

·综述·

DOI: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2018.05.01

青蒿素及其衍生物的抗肿瘤机制

唐瑞龙, 宋鑫*

(昆明医科大学第三附属医院(云南省肿瘤医院), 肿瘤生物治疗中心, 昆明 650118)

摘要 恶性肿瘤是严重威胁人类健康的重大疾病。尽管治疗手段不断发展,但推广度及疗效仍极为有限。新近研究发现,经典抗疟一线药青蒿素及其衍生物具有广泛抗肿瘤活性。大量研究提示,青蒿素及其衍生物通过细胞毒性效应直接杀死肿瘤细胞,也可诱导细胞周期阻滞从而抑制细胞增殖。另一方面,可通过凋亡、自噬、铁死亡途径导致细胞死亡。还可调控肿瘤微环境,从而抑制肿瘤细胞侵袭与转移。然而,尽管青蒿素及其衍生物展现出强大的抗肿瘤潜能,但其作用机制仍十分复杂。本文就青蒿素及其衍生物的抗肿瘤机制及其研究进展作一综述。

关键词 青蒿素; 抗肿瘤机制; 细胞周期; 细胞死亡; 细胞运动

中图分类号 R73

Anti-tumor Mechanisms of Artemisinin and Its Derivatives

TANG Rui-Long, SONG Xin*

(Department of Cancer Biotherapy Center, The Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University
(Tumor Hospital of Yunnan Province), Kunming 650118, Yunnan, China)

Abstract Malignant tumors are serious diseases threatening human health and the efficacy of anti-cancer therapy are still limited. As classic first-line anti-malaria drug, artemisinin and its derivatives were found to have extensive anti-tumor activities in recent studies. Evidences have suggested that artemisinin and its derivatives directly kill tumor cells through cytotoxic effects, and inhibit cell proliferation through cell cycle arrest. On the other hand, they can induce cell death through apoptosis, autophagy, and ferroptosis, and inhibit tumor cell invasion and metastasis through regulating tumor microenvironment. Although artemisinin and its derivatives exhibit potent antitumor properties, the underlying mechanisms are still undetermined. In this review, the progresses of anti-tumor mechanism of artemisinin and its derivatives is summarized.

Key words artemisinin; antitumor mechanism; cell cycle; cell death; cell motility

青蒿素 (artemisinin or qinghaosu) 是一种提取自传统中草药黄花蒿,并具有过氧桥键的倍半萜内酯化合物^[1,2]。青蒿素作为抗疟疾的一线药物^[3],同时还具有抗炎^[4]、调节免疫^[5]、抗血吸虫^[6]等活性。但早期的研究表明,青蒿素的水溶性差,生物利用度低,半衰期较短。这在很大程度上限制了青蒿素的临床利用^[7,8]。随着青蒿素化学结构的不断修饰改进,一系列青蒿素类衍生物得以合成,如双氢青蒿素、青蒿琥酯、青蒿甲醚和青蒿乙醚等 (Fig. 1)。青蒿素类衍生物的溶解度及生物利用度的改良,大大提高青蒿素的应用范围。新近研究发现,青蒿素及其衍生物具有抑制多种肿瘤,如肝癌^[9]、肺癌^[10]、乳腺癌^[11]、结直肠

收稿日期: 2017-12-01; 修回日期: 2017-12-20; 接受日期: 2017-12-22

国家自然科学基金项目 (No. U1502222, 8147005, 81660455); 云南省医学领军人才项目 (No. L-201213) 和云南省卫生科技计划项目 (No. 2016NS112, 2016NS113, 2017NS177, 2017NS178) 资助

* 通讯作者 Tel: 0871-68179145; E-mail: songxin68@126.com

Received: December 1, 2017; Revised: December 20, 2017; Accepted: December 22, 2017

Supported by National Natural Science Foundation of China (No. U1502222, 8147005, 81660455); Project of Leading Talent of Health Systems of Yunnan Province (No. L-201213) and Yunnan Provincial Technology Project of Health (No. 2016NS112, 2016NS113, 2017NS177, 2017NS178)

* Corresponding author Tel: 0871-68179145; E-mail: songxin68@126.com

癌^[12]及黑色素瘤^[13]等恶性肿瘤的活性。然而,青蒿类药物抗肿瘤靶点多样,导致其抗肿瘤机制尚未阐明。目前研究发现,青蒿类药物可抑制肿瘤细胞增殖,诱导细胞周期阻滞,抑制肿瘤细胞侵袭转移,促进肿瘤细胞凋亡,诱导细胞铁死亡及自噬性死亡等途径,抑制甚至杀死肿瘤。本文主要综述青蒿素及其衍生物在抑制肿瘤生长方面的机制,以期为进一步肿瘤临床治疗提供理论依据。

