的结果, PAB 还可以通过降低细胞骨架 α -微管蛋白和 MMP-2 的表达,以及增加 E-钙粘蛋白来抑制 HepG2 细胞的侵袭和迁移[27]。Li 等人研究, PAB 以时间和剂量依赖的方式抑制人胰腺癌细胞 SW1990 细胞侵袭, Vimentin、fibronectin、N-钙粘蛋白、Snail、Slug、YAP、TEAD1 和 Survivin 下调,而 E-钙粘蛋白、caspase-9、MST1 和 pYAP 上调,而这依赖于 Hippo-YAP 通路和抑制 EMT 抑制肿瘤细胞侵袭能力[16]。

因此, PAB 可通过调节 MMP-9、E-钙粘蛋白、Ezrin 等的表达抑制不同肿瘤细胞的侵袭和转移。

5 诱导肿瘤细胞发生铁死亡

铁死亡是一种主要依赖细胞内铁离子和脂质活性氧积累引起的细胞死亡类型。铁死亡是由 ROS 积累引起的脂质过氧化引起的,抗氧化代谢的平衡主要由谷胱甘肽过氧化物酶 4 (Glutathione Peroxidase 4, GPX4)、辅酶 CQ10 和二氢乳酸脱氢酶动态维持,它们都含有一种代谢物分子,该分子以化学还原和氧化状态存在,可以抑制铁死亡[54, 55]。Wang 等人研究,在恶性神经胶质瘤中探究 PAB 与铁死亡之间的联系,在形态学上,用 PAB 处理的细胞呈现典型铁死亡形态特征。PAB 通过激活 Nox4 来诱导脂质过氧化。与此同时,通过 p53 调控的 xCT 抑制消耗 GSH 和半胱氨酸,引起脂质过氧化促进铁死亡,由此证明铁死亡是导致 PAB 诱导的胶质瘤细胞死亡的途径[56]。除此之外, PAB 通过上调 NCOA4 促进铁蛋白自噬,改善细胞内不稳定的铁池,触发铁死亡抑制肺腺癌细胞增殖[57]。

这提示 PAB 能够通过诱导铁死亡,发挥抗肿瘤活性。

6 抑制血管生成

血管生成对于许多实体肿瘤的生长和转移至关重要。血管内皮生长因子 (Vascular endothelial growth factor, VEGF) 是正常和异常血管生成的基本调节因子[58]。VEGF 是血管内皮细胞的有丝分裂原, 可刺激其增殖。通过抑制 VEGF 的生物活性, 然后用中和 VEGF 抗体和信号抑制剂进行信号级联, 可以负调节生长和转移[59]。因此 VEGF 在肿瘤血管生成中的具有关键作用[60]。

在 Tan 等人的研究中 PAB 可抗血管生成, 通过抑制内皮细胞中的 KDR/FLK-1、ERK1/2 和 Akt 磷酸化来拮抗 VEGF 介导的抗细胞凋亡作用产生[61]。PAB 通过以浓度依赖性方式抑制 VEGF 刺激的增殖和迁移以及胎牛血清刺激的人脐血管内皮细胞的管形成而显示出有效的体外抗血管生成活性。其机制是通过促进 HIF-1 α 蛋白在 MDA-MB-468 细胞中的降解, 抑制内皮细胞和消除肿瘤细胞对 VEGF 的旁分泌刺激的双重抗血管生成活性[62]。HIF-1 α 是一种转录因子, 通过调节各种靶基因 (包括促血管生成基因 VEGF 和 VEGFR) 的表达来驱动新生血管生成, Den 等人研究, PAB 通过降低 HIF-1 α 的稳定性来抑制血管生成[63]。Yi 等人研究, PAB 通过 CD147 抑制了 ESCC 在体外和体内的血管生成[18]。Dong 等人研究发现 PAB 是抑制人微血管上皮细胞的血管形成[64]。

