

## 熊果酸和齐墩果酸的泌尿系药理作用研究进展

张明发, 沈雅琴

上海美优制药有限公司, 上海 201422

**摘要:** 动物实验证实熊果酸和齐墩果酸对多种原因的肾损伤及移植肾都有保护作用, 包括药物(如马兜铃酸、阿霉素、庆大霉素、四氯化碳、环孢菌素等引起的)、高血糖、高血压、梗阻和缺血再灌注引起的肾损伤。熊果酸和齐墩果酸对正常和肾脏受损动物都有促进尿钠排出, 提高肾小球滤过率和肌酐清除率的作用。熊果酸能抑制多种前列腺癌细胞和膀胱癌细胞增殖并诱导其凋亡; 整体实验证实其可抑制小鼠前列腺癌发生和发展, 防止睾酮引起大鼠良性前列腺增生; 在较低浓度时能阻滞大肠埃希杆菌与尿路上皮细胞黏附, 有望防止尿路感染发生。齐墩果酸可抑制尿钙排出和阻滞尿石形成。

**关键词:** 熊果酸; 齐墩果酸; 肾脏保护作用; 肾移植; 前列腺癌; 膀胱癌; 尿路感染; 尿石形成

**中图分类号:** R282.710.5      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1674-6376(2016)02-0308-09

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.02.033

## Research advances on the pharmacologic actions of ursolic and oleanolic acids in uropoietic system

ZHANG Ming-fa, SHEN Ya-qin

Shanghai Meiyou Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201422, China

**Abstract:** It has been proved that ursolic and oleanolic acids possess nephroprotective effects against drug(ie aristolochic acid, adriamycin, gentamycin, carbon tetrachloride or cyclosporine)-, hyperglycemia-, hypertension-, obstruction-, ischemia-reperfusion-induced renal injury and grafting kidney by animal experiments. Ursolic and oleanolic acids have the improving actions on natriuresis, glomerular filtration rate and creatinine clearance in normal and kidney-injured animals. Ursolic acid inhibits proliferation against various prostate cancer cells and bladder cancer cells, and induced apoptosis. It has been proved by animal experiments in vivo that ursolic acid inhibits the initiation and progression of prostate cancer in mice, and testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in rats. Ursolic acid at lower concentration can reduce the adhesion of uropathogenic Escherichia coli strains to uroepithelial cells, and prevent from urinary tract infections. Oleanolic acid can reduce the urinary calcium output, and prevent from urolithiasis.

**Key words:** ursolic acid; oleanolic acid; nephroprotective effect; renal grafting; prostate cancer; bladder cancer; urinary tract infection; urolithiasis

熊果酸(ursolic acid)和齐墩果酸(oleanolic acid)是一对同分异构体, 且立体结构相同, 均属五环三萜酸类化合物。熊果酸和齐墩果酸普遍存在于蔬菜、水果、中草药, 是植物中最常见的生物活性成分之一, 深受人们关注。已经发现熊果酸和齐墩果酸具有广泛的生物活性, 如抗微生物<sup>[1]</sup>、抗炎与抗变态反应<sup>[2]</sup>、抗肿瘤、促进毛发生长、促黑色素细胞增殖和黑色素生物合成<sup>[3-4]</sup>、保肝<sup>[5]</sup>、抗糖尿病<sup>[6]</sup>、调血脂抗肥胖<sup>[7]</sup>、抗动脉粥样硬化<sup>[8]</sup>、镇痛、抗焦虑、抗抑郁、改善学习记忆等神经保护作用<sup>[9]</sup>, 以及抗骨质疏松<sup>[10]</sup>等药理作用。本文综述熊果酸和

齐墩果酸对药物性肾损伤、高血糖性肾损伤、高血压性肾损伤、梗阻性肾损伤、缺血再灌注性肾损伤和移植肾的保护作用以及抗泌尿系肿瘤和尿路结石等药理作用, 为全面开发它们在医学领域的应用提供依据。

### 1 肾保护作用

#### 1.1 对药物性肾损伤的保护作用

马兜铃酸肾病是一种因为服用含有马兜铃酸的植物药引起的肾损伤, 其持续下去可发展成肾衰和泌尿道上皮癌。据调查, 台湾约 1/3 人口应用含马兜铃酸的中草药处方, 而泌尿道癌症的发生率为

收稿日期: 2015-12-26

作者简介: 张明发(1946—), 研究员, 研究方向为中药药理。Tel: (021)68928846 E-mail: zhmf\_my@126.com

世界最高。为此, Ding 等<sup>[11]</sup>用正在发育的斑马鱼胚胎做实验, 发现熊果酸在 1  $\mu\text{g/L}$  时显著降低马兜铃酸引起的斑马鱼胚胎肾脏的畸形(肾小球萎缩和肾小管弯曲)率, 平均肾脏畸形率由 98.88% $\pm$ 4.75% 降至 70.00% $\pm$ 4.91%。熊果酸 10  $\mu\text{g/L}$  显著对抗马兜铃酸降低的胚胎肾脏的肾小球滤过率(由 56.1% $\pm$ 17.3% 上升至 83.1% $\pm$ 8.1%), 改善肾功能, 也可恢复马兜铃酸致斑马鱼胚胎的血循环异常, 改善红细胞在肾小球和肾小管中异常沉积。作用机制研究认为熊果酸是通过抑制胚胎内活性氧形成和前炎性细胞因子肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、髓过氧化物酶的表达, 对抗马兜铃酸的致炎作用而改善胚胎的血循环和肾脏发育进程。