1 青蒿素与细胞周期

尽管多种机制被发现可能与肿瘤的发生发展相关,但是几乎所有肿瘤均有一个共同特征:细胞周期紊乱和细胞失控性生长^[14]。细胞周期调控是一个极其精密的过程。在相关基因的调控下,细胞周期蛋白(cyclins)时相性表达,激活相应的细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent-kinase, CDK),驱动细胞有序地通过 G₁、S、G₂ 期进入有丝分裂 M 期。一旦细胞周期进程被打乱,可能导致肿瘤的发生^[15]。令人感兴趣的是,研究表明,青蒿素及其衍生物通过影响细胞周期蛋白的表达,并且增强 CDK 抑制物(cyclin-dependent kinase inhibitor, CKI)作用,从而导致肿瘤细胞发生相应周期阻滞^[16, 17]。

1.1 青蒿素通过调控周期蛋白表达,导致肿瘤细胞周期阻滞

细胞周期蛋白依赖性激酶通过与其特定的细胞周期蛋白结合,调控细胞周期的进程。研究表明,青蒿素可诱导胆囊癌细胞出现 G₁ 期阻滞,且 G₁ 期相关蛋白 CDK4、细胞周期蛋白 D1 降低与 P16 升高^[15]。同时,在人乳腺癌细胞中,青蒿素可下调 CDK2、CDK4、细胞周期蛋白 E、细胞周期蛋白 D1 及 E2F1 转录因子,同时降低 E2F1 与 CDK2 和细胞周期蛋白 E 启动子结合能力,进而导致细胞 G₁ 期阻滞^[18]。进一步研究发现,青蒿素衍生物双氢青蒿素(dihydroartemisinin, DHA)同样可诱导鼻咽癌细胞 CNE-2 出现 G₁ 期阻滞,且下调 CDK2、CDK4、细胞周期蛋白 D1,上调其上游调控蛋白 P16^[19]。另一方面,也有研究发现:双氢青蒿素可导致头颈鳞癌细胞 HEP-2 与 CNE-1 出现明显的 G₂/M 期阻滞,降低周期相关蛋白细胞周期蛋白 B1 及 CDK1,同时抑制细胞周期的调控因子 FOXM1^[20]。FOXM1 作为细胞周期进程的关键因子,可调控细胞周期蛋白 B1、细胞周期蛋白 D1 等基因表达,从而促进细胞周期进程。由此可见,双氢青蒿素可通过抑制 FOXM1 表达降低细胞周期蛋白 B1,进一步通过负反馈引起

CDK1 含量降低,最终导致细胞 G₂/M 期阻滞。综上所述,青蒿素及其衍生物能够通过改变肿瘤细胞中的细胞周期蛋白及 CDKs 含量,从而引起细胞发生相应周期阻滞。

1.2 青蒿素通过增强 CKIs 作用导致肿瘤细胞周期阻滞

细胞周期蛋白依赖性激酶抑制物(CKIs)通过抑制 CDKs 的活性影响细胞周期进程。CKIs 家族主要包括 2 类:一类为 P21 和 P27;另一类为 p16^{INK4} 和 p15^{INK4B}。p21 与 p27 是引起肿瘤细胞周期阻滞中 2 个重要的分子,主要同 CDK2 与 CDK4 抑制相关^[21]。研究发现,双氢青蒿素处理胃癌细胞后,可显著增强 P21 和 P27 活性,抑制细胞周期蛋白 D1、细胞周期蛋白 E 表达,诱导细胞周期 G₁ 期阻滞^[16]。在子宫内膜癌中,青蒿素可激活 ERK1/2 信号通路,增强 AP1 与 P53 启动子结合能力,上调 P21 和 P27,最终导致子宫内膜癌细胞 G₁ 期阻滞^[22]。提示青蒿素及其相关衍生物可能通过活化 CKI 家族中 P21 和 P27,进而诱导细胞 G₁ 期阻滞。

2 青蒿素与细胞死亡

细胞死亡是细胞生命的最终阶段,主要分为:外源性细胞凋亡、胱天蛋白酶依赖和非依赖的内源性细胞凋亡、自噬性细胞死亡、铁死亡等。细胞凋亡是指为了维持内环境稳定,由基因控制的细胞自主的有序死亡。自噬即细胞自我消化,是真核生物用于降解和回收利用细胞内生物大分子和受损细胞器的过程,以实现细胞本身的代谢需要和某些细胞器的更新。铁死亡是一种新型的细胞死亡方式,因谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)活性降低,导致脂质代谢障碍,从而与胞内二价铁离子反应,产生大量活性氧(ROS)引起细胞死亡。研究表明,青蒿素及其衍生物能够通过诱导细胞凋亡、引起铁死亡及自噬性死亡途径杀死肿瘤细胞。