以上研究都在证实 PAB 通过抑制血管生成从而达到抑癌作用, 其作用机制与 VEGF 的调节有关联。

7 避免发生多重耐药

多重耐药性 (Multi-drug resistance, MDR) 是化疗的另一种难治性结局, 也是造成化疗失败的主要原因[65, 66]。P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 由于癌细胞中的过表达, 与 MDR 的关系密切是 MDR 转运蛋白, 长期以来一直被认为是克服癌症 MDR 的重要靶标[67]。Yu 等人研究, 利用 SGC7901/ADR (P-gp 过表达细胞系), 用于评 PAB 对 MDR 表型的功效。结果表明 PAB 通过下调 P-gp 和 Cox-2 的表达, 抑制细胞增殖, 诱导细胞凋亡, 规避 MDR, 提高化疗药物的体外敏感性[68]。Sun 等人研究中也表现出相同的结果[14]。

以上结果表明 PAB 在耐药方面在部分肿瘤中表现出避免产生耐药的作用, 但是对于如何逆转多重耐药的机制, 仍然有待研究, 为在开发抗耐药方面的药物提供了新的思路。

8 小结与展望

随着世界飞快发展, 对疾病的潜在靶点和基因有更多、更加深入的研究, 但是对于恶性肿瘤的治疗仍然是当今社会面临的一大挑战。虽抗肿瘤药物现已开发的种类很多, 具有强大的治疗作用, 但是伴随的不良反应也不容忽视。随着越来越多的中药复方、单味中药和中药有效成分均被发现能够对肿瘤细胞产生作用, 中国传统中医药对抗肿瘤作用存在巨大的研究潜力。目前, 研究发现 PAB 可以干预许多种分子靶点和途径来实现对肿瘤细胞的影响, PAB 通过抑制细胞增殖与阻滞细胞周期、诱导肿瘤细胞发生凋亡、肿瘤细胞发生自噬、抑制肿瘤侵袭和转移、诱导肿瘤细胞发生铁死亡、抑制血管生成的方式抑制肿瘤的发生发展, 同时可避免发生多重耐药的发生, 但是 PAB 对于某些恶性肿瘤的研究仍未涉及, 许多的通路以及分子尚未发掘, 并且对于 PAB 的研究多集中于体外探索, 对于体内研究的内容相对较少。因此仍然需要继续对 PAB 的作用机制及分子通路继续探究, 为在往后在探究 PAB 更多的机制提供新的依据以及探索思路。

基金项目

云南省科技厅应用基础研究计划-面上项目 (202201AT070043); 昆明医科大学第一附一附属医院 535 高层次人才培养计划 (2022535Q01); 云南振兴人才支持计划 (2019FF002(-011))