在用马兜铃酸单次染毒小鼠同时, 给小鼠 ig 熊果酸 100、200 mg/kg 共 4 周, 可对抗马兜铃酸中毒小鼠的体质量增长减缓, 对抗血清肌酐、尿素氮和 24 h 尿蛋白排泄量升高。200 mg/kg 熊果酸组的上述作用显著。肾脏病理组织学检查可见熊果酸改善中毒小鼠肾小管间质病变: 减轻马兜铃酸致肾小管扩张、萎缩、塌陷, 减轻肾小管上皮细胞变性、肿胀、空泡, 减轻肾间质炎性浸润和纤维化。免疫组织化学染色半定量分析发现熊果酸是通过抑制马兜铃酸上调肾小管上皮细胞转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1) 和结缔组织生长因子表达, 从而抑制肾小管上皮-间充质转分化, 减轻肾小管间质纤维化<sup>[12]</sup>。笔者认为熊果酸还可通过阻滞 TGF- $\beta$ 1 与其受体结合, 抑制细胞外基质生成, 减轻肾脏纤维化, 因为 Yoshimura 等<sup>[13]</sup>报道熊果酸和齐墩果酸抑制 TGF- $\beta$ 1 与其受体结合的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>) 分别为 (6.9 $\pm$ 0.8)  $\mu\text{mol/L}$  和 (21.0 $\pm$ 2.3)  $\mu\text{mol/L}$ 。

李渊根<sup>[14]</sup>报道在用阿霉素制作肾病模型前 4 d 开始给小鼠 ip 熊果酸 25、50 mg/kg 共 18 d, 结果仅 50 mg/kg 组能对抗阿霉素提高小鼠 24 h 尿蛋白总量, 减轻肾组织局灶性节段性肾小球硬化、肾小管上皮细胞肿胀、肾小管扩张、管腔内蛋白管型和间质纤维化病变, 认为熊果酸是通过抑制阿霉素肾病小鼠肾小管间质 TGF- $\beta$ 1 表达, 抑制和延缓肾小球硬化、肾小管间质纤维化进程, 发挥肾保护作用。

Ma 等<sup>[15]</sup>报道给小鼠 ig 熊果酸 25、50 mg/kg 共 6 周, 可剂量相关地防止四氯化碳的肾毒性表现, 认为熊果酸是通过其抗氧化作用, 抑制四氯化碳促进肾脏活性氧生成和氧化应激反应, 降低中毒肾脏中的氧化型 DNA 损伤产物 8-羟基-2'-脱氧尿苷水

平, 还通过调控信号传导与转录活化因子(STAT) 3 和核因子(NF)- $\kappa$ B 的信号转导, 抑制肾脏中的前炎性细胞因子 TNF- $\alpha$ 、白介素(IL)-6、-17 和环氧化酶-2 的表达, 对抗四氯化碳致小鼠肾脏炎性损伤。

给大鼠每天 ig 熊果酸 2、5、10 mg/kg, 可剂量相关地对抗庆大霉素的肾毒性损伤: 显著对抗庆大霉素升高血清尿素、尿酸、肌酐和血尿素氮水平, 减轻肾脏上皮丢失和颗粒状变性等组织病理学改变<sup>[16]</sup>。Patil 等<sup>[17]</sup>报道给大鼠每天 ig 齐墩果酸 40、60、80 mg/kg, 可保护大鼠肾脏免遭庆大霉素伤害, 降低血清肌酐、尿素和尿白蛋白水平, 提高肾小球滤过率和改善肾脏组织病理学变化。

Hong 等<sup>[18]</sup>报道给慢性环孢菌素肾病小鼠 ip 齐墩果酸 25 mg/kg, 1 周后可治疗环孢菌素肾病, 表现为降低尿量和 24 h 尿白蛋白量, 提高尿渗透压和肌酐清除率; 减少环孢菌素在肾皮质产生组织间质液(TIF), 抑制环孢菌素促进  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA) 表达, 即抑制肾小管间质纤维化和炎症反应。作用机制研究发现齐墩果酸通过其抗氧化活性增强核因子红细胞系-2 相关因子-2(Nrf2) 的核易位, 促进血红素氧化酶-1(HO-1) 表达, 从而激活慢性环孢菌素肾病小鼠肾脏中的 Nrf2/HO-1 信号转导, 恢复超氧化物歧化酶-1 水平, 降低肾脏氧化应激反应产物丙二醛、8-羟基-2'-脱氧尿苷和 8-异前列腺素 F<sub>2 $\alpha$</sub>  水平以及 Bax/Bcl-2 比值, 而抑制肾脏细胞凋亡, 从而产生肾保护作用。

## 1.2 对高血糖性肾损伤的保护作用

齐敏友等<sup>[19]</sup>报道给四氧嘧啶性糖尿病小鼠 ig 熊果酸 35 mg/kg 共 8 周, 在降血糖同时可减轻四氧嘧啶性糖尿病小鼠的肾脏损伤: 降低肾脏系数(即抑制肾脏肥大)、血尿素氮和肌酐水平, 改善肾脏细胞萎缩、排列不齐、炎性细胞浸润和间质增生, 升高肾脏组织中低下的超氧化物歧化酶活性并抑制丙二醛生成和 TNF- $\alpha$ 、IL-6 表达。

陈玲等<sup>[20]</sup>给链脲霉素性糖尿病大鼠 ig 熊果酸 50 mg/kg 共 16 周, 从给药 2 周起显著降低糖尿病大鼠的尿白蛋白排泄率, 虽然不明显降低血尿素氮水平, 但显著降低血肌酐水平。病理组织切片可见熊果酸减轻肾小球系膜基质聚集, 减少肾间质内炎性细胞浸润, 认为熊果酸是通过阻滞肾脏组织内 NF- $\kappa$ B 的激活, 下调 p 选择素表达, 抑制肾脏组织炎症, 保护肾脏组织及其功能。Ling 等<sup>[21]</sup>给链脲霉素性糖尿病大鼠喂饲含 0.2% 熊果酸的饲料 16 周,

在降血糖、血脂的同时也显著减少尿白蛋白排泄,减小糖尿病大鼠肾脏中增大的过碘酸-席夫阳性面积和肾小球体积,降低肾小球和肾小管间质中8-羟基-2'-脱氧尿苷水平,既抑制氧化型DNA形成,也抑制肾脏中的NF- $\kappa$ B活性和p选择素表达。证实了陈玲等的上述实验结果,并认为熊果酸还可通过其抗氧化作用,对抗链脲霉素性高血糖对肾脏的氧化应激性损伤。Zhou等<sup>[22]</sup>给链脲霉素性糖尿病小鼠喂饲含0.01%熊果酸饲料3个月,发现熊果酸可显著减轻糖尿病肾病的早期损伤:减少肾脏IV型胶原的沉积和肾小球肥大,认为抗糖尿病肾病的机制涉及抑制糖尿病激活STAT3、ERK1/2、JNK通路和肾皮质过度表达诱生型一氧化氮合酶。