2.1 青蒿素诱导细胞凋亡

凋亡(apoptosis)指细胞在特定的时空发生“自杀”现象,并且受到机体严密的监控^[23]。研究发现,青蒿素及其衍生物主要通过线粒体途径导致凋亡发生(Fig. 2),且经典的信号通路及相关 microRNA 也参与其中。

2.1.1 青蒿素通过线粒体途径诱导细胞凋亡 线粒体不仅是有核细胞能量代谢场所,还是细胞凋亡发生的中心。细胞凋亡包括 3 种途径:死亡受体途径、线粒体途径及内质网途径。其中,线粒体途径是

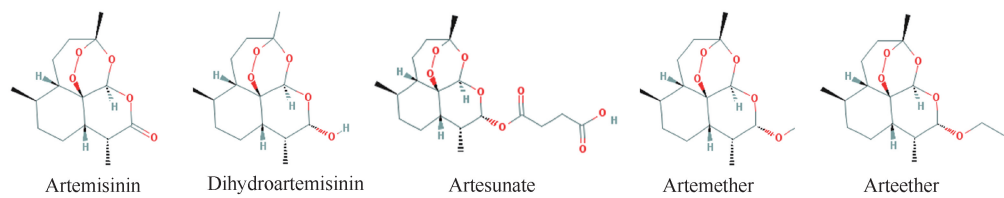


Fig.1 The schematic diagram of molecular structure of artemisinin and its main derivatives The formula and molar mass (g/mol) of artemisinin and its four main derivatives were listed: Artemisinin ($C_{15}H_{22}O_5$; 282. 332); Dihydroartemisinin ($C_{15}H_{24}O_5$; 284. 352); Artesunate ($C_{19}H_{28}O_8$; 384. 421); Artemether ($C_{16}H_{26}O_5$; 298. 374); Arteether ($C_{17}H_{28}O_5$; 312. 401)

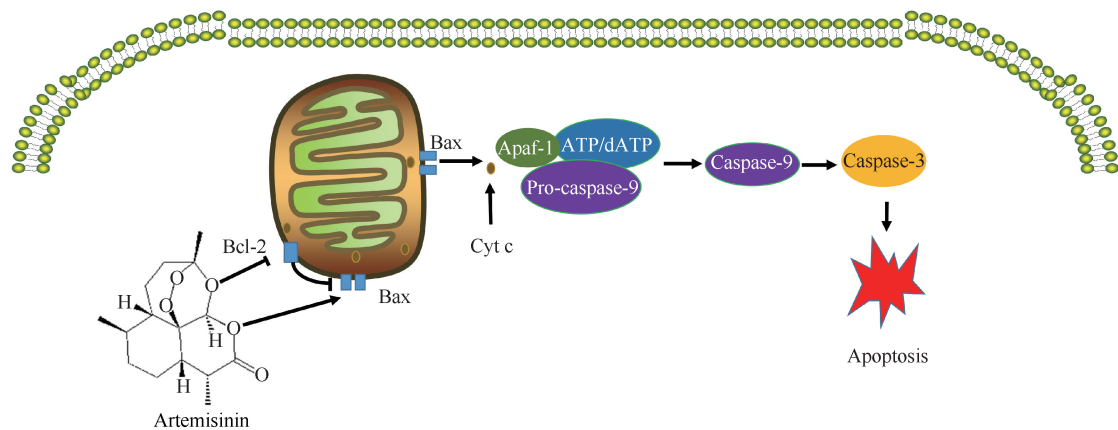


Fig.2 The mechanisms by which artemisinin induces apoptosis are mainly through mitochondrial apoptosis pathway Artemisinin can downregulate the expression of Bcl-2 and upregulate the expression of Bax, which interacts with mitochondrial membrane permeability transition pore (PTP), and results in the opening of PTP, leading to the release of cytochrome c (Cyt c) from mitochondria to cytosol through PTP and the collapse of mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi$). In cytosol, Cyt c binds to apoptotic protease-activating factor 1 (Apaf-1) (green) in the presence of the ATP/dATP (blue) to form apoptosome. Once formed, apoptosome can recruit and cleave pro-caspase-9 (purple) to its active form, caspase-9, which activates the effector caspase-3 (yellow), leading to apoptosis

青蒿素类衍生物导致肿瘤细胞凋亡的主要途径。在内源性损伤因素介导下,线粒体跨膜电位($\Delta\psi$)消失,继而膜上渗透转运孔开放,细胞色素 c 从线粒体中释放,并与 Apaf-1、ATP/dATP 结合形成凋亡复合体。该复合体募集 Pro-caspase-9,导致 Pro-caspase-9 水解活化,引起下游胱天蛋白酶级联激活^[24],从而导致凋亡发生。