参考文献

- [1] MILLER K D, SIEGEL R L, LIN C C, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2022[J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(5): 409-436.
- [2] 赵文静, 杨之洵, 郑荣寿, 等. 2024 美国癌症统计报告解读及中美癌症流行情况对比[J]. *肿瘤防治研究*, 2024, 51(08): 630-641.
- [3] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-263.
- [4] LEMJABBAR-ALAOUI H, HASSAN O U, YANG Y W, et al. Lung cancer: Biology and treatment options[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1856(2): 189-210.
- [5] WANG K, CHEN Q, SHAO Y Y, et al. Anticancer activities of TCM and their active components against tumor metastasis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133: 111044.
- [6] 张浩杰, 孟园园, 杨延龙. 中医药治疗足癣临床研究进展[J]. *河北中医*, 2025, 47(02): 345-347+352.
- [7] 王瑛兰, 崔翠翠, 刘元昆. 复方土槿皮搽剂治疗足癣[J]. *中国民间疗法*, 2021, 29(01): 66.
- [8] 陶翠祥. 复方土槿皮酊的制备及质量控制和临床应用[J]. *内蒙古中医药*, 2013, 32(01): 137+145.
- [9] CHIU P, LEUNG L T, KO B C. Pseudolaric acids: isolation, bioactivity and synthetic studies[J]. *Nat Prod Rep*, 2010, 27(7): 1066-1083.
- [10] LIU M L, WU Y, HUANG Q, et al. A Systematic Review of the Immune-Regulating and Anticancer Activities of Pseudolaric Acid B[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 394.
- [11] YANG S P, YUE J M. Antifungal diterpenoids of *Pseudolarix kaempferi*, and their structure-activity relationship study[J]. *Bioorg Med Chem*, 2003, 11(21): 4577-4584.
- [12] ZHANG Y L, LU R Z, YAN A L. Inhibition of ova fertilizability by pseudolaric acid B in hamster[J]. *Zhongguo Yao Li Xue Bao*, 1990, 11(1): 60-62.
- [13] YAO G D, SHANG X Y, JIN Y X, et al. Activation of p53 contributes to pseudolaric acid B-induced senescence in human lung cancer cells in vitro[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(7): 919-929.
- [14] SUN Q, LI Y. The inhibitory effect of pseudolaric acid B on gastric cancer and multidrug resistance via Cox-2/PKC- α /P-gp pathway[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e107830.
- [15] ZHANG H, WU L, YANG L, et al. Pseudolaric acid B exhibits anti-cancer activity on human hepatocellular carcinoma through inhibition of multiple carcinogenic signaling pathways[J]. *Phytomedicine*, 2019, 59: 152759.
- [16] LI X, YANG J, LIU D, et al. Pseudolaric Acid B Inhibits Proliferation, Invasion and Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Human Pancreatic Cancer Cell[J]. *Yonsei Med J*, 2018, 59(1): 20-27.
- [17] JARRETT A M, SHAH A, BLOOM M J, et al. Mathematical models of tumor cell proliferation: A review of the literature[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2018, 18(12): 1271-1286.
- [18] YIN Z, ZHANG J, CHEN L, et al. Pseudolaric Acid B Inhibits Proliferation, Invasion, and Angiogenesis in Esophageal Squamous Cell Carcinoma Through Regulating CD147[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 4561-4573.
- [19] WONG V K, CHIU P, CHUNG S S, et al. Pseudolaric acid B, a novel microtubule-destabilizing agent that circumvents multidrug resistance phenotype and exhibits antitumor activity in vivo[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(16): 6002-6011.
- [20] CASTEDO M, PERFETTINI J L, ROUHIER T, et al. Cell death by mitotic catastrophe: a molecular definition[J]. *Oncogene*, 2004, 23(16): 2825-2837.
- [21] SCHMIDT M, BASTIANS H. Mitotic drug targets and the development of novel anti-mitotic anticancer drugs[J]. *Drug Resist Updat*, 2007, 10(4-5): 162-181.
- [22] SARKAR T, MUKHERJEE A, CHATTOPADHYAY S, et al. Interaction of pseudolaric acid B with the colchicine site of tubulin[J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(4): 444-450.
- [23] CHENG Z, LU X, FENG B. A review of research progress of antitumor drugs based on tubulin targets[J]. *Transl Cancer Res*, 2020, 9(6): 4020-4027.