给链脲霉素/烟酰胺性糖尿病小鼠喂饲含0.01%和0.05%熊果酸饲料,能改善这种2型糖尿病模型小鼠的多元醇代谢通路,抑制肾脏的醛糖还原酶活性,减轻肾脏肥大和组织学损伤性改变<sup>[23]</sup>。用大鼠肾小球系膜细胞进行离体实验,发现熊果酸通过抑制高浓度葡萄糖上调肾小球系膜细胞的微小RNA-21(miRNA-21)表达,从而上调磷酸酶及张力蛋白同源基因(PTEN)表达,抑制磷脂酰肌醇-3激酶/蛋白激酶B/雷帕霉素哺乳动物靶点(PI3K/Akt/mTOR)信号转导通路和促进细胞自噬,减少细胞外基质胶原沉积(抑制I型胶原表达),阻止肾小球系膜细胞增殖和肥大<sup>[24]</sup>。Jia等<sup>[25]</sup>报道熊果酸是通过诱导自噬通路中的微管相关蛋白-1A/1B-轻链3II等关键蛋白的表述来激活细胞自噬的。

Ullevig等<sup>[26]</sup>报道熊果酸通过抑制代谢性应激诱导的还原型辅酶II(NADPH)氧化酶-4表达,阻滞糖尿病动物血中单核细胞功能异常:纠正NADPH氧化酶-4依赖性氧化还原过程的失调,使肌动蛋白更新和丝裂原活化蛋白激酶信号转导正常化,从而调控单核细胞迁移和黏附二个关键过程,产生抗炎作用,从而避免或阻滞糖尿病并发症(肾病)的发生。

给糖尿病小鼠喂饲含0.05%、0.1%和0.2%熊果酸或齐墩果酸饲料10周,在喂养5周和10周时剂量相关地降低糖尿病小鼠血糖和肾脏质量,提高血浆胰岛素水平和体质量,与此相平行,显著降低肾脏醛糖还原酶mRNA表达、醛糖还原酶和山梨醇脱氢酶活性,从而降低肾脏山梨醇和果糖浓度以及非酶糖基化产物羧甲基赖氨酸、尿的糖基化白蛋白和白蛋白、以及糖化血红蛋白水平,提高糖尿病小鼠

肾脏的肌酐清除率。但与熊果酸不同,齐墩果酸还剂量相关地增强肾脏乙二醛酶活性,上调乙二醛酶mRNA表达并降低肾脏甲基乙二醛水平,因此熊果酸和齐墩果酸在降血糖、血脂的同时抑制与肾病相关的糖基化反应,产生肾保护作用<sup>[27]</sup>。

Dubey等<sup>[28]</sup>给链脲霉素性糖尿病肾病大鼠ig齐墩果酸20、40、60 mg/kg连续28 d,可剂量相关地降低糖尿病大鼠的尿量、尿白蛋白,提高肾小球滤过率和血尿素氮、肌酐清除率,抑制肾脏的氧化应激反应,提高过氧化氢酶、超氧化物歧化酶活性和还原型谷胱甘肽水平,电镜下观察到齐墩果酸改善糖尿病肾病引起的肾小球中足状突细胞数减少和结构损伤、肾小球基底膜增厚和细胞间隙变大,认为齐墩果酸是通过抗氧化作用抑制肾脏中的氧化应激反应,保护肾脏的细微组织结构,产生抗糖尿病肾病作用的。给实验动物ig齐墩果酸60 mg/kg,2次/d,共5周,能显著提高链脲霉素性糖尿病大鼠和非糖尿病大鼠的尿钠排出和肾功能,齐墩果酸显著增加链脲霉素性糖尿病大鼠的肌酐清除率[实验前后分别为(1.81±0.32)、(3.07±0.16)mL/min],和非糖尿病大鼠的肌酐清除率[实验前后分别为(2.88±0.14)、(3.71±0.30)mL/min],降低血浆肌酐浓度以及糖尿病大鼠和非糖尿病大鼠的平均动脉压,并认为是通过抑制肾小管的钠重吸收,促进尿钠排出和产生降压作用<sup>[29-30]</sup>。

### 1.3 对高血压性肾损伤的保护作用

由于熊果酸和齐墩果酸有利尿和促进尿钠排泄,以及对实验性高血压及正常血压动物有降压作用<sup>[29,31-34]</sup>,为此Madlala等<sup>[33]</sup>对齐墩果酸及其衍生物保护遗传性高血压大鼠肾功能进行研究,发现给正常大鼠静滴135  $\mu$ g齐墩果酸、齐墩果酸甲酯或溴化齐墩果酸1.5 h,都能显著降低正常血压大鼠平均动脉压,停药1.5 h血压不恢复到原来水平,与此同时增加尿钠排泄率,但不影响尿钾排泄率、尿流速和肾小球滤过率。其中溴化齐墩果酸的降压和尿钠排泄作用较齐墩果酸更强。由于齐墩果酸及其衍生物还增加锂和钠的分数排泄率,认为齐墩果酸是通过抑制近曲小管的钠重吸收,产生利钠作用。他们又给正常血压大鼠和自发性高血压大鼠(SHR)、Dahl盐敏感性高血压大鼠(DSS)较长时间(9周)ig齐墩果酸30、60、120 mg/kg,从给药第3周开始显著降低3种大鼠的平均动脉压直至9周实验结束,但3个剂量组的降压作用无剂量相关