一方面,青蒿素及其衍生物能够通过诱导胱天蛋白酶表达,促进细胞凋亡。用青蒿素处理胆囊癌细胞 GBC-SD 及 NOZ,可观察到膜电位($\Delta\psi$)消失,细胞色素 c 释放,活性氧(ROS)、胱天蛋白酶 3 及 PARP 含量升高,最终导致细胞凋亡^[25]。同样,衍生物双氢青蒿素及青蒿琥酯亦具有上述活性。双氢青蒿素可导致肝癌细胞线粒体膜电位($\Delta\psi$)迅速下降,细胞色素 c 从线粒体中释放,进而引起 ROS、胱天蛋白酶-9 及胱天蛋白酶-3 含量上升,诱导细胞凋亡^[26];青蒿琥酯刺激胱天蛋白酶-3 及胱天蛋白酶-9 高表达,诱导人骨肉瘤细胞凋亡^[27]。表明青蒿素及其衍生物通过线粒体途径上调胱天蛋白酶含量,从而促进肿瘤细胞凋亡。另一方面,青蒿素及其衍生

物还可通过调控 Bcl-2 家族基因表达,诱导细胞凋亡。研究发现,青蒿素及其衍生物可通过减少 Bcl-2 含量并提高 Bax/Bcl-2 比率,促进细胞凋亡。Bcl-2 作为抗凋亡蛋白质,首次在依赖 IL-3 的 B 淋巴细胞中发现,并且转染 Bcl-2 基因,能够阻止缺失 IL-3 的 B 淋巴细胞凋亡^[28]。而 Bax 是与 Bcl-2 功能相反的促凋亡因子。研究表明,青蒿琥酯处理乳腺癌 MCF-7 细胞后, Bcl-2 显著降低, Bax 及 Bax/Bcl-2 升高^[29]。在肺癌细胞 A549 中,双氢青蒿素处理引起细胞核小体出现,核固缩发生,随着药物浓度增加最终出现核碎裂。同时,在蛋白质水平发现, Bax 表达升高, Bcl-2 表达降低, Bax/Bcl-2 比率增加^[30]。提示青蒿素及其衍生物能够通过抑制 Bcl-2 表达,促进 Bax 表达,从而促进肿瘤细胞凋亡。

2.1.2 青蒿素通过调控 MAPK 信号通路诱导细胞凋亡 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 是一组能被诸如细胞因子、神经递质、激素等激活的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶。MAPK 激酶通路的基本组成是保守的三级激酶模式。在细胞增殖、分化、凋亡等多种重要的细胞生理

及病理过程中起作用^[31]。MAPK 家族包含 6 个亚家族,其中,p38 MAPK、JNK1/2 主要参与细胞凋亡发生^[32]。研究发现,双氢青蒿素能够导致胃癌细胞 BGC-823 凋亡,磷酸化的 p38、JNK1/2 表达增加。由此认为,JNK1/2 与 p38 MAPK 信号通路参与双氢青蒿素(dihydroartemisinin,DHA)引起的胃癌细胞凋亡^[33]。青蒿琥酯处理胚胎性横纹肌肉瘤细胞 TE671 与 RD18,同样出现明显的细胞凋亡现象。同时,p38 的磷酸化水平升高^[34],提示 JNK1/2 与 p38 MAPK 信号通路参与青蒿素及其衍生物诱导的肿瘤细胞凋亡。

2.1.3 青蒿素通过调控 microRNA 参与凋亡发生 MicroRNA(miRNA)是一类长约 22 个核苷酸的非编码小分子 RNA。可通过与靶 mRNA 分子 3'非编码区域(3'-UTR)完全或不完全互补配对,降解 mRNA 或抑制其翻译。在个体发育、细胞增殖、凋亡及分化等生命活动中发挥重要作用^[35]。青蒿素及其衍生物能够通过调节 microRNAs 活性,从而调节肿瘤细胞凋亡。研究表明,在肝癌细胞中,miR-16 能够结合在 COX-2 mRNA 的 3'非编码区,从而抑制肝癌细胞生长,引起细胞凋亡^[36-38]。更重要的是,将青蒿琥酯注入患膀胱癌的小鼠皮下,观察到凋亡发生。同时,miR-16 升高,COX-2 减少^[39]。在胃癌细胞 SGC-7901、BGC823、MGC803 中,DHA 能引起 Bcl-2 降低,并且细胞发生凋亡。进一步研究表明,miR-15b 与 miR-16 可以通过 3'端非编码区在转录后水平抑制 Bcl-2 表达,间接参与胃癌细胞对 DHA 敏感性调节,从而促进细胞凋亡^[16]。