- [24] ROGALSKA A, MIŚKIEWICZ K, MARCZAK A. Inhibitors of microtubule polymerization- new natural compounds as potential anti-cancer drugs[J]. Postępy Hig Med Dosw (Online), 2015, 69: 571-585.
- [25] WEN C, HUANG L, CHEN J, et al. Pseudolaric acid B induces mitotic arrest and apoptosis in both 5-fluorouracil-sensitive and -resistant colorectal cancer cells[J]. Cancer Lett, 2016, 383(2): 295-308.
- [26] YU J, LIU Y, GONG H, et al. Pseudolaric acid B inhibits proliferation in SW579 human thyroid squamous cell carcinoma[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(5): 7195-7202.
- [27] LI S, GUO L. Pseudolaric acid B induces G2/M arrest and inhibits invasion and migration in HepG2 hepatoma cells[J]. Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi, 2018, 34(1): 59-64.
- [28] GOLDAR S, KHANIANI M S, DERA KHSHAN S M, et al. Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(6): 2129-2144.
- [29] PISTRITTO G, TRISCIUOGLIO D, CECI C, et al. Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies[J]. Aging (Albany NY), 2016, 8(4): 603-619.
- [30] GUAN D, LI C, LI Y, et al. Pseudolaric acid B inhibits PAX2 expression through Wnt signaling and induces BAX expression, therefore promoting apoptosis in HeLa cervical cancer cells[J]. J Gynecol Oncol, 2019, 30(5): e77.
- [31] GONG X, LI D, LI N, et al. Pseudolaric acid B induces apoptosis via activation of c-Jun N-terminal kinase and caspase-3 in HeLa cells[J]. Exp Mol Med, 2004, 36(6): 551-556.
- [32] YAO G, YANG L, HU Y, et al. ATM-p53 pathway causes G2/M arrest, but represses apoptosis in pseudolaric acid B-treated HeLa cells[J]. Arch Biochem Biophys, 2014, 558: 51-60.
- [33] YAO G D, SHANG X Y, JIN Y X, et al. Blocking the utilization of glucose induces the switch from senescence to apoptosis in pseudolaric acid B-treated human lung cancer cells in vitro[J]. Acta Pharmacol Sin, 2017, 38(10): 1401-1411.
- [34] GUAN T, YANG Y. Role of pseudolaric acid B in A549 lung cancer cell proliferation and apoptosis[J]. Mol Med Rep, 2014, 9(1): 144-148.
- [35] LI K S, LI P B, HE K, et al. Effect of pseudolaric acid B on gastric cancer cells: inhibition of proliferation and induction of apoptosis[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(48): 7555-7559.
- [36] ZHAO D, LIU Z, DING J, et al. Pseudolaric acid B induces apoptosis via proteasome-mediated Bcl-2 degradation in hormone-refractory prostate cancer DU145 cells[J]. Toxicol In Vitro, 2012, 26(4): 595-602.
- [37] LUO D, LIU R, CHEN J, et al. Pseudolaric acid B suppresses NSCLC progression through the ROS/AMPK/mTOR/autophagy signalling pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2024, 175: 116614.
- [38] WIRAWAN E, VANDEN BERGHE T, LIPPENS S, et al. Autophagy: for better or for worse[J]. Cell Res, 2012, 22(1): 43-61.
- [39] RUSSELL R C, GUAN K L. The multifaceted role of autophagy in cancer[J]. Embo j, 2022, 41(13): e110031.
- [40] MATHEW R, KARANTZA-WADSWORTH V, WHITE E. Role of autophagy in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7(12): 961-967.
- [41] YU J, QIAN H, LI Y, et al. Bcl-2 family proteins were involved in pseudolaric acid B-induced autophagy in murine fibrosarcoma L929 cells[J]. J Pharmacol Sci, 2008, 107(3): 295-302.
- [42] YU J, QIAN H, LI Y, et al. Pseudolaric acid B induced cell cycle arrest, autophagy and senescence in murine fibrosarcoma l929 cell[J]. Int J Med Sci, 2013, 10(6): 707-718.
- [43] YU J, LIU Y, GUO C, et al. Pseudolaric acid B activates autophagy in MCF-7 human breast cancer cells to prevent cell death[J]. Oncol Lett, 2016, 11(3): 1731-1737.
- [44] WANG Y, LIU Y, WU Q, et al. Pseudolaric acid B induced autophagy, but not apoptosis, in MRC5 human fibroblast cells[J]. Oncol Lett, 2018, 15(1): 863-870.
- [45] WOLF K, FRIEDL P. Molecular mechanisms of cancer cell invasion and plasticity[J]. Br J Dermatol, 2006, 154(Suppl 1): 11-15.
- [46] FRIEDL P, WOLF K. Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms[J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(5): 362-374.
- [47] JUSTUS C R, LEFLOE N, DIXON D A. In vitro cell migration and invasion assays[J]. J Vis Exp, 2014(88).
- [48] MONDAL S, ADHIKARI N, BANERJEE S, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its inhibitors in cancer: A minireview[J]. Eur J Med Chem, 2020, 194: 112260.