性。在高血压大鼠中降压作用更明显,其中降DSS大鼠血压作用更强。在9周实验期间齐墩果酸都能增加3种大鼠的尿钠排泄率、肾小球滤过率和降低血浆肌酐浓度,但不影响尿流出率、水摄入量和体质量。尿钠排泄率增加与平均动脉压降低呈线性关系。在正常大鼠和SHR大鼠中齐墩果酸引起尿钠排泄率增加而不影响血浆钠离子浓度;但在DSS大鼠中,齐墩果酸增加尿钠排泄率与高血钠基线相关,治疗后高血钠消除,这可能是齐墩果酸增加DSS大鼠尿钠排泄率作用最强而导致降血压作用最强的原因。齐墩果酸还显著降低高血压大鼠的血浆醛固酮浓度,不影响精氨酸加压素的分泌,由于齐墩果酸显著降低两种高血压大鼠心、肝、肾组织中升高的丙二醛水平,并提高低下的超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性,认为齐墩果酸是通过其降压和抗氧化作用来产生保护肾组织及其提高肾功能作用。

Cui等<sup>[35]</sup>、Kim等<sup>[36-37]</sup>报道熊果酸和齐墩果酸通过激活心房 $K^+_{ATP}$ 通路促进心房利钠肽合成和分泌,也能增强乙酰胆碱促进心房利钠肽分泌,因此熊果酸和齐墩果酸促进尿钠排泄与促进心房利钠肽分泌有关。

#### 1.4 对梗阻性和缺血再灌注性肾损伤的保护作用

Chung等<sup>[38]</sup>在行小鼠单侧输尿管梗阻手术前1d开始ip齐墩果酸25mg/kg共8d,在给药第4天齐墩果酸就显著减轻梗阻肾的肾小管损伤,到给药第8天时显著减少肾小管损伤和肾小管间质纤维化面积。形态学检查可见齐墩果酸减少梗阻肾中炎症细胞浸润和总胶原含量,降低肾组织Bax/Bcl-2表达比值和肾脏细胞凋亡数。作用机制研究发现齐墩果酸是通过抗氧化作用,促进Nrf2的核易位,使核内Nrf2/总Nrf2比值提高,上调血红素氧化酶-1、NADPH醌氧化还原酶-1和热休克蛋白-70表达,抑制梗阻肾的脂质过氧化反应,产生对抗肾纤维化作用。张翼等<sup>[39]</sup>用单侧输尿管梗阻模型大鼠实验也证实齐墩果酸能延缓梗阻肾功能衰竭,降低血清肌酐、尿素氮和24h尿蛋白及N-乙酰- $\beta$ -葡萄糖苷酶水平。

张鹏程<sup>[40]</sup>报道齐墩果酸的类似物熊果酸也减轻单侧输尿管梗阻大鼠梗阻肾组织炎症细胞浸润,肾小管上皮细胞肿胀,肾小管明显扩张、萎缩、塌陷,间质形成纤维化的病变,认为熊果酸是通过上调梗阻肾的肾小管上皮细胞E-钙黏蛋白表达,下调

$\alpha$ -平滑肌肌动蛋白、成纤维细胞特异性蛋白-1表达,抑制肾小管上皮-间充质转分化,减轻肾小管纤维化。

Xue等<sup>[41]</sup>报道在给小鼠行一侧肾脏缺血再灌注性损伤和另一侧肾脏切除手术前后各2dig熊果酸10mg/kg,可显著降低肾损伤升高的血清尿素氮和肌酐水平,减少肾组织内巨噬细胞和中性粒细胞浸润,减轻肾小管上皮细胞损伤和凋亡,使30d生存率由12.5%提高到62.5%。机制研究证实熊果酸是通过抑制NF- $\kappa$ B激活,下调炎症细胞因子IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 的表达,抑制肾脏缺血再灌注时的活性氧生成,从而减轻肾组织的炎症病变,提高生存率。

#### 1.5 对移植肾损伤的保护作用

钱坤等<sup>[42-43]</sup>在行同种异体肾移植手术前1d开始给大鼠每天ip齐墩果酸25mg/kg,显著延长肾移植大鼠的存活时间,平均存活时间由对照组的(5 $\pm$ 1)d延长到(9 $\pm$ 2)d,并且对免疫抑制剂环孢菌素A或他克莫司延长移植肾存活时间有协同延长作用,他克莫司组肾移植大鼠存活时间为(16 $\pm$ 3)d,联合应用齐墩果酸后存活时间延长至(26 $\pm$ 3)d。这是因为齐墩果酸具有抗炎、抗变态反应作用<sup>[2]</sup>,显著抑制Th1/Th2细胞,降低了促炎性细胞因子干扰素- $\gamma$ 、IL-1 $\beta$ 、-2、-4、-6、-17以及趋化因子单核细胞趋化蛋白-1、干扰素诱导蛋白-10、干扰素诱导的单核细胞因子、巨噬细胞炎性蛋白的血清浓度和分泌这些促炎性细胞因子的T细胞频率,提高抗炎性细胞因子IL-10的血清浓度和分泌IL-10的T细胞频率,减轻肾移植大鼠的炎症反应和排斥反应,使浸润移植肾的CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞数量显著减少,延缓大鼠移植肾功能衰竭(血清肌酐浓度升高),而延长大鼠移植肾的存活时间<sup>[42-43]</sup>。

## 2 抗泌尿系肿瘤

### 2.1 抗前列腺癌

熊果酸在大于40 $\mu$ mol/L时可浓度和时间相关地抑制原代恶性人前列腺癌RC-58T/h/SA#4细胞生长,提高细胞周期中的亚-G<sub>1</sub>期比例,促进核凝缩、DNA断片和凋亡小体形成<sup>[44]</sup>。由于熊果酸显著提高半胱天冬酶-3、-8和-9活性,上调前凋亡蛋白Bax水平和下调抗凋亡蛋白Bcl-2水平,也促进半胱天冬酶-8介导的Bid裂解的凋亡作用,提示细胞内外2种信号转导通路参与了熊果酸的促癌细胞凋亡作用。又由于熊果酸还提高RC-58T/h/SA#4细胞内不依赖半胱天冬酶的线粒体凋亡因子(AIF)表达,提示熊果酸还可通过半胱天冬酶依赖性和不依赖