2.2 青蒿素导致细胞自噬性死亡

自噬(autophagy),即细胞自我消化,其在肿瘤的发生发展中,既有促进作用也有抑制作用。在肿瘤的早期,自噬主要发挥抑制肿瘤生长的作用;另一方面,在肿瘤生长的晚期,由于细胞处于营养缺乏和低氧等不利环境,自噬则通过降解胞内大分子物质和细胞器为肿瘤细胞的生长提供能量支持,从而利于肿瘤细胞生长。大量研究表明,青蒿素及其衍生物能够促进肿瘤细胞发生自噬性细胞死亡。用 DHA 处理舌鳞状细胞癌细胞 Cal-27,观察到自噬小体形成,双层膜结构数量增加,LC3-II、BECN1 表达升高。研究表明,细胞核中磷酸化 STAT3 能够与 Beclin-1 启动子结合从而抑制转录,抑制 BECN1/PIK3C3 复合体形成,阻止自噬小体形成;而 DHA 能够阻止磷酸化 STAT3 核移位,从而促进自噬小体形成^[40]。用青蒿琥酯处理恶性淋巴瘤细胞后,能观察

到自噬小体出现,自噬相关蛋白 Beclin-1 及 LC3-I/II 表达增加^[41]。青蒿素及其衍生物还能导致多种肿瘤发生自噬性细胞死亡,如肺癌^[42]、脑胶质瘤^[43]和结肠癌^[44]等,为肿瘤治疗提供新的思路。

2.3 青蒿素导致细胞铁死亡

铁死亡(ferroptosis)是一种有别于细胞凋亡的程序性坏死。因谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活性降低,导致谷胱甘肽含量降低,脂质氧化物不能充分被降解,从而与胞内 Fe^{2+} 反应产生大量 ROS 导致细胞死亡^[45]。在青蒿素及其衍生物导致的肿瘤细胞死亡中发挥重要作用。研究表明,DHA 能够使头颈鳞癌细胞 ROS 含量升高,铁死亡的标记物谷胱甘肽过氧化物酶含量减少。同时用铁螯合剂预先处理细胞后发现,上述改变减弱甚至消失^[20]。因此得出结论:DHA 能够使头颈鳞癌细胞发生铁死亡。同样在胰腺癌细胞中,青蒿琥酯能够与 Fe^{2+} 反应,产生 ROS,直接导致胰腺癌细胞死亡^[46]。目前研究发现,青蒿素及其衍生物能够导致头颈鳞癌^[47]、胰腺癌^[46]等多种肿瘤发生铁死亡。由此可见,青蒿素及其衍生物通过铁死亡杀死肿瘤细胞是未来肿瘤治疗的新方向。

3 青蒿素与细胞运动

侵袭转移是恶性肿瘤的基本生物学特征,是导致肿瘤患者死亡的主要原因^[48]。现代生物学研究表明:肿瘤侵袭转移是在基因调控下,多元体系共同参与的过程,包括癌基因与抑癌基因、肿瘤微环境、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases,MMPs)、血管生成等^[49]。这些因素互相影响形成庞大的复杂网络体系,共同调节肿瘤的侵袭转移。大量研究表明,青蒿素及其衍生物主要通过增强基质金属蛋白酶表达,抑制肿瘤血管生成,从而抑制肿瘤细胞的侵袭和转移。

3.1 青蒿素增强基质金属蛋白酶表达

溶解酶系统也称基质金属蛋白酶(MMPs)。这类蛋白质能够降解基底膜和细胞外基质,为肿瘤细胞的侵袭与转移提供前提。目前研究发现,MMP-2、MMP-9 与肿瘤细胞的侵袭转移高度相关。并且在黑色素瘤^[50]、舌鳞状细胞癌^[51]中高表达。敲除两者,可显著抑制肿瘤细胞的侵袭与转移能力。采用 DHA 处理卵巢癌细胞 HO-8910PM,观察到细胞侵袭及迁徙能力减弱,MMP-9 蛋白含量降低^[52]。由此得出结论,DHA 通过抑制 MMP-9 表达,从而减弱肿瘤细胞侵袭与转移能力。同样在胶质瘤 U87 细胞中,

青蒿甲醚能够抑制细胞迁移,当浓度达到 150 $\mu\text{mol/L}$ 时,MMP-2 及-9 活性被显著抑制^[53]。综上所述,青蒿素及其衍生物能够通过抑制 MMPs 表达,从而抑制肿瘤细胞侵袭与转移。

3.2 青蒿素抑制肿瘤血管生成

原发肿瘤与继发肿瘤细胞的生长均需要血管不断的养分供给。并且,实体瘤内血管数量与肿瘤转移潜能成正相关。由此可见,血管生成是肿瘤细胞生长与转移的关键因素。肿瘤血管的生成需要多种生长因子共同参与,如酸性成纤维细胞生长因子(acidic fibroblast growth factor, aFGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)和 IL-8。有报道^[54]发现,DHA 通过抑制 VEGF 与 MMP-9,而抑制胰腺癌细胞生长。在头颈鳞癌细胞 HEP-2 与 CNE-1 中,DHA 能够导致 VEGF 与 MMP-9 表达降低。同时,DHA 处理内皮细胞发现,当浓度达到 70 $\mu\text{mol/L}$ 时,内皮血管长度被显著抑制^[20]。同样的现象在慢性粒细胞白血病中也存在。运用青蒿琥酯处理髓系白血病细胞 K562,可观察到 VEGF 表达降低。并且随着浓度的提高,微血管的长度及数量明显减少^[55]。综上所述,青蒿素及其衍生物通过抑制血管生长因子,来抑制肿瘤血管的生长,减少肿瘤养分供给,达到抑制肿瘤生长与转移的目的。