- [49] HUNTER K W. Ezrin, a key component in tumor metastasis[J]. Trends Mol Med, 2004, 10(5): 201-204.
- [50] ONDER T T, GUPTA P B, MANI S A, et al. Loss of E-cadherin promotes metastasis via multiple downstream transcriptional pathways[J]. Cancer Res, 2008, 68(10): 3645-3654.
- [51] VAN ROY F, BERX G. The cell-cell adhesion molecule E-cadherin[J]. Cell Mol Life Sci, 2008, 65(23): 3756-3788.
- [52] WANG D, WANG J, CAO Y, et al. Pseudolaric acid B inhibits gastric cancer cell metastasis in vitro and in haematogenous dissemination model through PI3K/AKT, ERK1/2 and mitochondria-mediated apoptosis pathways[J]. Exp Cell Res, 2017, 352(1): 34-44.
- [53] WANG D, CAO Y, ZHENG L, et al. Pseudolaric acid B induces endometrial cancer Ishikawa cell apoptosis and inhibits metastasis through AKT-GSK-3 β and ERK1/2 signaling pathways[J]. Anticancer Drugs, 2017, 28(6): 603-612.
- [54] STOCKWELL B R. Ferroptosis turns 10: Emerging mechanisms, physiological functions, and therapeutic applications[J]. Cell, 2022, 185(14): 2401-2421.
- [55] ZHAO L, ZHOU X, XIE F, et al. Ferroptosis in cancer and cancer immunotherapy[J]. Cancer Commun (Lond), 2022, 42(2): 88-116.
- [56] WANG Z, DING Y, WANG X, et al. Pseudolaric acid B triggers ferroptosis in glioma cells via activation of Nox4 and inhibition of xCT[J]. Cancer Lett, 2018, 428: 21-33.
- [57] MIAO Y, CHEN Y, XUE F, et al. Pseudolaric acid B triggers ferritinophagy and ferroptosis via upregulating NCOA4 in lung adenocarcinoma cells[J]. J Cancer Res Ther, 2023, 19(6): 1646-1653.
- [58] FERRARA N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2001, 280(6): C1358-C1366.
- [59] GENSICKA M, GLOWKA M, SOCHAWSKI S. Inhibitors of Angiogenesis in Cancer Therapy - Synthesis and Biological Activity[J]. Curr Med Chem, 2015, 22(33): 3830-3847.
- [60] AMINI A, MASOUMI MOGHADDAM S, MORRIS D L, et al. The critical role of vascular endothelial growth factor in tumor angiogenesis[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2012, 12(1): 23-43.
- [61] TAN W F, ZHANG X W, LI M H, et al. Pseudolaric acid B inhibits angiogenesis by antagonizing the vascular endothelial growth factor-mediated anti-apoptotic effect[J]. Eur J Pharmacol, 2004, 499(3): 219-228.
- [62] LI M H, MIAO Z H, TAN W F, et al. Pseudolaric acid B inhibits angiogenesis and reduces hypoxia-inducible factor 1 α by promoting proteasome-mediated degradation[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(24): 8266-8274.
- [63] DENG H, ZHANG L, ZHANG Y, et al. Design, synthesis, and evaluation of antitumor activity in Pseudolaric acid B Azole derivatives: Novel and potent angiogenesis inhibitor via regulation of the PI3K/AKT and MAPK mediated HIF-1/VEGF signaling pathway[J]. Eur J Med Chem, 2024, 278: 116813.
- [64] TONG Y G, ZHANG X W, GENG M Y, et al. Pseudolaric acid B, a new tubulin-binding agent, inhibits angiogenesis by interacting with a novel binding site on tubulin[J]. Mol Pharmacol, 2006, 69(4): 1226-1233.
- [65] BUKOWSKI K, KCIUK M, KONTEK R. Mechanisms of Multidrug Resistance in Cancer Chemotherapy[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(9).
- [66] LI Y J, LEI Y H, YAO N, et al. Autophagy and multidrug resistance in cancer[J]. Chin J Cancer, 2017, 36(1): 52.
- [67] WAGHRAY D, ZHANG Q. Inhibit or Evade Multidrug Resistance P-Glycoprotein in Cancer Treatment[J]. J Med Chem, 2018, 61(12): 5108-5121.
- [68] YU F, WANG Q, ZHANG Z, et al. Pseudolaric acid B circumvents multidrug resistance phenotype in human gastric cancer SGC7901/ADR cells by downregulating Cox-2 and P-gp expression[J]. Cell Biochem Biophys, 2015, 71(1): 119-126.