性2条通路诱导癌细胞凋亡<sup>[44]</sup>。

用MMT法检测发现熊果酸对不同浓度雌激素培养下的雄激素依赖性前列腺癌LNCaP细胞呈浓度和时间相关地生长抑制,使该细胞生长的最适雄激素浓度上升10倍。熊果酸对LNCaP细胞、PC-3细胞和DU145细胞有细胞毒作用,IC<sub>50</sub>分别为47、35、80 μmol/L。熊果酸也浓度和时间相关地抑制雄激素非依赖性前列腺癌DU145细胞和PC-3细胞生长,在培养24、48、72 h时熊果酸抑制PC-3细胞增殖的IC<sub>50</sub>分别为50.87、37.91和27.86 μmol/L,阻滞细胞周期,使PC-3细胞大量滞留在G<sub>1</sub>期并诱导细胞凋亡。由于抑制半胱天冬酶-8和-9活性,可阻滞熊果酸诱导PC-3细胞凋亡,也提示熊果酸能激活细胞内外2种凋亡通路。熊果酸是通过激活c-Jun氨基末端激酶(JNK)或抑制Wnt/β-链蛋白通路,促进糖原合酶3β磷酸化和聚ADP核糖聚合酶裂解,使前列腺癌细胞中的半胱天冬酶-9活化、半胱天冬酶-3和Bax蛋白表达增加,Bcl-2磷酸化并降解,和下调bcl-2和环氧化酶-2表达,引起癌细胞凋亡。熊果酸还抑制Akt通路,上调Fas配体(FasL)表达,从而启动PC-3细胞中的死亡受体介导的细胞凋亡<sup>[45-50]</sup>。此外,熊果酸也通过抑制Akt,下调基质金属蛋白酶-9,抑制PC-3细胞的侵袭功能,产生抗癌细胞转移作用<sup>[47]</sup>。

熊果酸抑制DU145细胞生长和基质金属蛋白酶-2和-9活性<sup>[51]</sup>。不影响DU145细胞生长的雌激素阻断剂氟他胺能增强熊果酸的抑制生长作用,提示熊果酸在抗前列腺癌时不仅加强了激素依赖性前列腺癌对雄激素的依赖,也诱发了激素非依赖性前列腺癌对雄激素的反应性,延缓或阻止雄激素非依赖性的发生<sup>[45-46]</sup>。机制研究发现,熊果酸抑制DU145细胞和LNCaP细胞结构型和肿瘤坏死因子诱导型IκB激酶(IKK)活化、IκBα和p65磷酸化及NF-κB依赖性报告子活性,也抑制结构型和诱导型STAT3活化及其上游激酶(Src和JAK-2)活化和STAT3依赖性报告子基因活性,从而下调与增殖、存活和血管形成有关基因生成的各种NF-κB和STAT3表达,并诱导这2种癌细胞凋亡。用200 mg/kg的熊果酸处理荷瘤裸鼠6周,明显抑制DU145癌细胞在体内生长,此剂量的熊果酸并不影响裸鼠的体质量<sup>[52]</sup>。

前列腺癌会对熊果酸产生耐药。Limami等<sup>[53]</sup>研究发现DU145细胞对熊果酸引起的凋亡耐药的

原因是:熊果酸能上调DU145细胞内ATP和嘌呤P2Y<sub>2</sub>受体转录水平,而P2Y<sub>2</sub>受体激活Src,使p38磷酸化,导致环氧化酶-2过度表达所致。

Shanmugam等<sup>[54]</sup>给4周龄的前列腺癌转基因小鼠喂饲含1%熊果酸饲料8周,可抑制前列腺上皮内新生物形成,并能延迟前列腺上皮内新生物进展成高级别新生物。给12周龄的前列腺癌转基因小鼠喂饲含1%熊果酸饲料6周,可抑制前列腺上皮内新生物发展成腺癌,使前列腺上皮内低级别新生物、高级别新生物和高度分化癌的发生率分别降低60%、40%和40%。给24周龄的前列腺癌转基因小鼠喂饲含1%熊果酸饲料12周,使前列腺上皮内高级别新生物、高度、中度、低度分化癌的发生率分别降低40%、60%、40%和20%,而对对照组100%发生前列腺癌。可见熊果酸显著抑制各个时期的前列腺肿瘤生长,并都能显著延长肿瘤小鼠的存活时间。免疫组织化学法分析可见熊果酸下调肿瘤组织中的细胞周期蛋白D1和环氧化酶-2表达,上调半胱天冬酶-3水平。熊果酸还下调前列腺组织中的各种前炎性细胞因子(包括NF-κB、STAT3、AKT、IKKα/β磷酸化)并降低血清TNF-α、IL-6水平。这些可能是熊果酸抑制前列腺癌转基因小鼠前列腺癌发生和发展的机制。他们还在上述3个实验中测定了熊果酸的血清浓度,发现熊果酸浓度都达到了坪值,在600~1300 ng/mL之间,3个实验的熊果酸血清浓度之间无明显差异,并认为熊果酸在胃肠道吸收良好。

另外,Shin等<sup>[55]</sup>报道给大鼠ig熊果酸5 mg/kg,4周,可对抗皮下注射睾酮引起的大鼠良性前列腺增生和前列腺质量增加,并抑制血清和前列腺中睾酮和二氢睾酮水平升高,提示临床用熊果酸可能有防治良性前列腺增生的作用。给大鼠ig熊果酸50、100 mg/kg共20 d,能对抗角叉菜胶诱导慢性非细菌性前列腺炎:明显降低大鼠前列腺指数,改善前列腺炎病理组织学改变,降低血液中TNF-α、IL-1β、IL-10水平<sup>[56]</sup>。

## 2.2 抗泌尿系其他肿瘤

多囊肾病是一种肿瘤性疾病。王文苓等<sup>[57]</sup>报道熊果酸在6.25~200 μmol/L浓度时可浓度和时间相关地抑制人肾囊衬里上皮WT9-12细胞增殖,使细胞周期滞留在G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期,并下调细胞周期正性调控子细胞周期蛋白D1和上调负性调控子p21CIP/WAF1表达。熊果酸也诱导WT9-12细胞调