4 问题与展望

作为祖国医药的突出代表,青蒿素及其衍生物具有广泛的抗肿瘤活性及广阔的研究空间。当前研究表明,青蒿素及其衍生物可通过调节细胞周期中相关蛋白质含量,导致细胞发生周期阻滞,从而抑制肿瘤细胞增殖;调控凋亡相关蛋白质表达,诱导细胞凋亡。更重要的是,新近研究发现,青蒿素及其衍生物可通过自噬性细胞死亡和铁死亡,直接杀死肿瘤细胞。另一方面,其可通过抑制 MMPs 及肿瘤血管生成因子活性,抑制肿瘤侵袭与转移。虽然青蒿素及其衍生物展现出强大的抗肿瘤功效。然而,诸多问题还有待进一步解决。首先,动物毒性试验发现,青蒿素衍生物可对动物神经系统、造血系统和心血管系统等造成不同程度损害。那么,对人体是否造成同样甚至更严重的损害?人体用药安全剂量是多少?何种给药途径最有利于药物吸收及药效发挥?青蒿素类药物与化疗药物及放射治疗联合应用,能

否提高放化疗敏感性?这一系列问题都有待于大规模药物临床前试验明确。其次,肿瘤的发生发展是多因素多步骤,并且是遗传与环境因素共同参与的生物学现象。后续试验应明确青蒿素类化合物的直接作用靶标,研发靶向性青蒿素类药物。并且不断改造青蒿素类药物化学结构,降低其毒副作用,提高其血液溶解度及抗肿瘤能力。让人欣慰的是,目前大量关于青蒿素及其衍生物临床试验及基础研究在不断进行中,其抗肿瘤作用机制将被进一步揭示。相信将来青蒿素类药物能更好用于肿瘤临床治疗,给患者带来福音。

参考文献 (References)

- [1] Klayman DL. Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China[J]. Science, 1985, **228**(4703): 1049-1055
- [2] O'Neill PM, Posner GH. A medicinal chemistry perspective on artemisinin and related endoperoxides[J]. J Med Chem, 2004, **47**(12): 2945-2964
- [3] Nambozi M, Kabuya JB, Hachizovu S, *et al.* Artemisinin-based combination therapy in pregnant women in Zambia: efficacy, safety and risk of recurrent malaria[J]. Malar J, 2017, **16**(1): 199
- [4] Chougouo RD, Nguekeu YM, Dzoyem JP, *et al.* Anti-inflammatory and acetylcholinesterase activity of extract, fractions and five compounds isolated from the leaves and twigs of Artemisia annua growing in Cameroon[J]. Springerplus, 2016, **5**(1): 1525
- [5] Hou L, Huang H. Immune suppressive properties of artemisinin family drugs[J]. Pharmacol Ther, 2016, **166**: 123-127
- [6] Keiser J, Utzinger J. Artemisinins and synthetic trioxolanes in the treatment of helminth infections[J]. Curr Opin Infect Dis, 2007, **20**(6): 605-612
- [7] Li X, Zhou Y, Liu Y, *et al.* Preclinical efficacy and safety assessment of artemisinin-chemotherapeutic agent conjugates for ovarian cancer[J]. EBioMedicine, 2016, **14**: 44-54
- [8] Bhaw-Luximon A, Jhurry D. Artemisinin and its derivatives in cancer therapy: status of progress, mechanism of action, and future perspectives[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2017, **79**(3): 451-466
- [9] Ilamathi M, Santhosh S, Sivaramakrishnan V. Artesunate as an anti-cancer agent targets Stat-3 and favorably suppresses hepatocellular carcinoma[J]. Curr Top Med Chem, 2016, **16**(22): 2453-2463
- [10] Tong Y, Liu Y, Zheng H, *et al.* Artemisinin and its derivatives can significantly inhibit lung tumorigenesis and tumor metastasis through Wnt/beta-catenin signaling[J]. Oncotarget, 2016, **7**(21): 31413-31428
- [11] Wang D, Zhao Y, Wang Y, *et al.* 25-methoxyl-dammarane-3beta, 12beta, 20-triol and artemisinin synergistically inhibit MDA-MB-231 cell proliferation through downregulation of testis-specific protease 50 (TSP50) expression[J]. Tumour Biol, 2016, **37**(9): 11805-11813
- [12] Krishna S, Ganapathi S, Ster IC, *et al.* A randomised, double blind, placebo-controlled pilot study of oral artesunate therapy for colorectal cancer[J]. EBioMedicine, 2014, **2**(1): 82-90
- [13] Dwivedi A, Mazumder A, Du Plessis L, *et al.* In vitro anti-cancer effects of artemisone nano-vesicular formulations on melanoma cells[J]. Nanomedicine, 2015, **11**(8): 2041-2050
- [14] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. Cell, 2011, **144**(5): 646-674
- [15] Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer[J]. Nature, 2001, **411**(6835): 342-348