亡,增加凋亡相关蛋白聚 ADP 核糖聚合酶的裂解产物。

陈波等<sup>[58]</sup>报道熊果酸在 10~200 mg/L 时浓度和时间相关地抑制高危浅表性膀胱癌 5637 细胞增殖并引起细胞凋亡。作用 48 h 时 100 mg/L 的增殖抑制率为 41.2%, 细胞凋亡率为 40.3%, 也浓度和时间相关性抑制 5637 细胞的存活素 (survivin) 蛋白表达。郭万松<sup>[59]</sup>采用人膀胱癌 T24 细胞实验,发现熊果酸 60、70、80  $\mu\text{mol/L}$  可浓度和时间相关地抑制膀胱癌 T24 细胞增殖并诱导凋亡,使 T24 细胞滞留在 G<sub>1</sub> 期,并抑制 T24 细胞迁移。整体实验显示熊果酸抑制 T24 细胞在裸鼠体内生长,延长荷瘤裸鼠生存期。体内外实验均证实熊果酸是通过抑制线粒体经典凋亡通路关键蛋白 Bcl-2, 诱导 Bax 和半胱天冬酶-3 的表达,引起 T24 细胞凋亡;通过下调基质金属蛋白酶-2 表达,上调基质金属蛋白酶组织抑制因子-2 表达,抑制 T24 细胞迁移和侵袭。Zheng 等<sup>[60]</sup>也证实熊果酸浓度和时间相关地抑制 T24 细胞生长并诱导细胞凋亡,作用机制研究认为熊果酸是通过提高 T24 细胞中的神经酰胺水平,激活 AMP 活化蛋白激酶 (AMPK) /JNK 通路,还可以通过抑制 mTOR 复合物 1 (mTORC1) 信号转导通路,下调存活素表达,产生抗膀胱癌作用。

### 3 抗尿路感染和尿石形成

#### 3.1 抗大肠埃希杆菌引起的尿路感染

大肠埃希杆菌是临床上常见的尿路感染致病菌。熊果酸和齐墩果酸有抑制大肠埃希杆菌生长作用,在不抑制细菌生长的浓度时还能抑制细菌生物被膜形成<sup>[1]</sup>。为此, Dorota 等<sup>[61]</sup>用临床的尿路感染致病菌大肠埃希杆菌研究熊果酸对大肠埃希杆菌与尿路上皮细胞相互作用之间的影响。首先测得熊果酸抗 20 株大肠埃希杆菌的最低抑菌浓度为 512~1 024 mg/L, 在 250 mg/L 时可使大肠埃希杆菌形态发生显著改变:显微镜下可见正常长度细胞的细菌数仅占 45.05%、长丝细胞的细菌数占 40.45%、短丝细胞数占 10.9%、影细胞数占 2.35%、中度肿胀的短丝细胞数占 1.25% (在熊果酸处理前正常长度细胞的大肠埃希杆菌数为 96.1%、短丝细胞数为 3.9%)。熊果酸在 10~50 mg/L 时抑制大肠埃希杆菌膜表面表达 p 菌毛,使细菌凝集人红细胞能力丧失。但熊果酸需要在 40、50 mg/kg 的较高浓度时抑制大肠埃希杆菌的螺旋状纤维的合成。对 15 株具有疏水性表面的大肠埃希杆菌,熊果酸只有在 50

mg/L 的最大浓度时仅使 3 株细菌的疏水性发生改变。而熊果酸仅在 40、50 mg/L 浓度时抑制所有 15 株具有疏水性表面的大肠埃希杆菌黏附于人尿路上皮细胞,使黏附的细菌细胞数分别减少至 72%和 53%, 而低浓度熊果酸的抑制作用无统计学意义。可见熊果酸在远低于抑制大肠埃希杆菌生长的 40、50 mg/L 时,通过抑制大肠埃希杆菌表面的 p 菌毛和螺旋状纤维合成,阻滞其与尿路上皮细胞黏附,使细菌难以定植于尿路而防止尿路感染发生。

#### 3.2 抗尿石形成

Vyas 等<sup>[62]</sup>采用在大鼠膀胱腔内植入锌片制作尿石形成模型,研究齐墩果酸的抗尿石形成作用。给 3 d 前植入锌片的大鼠 ig 齐墩果酸 60、80、100 mg/kg 连续 7 d,可剂量相关地抑制尿钙大量排出,X 线影像和从处死大鼠膀胱取出锌片称质量都显示齐墩果酸显著抑制结晶物在锌片周围沉积,提示齐墩果酸可能有防止肾结石和膀胱结石形成的作用。

### 4 结语

动物实验研究证实熊果酸和齐墩果酸对药物 (如马兜铃酸、阿霉素、庆大霉素、四氯化碳、环孢菌素等引起的)、高血糖、高血压、梗阻、缺血再灌注等引起的肾损伤以及移植肾都有保护作用。熊果酸和齐墩果酸的肾保护作用的共同机制很可能是通过抗氧化和抗炎作用,促进肾脏中的 Nrf2 核易位,上调 HO-1 表达,抑制肾脏的活性氧生成、氧化应激及其前炎性细胞因子表达,从而减轻肾脏组织的炎性病变,保护肾功能。熊果酸和齐墩果酸对正常和受损肾脏都有促进尿钠排出,提高肾小球滤过率和肌酐清除率作用。熊果酸能抑制多种前列腺癌细胞和膀胱癌细胞增殖并诱导凋亡。动物整体实验证实熊果酸可抑制小鼠前列腺癌发生和发展,防止睾酮引起大鼠良性前列腺增生。熊果酸在较低浓度时能阻滞大肠埃希杆菌与尿路上皮细胞黏附,有望防止尿路感染发生。齐墩果酸可抑制尿钙排出和阻滞尿石形成。

常见的天然产物甘草酸及其昔元甘草次酸系齐墩果酸衍生物,甘草酸和甘草次酸也具有抗前列腺癌细胞<sup>[63]</sup>和肾脏保护作用<sup>[64]</sup>。其中甘草酸的肾脏保护作用已经被临床应用于治疗肾综合征出血热、慢性肾脏疾病、原发性干燥综合征并肾小管酸中毒、阿昔洛韦致急性肾衰竭和防治心脏手术引起的缺血再灌注性肾损伤<sup>[64]</sup>。齐墩果酸是我国注册了几十年的保肝和抗癌辅助药物,与甘草酸不同的是临

床上至今未见到齐墩果酸发生糖皮质激素样不良反应。现已有企业正在申请注册熊果酸新药。新药研发人员可以参考甘草酸的上述临床应用,将齐墩果酸和熊果酸开发为用于慢性肾脏疾病、原发性干燥综合征并肾小管酸中毒和肾移植患者的抗排异防治,甚至前列腺癌、膀胱癌和前列腺增生以及尿路感染和尿石形成的防治药物。

由于齐墩果酸和熊果酸还具有调节和提高免疫功能的作用<sup>[65]</sup>,而免疫抑制剂和抗癌药常引起严重的免疫抑制不良反应。因此,笔者建议临床研究者可以先选择齐墩果酸(因为熊果酸尚未正式上市)与抗排异的免疫抑制剂或抗癌药联用保护移植肾和治疗泌尿系肿瘤,观察疗效的显现和稳定后,是否可以逐步减量甚至撤除抗排异免疫抑制剂或抗癌药,这样不仅能稳定疗效而且减轻药物不良反应,提高患者的生活质量和延长生存时间。

## 参考文献

- [1] 张明发,沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的抗微生物和原虫药理研究进展 [J]. 抗感染药学, 2010, 7(3): 153-156.
- [2] 张明发,沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的抗炎及其抗变态反应 [J]. 抗感染药学, 2011, 8(4): 235-240.
- [3] 张明发,沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸抗脑瘤作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(1): 132-135.
- [4] 张明发,沈雅琴. 女贞子及其有效成分药理作用与皮肤科临床应用的进展 [J]. 抗感染药学, 2013, 10(4): 258-264.
- [5] 张明发,沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸保肝药理作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2012, 9(1): 13-19.
- [6] 张明发,沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的抗糖尿病药理 [J]. 上海医药, 2010, 31(8): 347-350.
- [7] 张明发,沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸调血脂抗肥胖药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(1): 90-97.
- [8] 张明发,沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸抗动脉粥样硬化作用 [J]. 上海医药, 2014, 35(23): 73-80.
- [9] 张明发,沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的神经精神药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(5): 570-576.
- [10] 张明发,沈雅琴. 女贞子及其活性成分抗骨质疏松症的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(6): 566-571.
- [11] Ding Y J, Sun C Y, Wen C C, et al. Nephroprotective role of resveratrol and ursolic acid in aristolochic acid intoxicated zebrafish [J]. *Toxins (Basel)*, 2015, 7(1): 97-109.
- [12] 柳丹萍. 肾茶及熊果酸对马兜铃酸肾病的保护作用 [D]. 福州: 福建医科大学, 2014.
- [13] Yoshimura H, Sugawara K, Saito M, et al. *In vitro* TGF- $\beta$ 1 antagonistic activity of ursolic and oleanolic acid isolated from *Clerodendranthus spicatus* [J]. *Plant Med*, 2003, 69(7): 673-675.
- [14] 李渊根. 熊果酸对阿霉素肾病的干预作用研究 [D]. 福州: 福建医科大学, 2014.
- [15] Ma J Q, Ding J, Xiao Z H, et al. Ursolic acid ameliorates carbon tetrachloride-induced oxidative DNA damage and inflammation in mouse kidney by inhibiting the STAT3 and NF- $\kappa$ B activities [J]. *Int Immun Pharmacol*, 2014, 21(2): 389-395.
- [16] Pai P G, Chamari N S, Kulkarni A, et al. Nephroprotective effect of ursolic acid in a murine model of gentamicin-induced renal damage [J]. *ISRN Pharmacol*, 2012, 2012: 410902. Doi:10.5402/2012/410902. 2012-06-28.
- [17] Patil C R, Jadhav R B, Singh P K, et al. Protective effect of oleanolic acid on gentamicin induced nephrotoxicity in rats [J]. *Phytother Res*, 2010, 24(1): 33-37.
- [18] Hong Y A, Lim J H, Kim M Y, et al. Delayed treatment with oleanolic acid attenuates tubulointerstitial fibrosis in chronic cyclosporine nephropathy through Nrf2/HO-1 signaling [J]. *J Transl Med*, 2014, 12: 50. Doi: 10.1186/1479-5876-12-50. 2014-02-21
- [19] 齐敏友,杨钧杰,周 斌,等. 熊果酸对糖尿病小鼠肾脏保护作用及机制研究 [J]. 中国应用生理学杂志, 2014, 30(5): 445-448.
- [20] 陈 玲,卢金萍,李 夏,等. 熊果酸对糖尿病大鼠肾组织内核因子- $\kappa$ B 活性及 p 选择素表达的影响 [J]. 武汉大学学报: 医学版, 2011, 32(6): 723-726.
- [21] Ling C, Jinping L, Xia L, et al. Ursolic acid provides kidney protection in diabetic rats [J]. *Curr Ther Res Clin Exp*, 2013, 75: 59-63.
- [22] Zhou Y, Li J S, Zhang X, et al. Ursolic acid inhibits early lesions of diabetic nephropathy [J]. *Int J Med*, 2010, 26(4): 565-570.
- [23] Lee J, Lee H I, Seo K I, et al. Effects of ursolic acid on glucose metabolism, polyol pathway and dyslipidemia in non-obese type 2 diabetic mice [J]. *Indian J Exp Biol*, 2014, 52(7): 683-691.
- [24] Lu X, Fan Q, Xu L, et al. Ursolic acid attenuates diabetic mesangial cell injury through the up-regulation of autophagy via miRNA-21/PTEN/Akt/mTOR suppression [J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0117400.
- [25] Jia Y, Kim S, Kim J, et al. Ursolic acid improves lipid and glucose metabolism in high-fat-fed C57BL/6J mice by activating peroxisome proliferator-activated receptor alpha and hepatic autophagy [J]. *Mol Nutr Food Res*,