- [16] Sun H, Meng X, Han J, *et al.* Anti-cancer activity of DHA on gastric cancer--an in vitro and in vivo study[J]. *Tumour Biol*, 2013, **34**(6): 3791-3800
- [17] Du S, Xu G, Zou W, *et al.* Effect of dihydroartemisinin on UHRF1 gene expression in human prostate cancer PC-3 cells[J]. *Anticancer drugs*, 2017, **28**(4): 384-391
- [18] Tin AS, Sundar SN, Tran KQ, *et al.* Antiproliferative effects of artemisinin on human breast cancer cells requires the downregulated expression of the E2F1 transcription factor and loss of E2F1-target cell cycle genes[J]. *Anticancer Drugs*, 2012, **23**(4): 370-379
- [19] Huang Z, Huang X, Jiang D, *et al.* Dihydroartemisinin inhibits cell proliferation by induced G1 arrest and apoptosis in human nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *J Cancer Res Ther*, 2016, **12**(1): 244-247
- [20] Lin R, Zhang Z, Chen L, *et al.* Dihydroartemisinin (DHA) induces ferroptosis and causes cell cycle arrest in head and neck carcinoma cells[J]. *Cancer Lett*, 2016, **381**(1): 165-175
- [21] Roy S, Gu M, Ramasamy K, *et al.* p21/Cipl and p27/Kipl are essential molecular targets of inositol hexaphosphate for its antitumor efficacy against prostate cancer [J]. *Cancer Res*, 2009, **69**(3): 1166-1173
- [22] Zhang HT, Wang YL, Zhang J, *et al.* Artemisinin inhibits gastric cancer cell proliferation through upregulation of p53[J]. *Tumour Biol*, 2014, **35**(2): 1403-1409
- [23] Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics [J]. *Br J Cancer*, 1972, **26**(4): 239-257
- [24] Liu X, Kim CN, Yang J, *et al.* Induction of apoptotic program in cell-free extracts; requirement for dATP and cytochrome c[J]. *Cell*, 1996, **86**(1): 147-157
- [25] Jia J, Qin Y, Zhang L, *et al.* Artemisinin inhibits gallbladder cancer cell lines through triggering cell cycle arrest and apoptosis [J]. *Mol Med Rep*, 2016, **13**(5): 4461-4468
- [26] Qin G, Zhao C, Zhang L, *et al.* Dihydroartemisinin induces apoptosis preferentially via a Bim-mediated intrinsic pathway in hepatocarcinoma cells[J]. *Apoptosis*, 2015, **20**(8): 1072-1086
- [27] Xu Q, Li ZX, Peng HQ, *et al.* Artesunate inhibits growth and induces apoptosis in human osteosarcoma HOS cell line in vitro and in vivo[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2011, **12**(4): 247-255
- [28] Vaux DL, Cory S, Adams JM. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells [J]. *Nature*, 1988, **335**(6189): 440-442
- [29] Dong HY, Wang ZF. Antitumor effects of artesunate on human breast carcinoma MCF-7 cells and IGF-1R expression in nude mice xenografts[J]. *Chin J Cancer Res*, 2014, **26**(2): 200-207
- [30] Liao K, Li J, Wang Z. Dihydroartemisinin inhibits cell proliferation via AKT/GSK3beta/cyclinD1 pathway and induces apoptosis in A549 lung cancer cells[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, **7**(12): 8684-8691
- [31] Cano E, Mahadevan LC. Parallel signal processing among mammalian MAPKs[J]. *Trends Biochem Sci*, 1995, **20**(3): 117-122
- [32] Dhanasekaran N, Premkumar Reddy E. Signaling by dual specificity kinases [J]. *Oncogene*, 1998, **17**(11 Reviews): 1447-1455
- [33] Zhang S, Shi L, Ma H, *et al.* Dihydroartemisinin induces apoptosis in human gastric cancer cell line BGC-823 through activation of JNK1/2 and p38 MAPK signaling pathways[J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2017, **37**(2): 174-180
- [34] Beccafico S, Morozzi G, Marchetti MC, *et al.* Artesunate induces ROS- and p38 MAPK-mediated apoptosis and counteracts tumor growth in vivo in embryonal rhabdomyosarcoma cells[J]. *Carcinogenesis*, 2015, **36**(9): 1071-1083
- [35] Shirafkan N, Mansoori B, Mohammadi A, *et al.* MicroRNAs as novel biomarkers for colorectal cancer: New outlooks [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, **97**: 1319-1330
- [36] Huang E, Liu R, Chu Y. miRNA-15a/16: as tumor suppressors and more[J]. *Future Oncol*, 2015, **11**(16): 2351-2363
- [37] Wang F, Yang L, Sun J, *et al.* Tumor suppressors microRNA-302d and microRNA-16 inhibit human glioblastoma multiforme by targeting NF-kappaB and FGF2[J]. *Mol Biosyst*, 2017, **13**(7): 1345-1354
- [38] Agra Andrieu N, Motino O, Mayoral R, *et al.* Cyclooxygenase-2 is a target of microRNA-16 in human hepatoma cells[J]. *PLoS One*, 2012, **7**(11): e50935
- [39] Zuo W, Wang ZZ, Xue J. Artesunate induces apoptosis of bladder cancer cells by miR-16 regulation of COX-2 expression [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, **15**(8): 14298-14312
- [40] Shi X, Wang L, Li X, *et al.* Dihydroartemisinin induces autophagy-dependent death in human tongue squamous cell carcinoma cells through DNA double-strand break-mediated oxidative stress[J]. *Oncotarget*, 2017, **8**(28): 45981-45993
- [41] Wang ZC, Liu Y, Wang H, *et al.* Research on the relationship between artesunate and Raji cell autophagy and apoptosis of Burkitt's lymphoma and its mechanism [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, **21**(9): 2238-2243
- [42] Ganguli A, Choudhury D, Datta S, *et al.* Inhibition of autophagy by chloroquine potentiates synergistically anti-cancer property of artemisinin by promoting ROS dependent apoptosis [J]. *Biochimie*, 2014, **107** PtB: 338-349
- [43] Zhang ZS, Wang J, Shen YB, *et al.* Dihydroartemisinin increases temozolomide efficacy in glioma cells by inducing autophagy[J]. *Oncol Lett*, 2015, **10**(1): 379-383
- [44] Chen SS, Hu W, Wang Z, *et al.* p8 attenuates the apoptosis induced by dihydroartemisinin in cancer cells through promoting autophagy[J]. *Cancer Biol Ther*, 2015, **16**(5): 770-779
- [45] Yu H, Guo P, Xie X, *et al.* Ferroptosis, a new form of cell death, and its relationships with tumourous diseases[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, **21**(4): 648-657
- [46] Eling N, Reuter L, Hazin J, *et al.* Identification of artesunate as a specific activator of ferroptosis in pancreatic cancer cells[J]. *Oncoscience*, 2015, **2**(5): 517-532
- [47] Roh JL, Kim EH, Jang H, *et al.* Nrf2 inhibition reverses the resistance of cisplatin-resistant head and neck cancer cells to artesunate-induced ferroptosis [J]. *Redox Biol*, 2017, **11**: 254-262
- [48] Guan X, Chen S, Zhao Y. The role of RhoC in malignant tumor invasion, metastasis and targeted therapy [J]. *Histol Histopathol*, 2018, **33**(3): 255-260
- [49] Grzelak CA, Ghajar CM. Metastasis 'systems' biology: how are macro-environmental signals transmitted into microenvironmental cues for disseminated tumor cells? [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2017, **48**: 79-86
- [50] Roomi MW, Kalinovsky T, Niedzwiecki A, *et al.* Modulation of MMP-2 and -9 secretion by cytokines, inducers and inhibitors in human melanoma A-2058 cells[J]. *Oncol Rep*, 2017, **37**(6): 3681-3687
- [51] Zhou CX, Gao Y, Johnson NW, *et al.* Immunoeexpression of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in the metastasis of squamous cell carcinoma of the human tongue[J]. *Aust Dent J*, 2010, **55**(4): 385-389
- [52] Wu B, Hu K, Li S, *et al.* Dihydroartemisinin inhibits the growth and metastasis of epithelial ovarian cancer [J]. *Oncol Rep*, 2012, **27**(1): 101-108
- [53] Wang YB, Hu Y, Li Z, *et al.* Artemether combined with shRNA interference of vascular cell adhesion molecule-1 significantly inhibited the malignant biological behavior of human glioma cells [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(4): e60834
- [54] Wang SJ, Sun B, Cheng ZX, *et al.* Dihydroartemisinin inhibits angiogenesis in pancreatic cancer by targeting the NF-kappaB pathway[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2011, **68**(6): 1421-1430
- [55] Zhou HJ, Wang WQ, Wu GD, *et al.* Artesunate inhibits angiogenesis and downregulates vascular endothelial growth factor expression in chronic myeloid leukemia K562 cells[J]. *Vascul Pharmacol*, 2007, **47**(2-3): 131-138