- 2015, 59(2): 344-354.
- [26] Ullevig S L, Kim H S, Nguyen H N, *et al.* Ursolic acid protects monocytes against metabolic stress-induced priming and dysfunction by preventing the induction of Nox4 [J]. *Redox Biol*, 2014, 2: 259-266.
- [27] Wang Z H, Hsu C C, Huang C N, *et al.* Anti-glycative effects of oleanolic acid and ursolic acid in kidney of diabetic mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 628(1/3): 255-260.
- [28] Dubey V K, Patil C R, Kamble S M, *et al.* Oleanolic acid prevents progression of streptozotocin induced diabetic nephropathy and protects renal microstructures in Sprague Dawley rats [J]. *J Pharmacol Pharmacother*, 2013, 4(1): 47-52.
- [29] Mapanga R F, Tufts M A, Shode F O, *et al.* Renal effects of plant-derived oleanolic acid in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Ren Fail*, 2009, 31(6): 481-491.
- [30] Madlala H P, Masola B, Musabayane C T, *et al.* The effects of *Syzygium aromaticum*-derived oleanolic acid on kidney function of male Sprague-Dawley rats and on kidney and liver cell lines [J]. *Ren Fail*, 2012, 34(6): 767-776.
- [31] Alvarez M E, Maria A O, Saad J R. Diuretic activity of *Fabiana patagonica* in rats [J]. *Phytother Res*, 2002, 16(1): 71-73.
- [32] Somova L O, Nadar A, Rammanan P, *et al.* Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension [J]. *Phytomedicine*, 2003, 10(2/3): 115-121.
- [33] Madlala H P, Heerden F R, Mubagwa K, *et al.* Changes in renal function and oxidative status associated with the hypotensive effects of oleanolic acid related synthetic derivatives in experimental animals [J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0128192.
- [34] 罗 彭, 任珊珊, 梁 宁, 等. 基于动物体内指标的枇杷果利尿活性物质部位及单体筛选研究 [J]. *湖北农业科学*, 2015, 64(16): 3986-3989.
- [35] Cui H Z, Choi H R, Cho K W, *et al.* Ursolic acid increases the secretion of atrial natriuretic peptide in isolated perfused beating rabbit atria [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 653(1/3): 63-69.
- [36] Kim H Y, Choi H R, Cui H Z, *et al.* Accentuation of ursolic acid on muscarinic receptor-induced ANP secretion in beating rabbit atria [J]. *Life Sci*, 2014, 94(2): 145-150.
- [37] Kim H Y, Cho K W, Kang D G, *et al.* Oleanolic acid increases plasma ANP levels via an accentuation of cardiac ANP synthesis and secretion in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 710(1/3): 73-79.
- [38] Chung S, Yoon H E, Kim S J, *et al.* Oleanolic acid attenuates renal fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction via facilitating nuclear translocation of Nrf2 [J]. *Nutr Metab(Lond)*, 2014, 11(1): 2. Doi:10.1186/1743-7075-11-2. 2014-01-06.
- [39] 张 翼, 李 丽, 何立群. 齐墩果酸、丹酚酸对 UUO 大鼠肾及肾小管功能的影响 [J]. *中国中医急症*, 2014, 23(4): 569-570, 573.
- [40] 张鹏程. 熊果酸对单侧输尿管梗阻大鼠肾小管上皮-间充质转分化的干预研究 [D]. 福州: 福建医科大学, 2013.
- [41] Xue C, Liu Y, Li C, *et al.* Powerful protection against renal ischemia reperfusion injury by T cell-specific NF- $\kappa$ B inhibition [J]. *Transplantation*, 2014, 97(4): 391-396.
- [42] 钱 坤, 廖雯婷, 李建军, 等. 齐墩果酸协同环孢素 A 延长大鼠移植肾的存活时间 [J]. *南方医科大学学报*, 2014, 34(6): 843-846.
- [43] 钱 坤, 蒋鸿涛, 周 浩. 齐墩果酸联合他克莫司对肾移植大鼠 Th1/Th2 细胞的影响 [J]. *中外医学研究*, 2014, 12(16): 1-3.
- [44] Kwon S H, Park H Y, Kim J Y, *et al.* Apoptotic action of ursolic acid isolated from *Corni fructus* in RC-58T/h/SA#4 primary human prostate cancer cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(22): 6435-6438.
- [45] 阎天中, 张祥生, 李启忠. 熊果酸对前列腺癌细胞作用的实验研究 [J]. *临床医学*, 2008, 29(9): 115-117.
- [46] Kassi E, Papoutsi Z, Pratsinis H, *et al.* Ursolic acid, a naturally occurring triterpenoid, demonstrates anticancer activity on human prostate cancer cells [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2007, 133(7): 493-500.
- [47] 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* [J]. *Mol Carcinog*, 2010, 49(4): 374-385.
- [48] Zhang Y X, Kong C Z, Wang H Q, *et al.* Phosphorylation of Bcl-2 and activation of caspase-3 via the c-Jun N-terminal kinase pathway in ursolic acid-induced DU145 cells apoptosis [J]. *Biochimie*, 2009, 91(9): 1173-1179.
- [49] 夏 阳, 苟 欣. 熊果酸诱导前列腺癌细胞株 PC-3 凋亡的实验研究 [J]. *重庆医科大学学报*, 2009, 34(12): 1661-1665.
- [50] Park J H, Kwon H Y, Sohn E J, *et al.* Inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling mediates ursolic acid-induced apoptosis in PC-3 prostate cancer cells [J]. *Pharmacol Rep*, 2013, 65(5): 1366-1374.

- [51] Kondo M, Mackinnon S L, Craft C C, *et al.* Ursolic acid and its esters: occurrence in cranberries and other *Vaccinium* fruit and effects on matrix metalloproteinase activity in DU145 prostate tumor cells [J]. *J Sci Food Agric*, 2011, 91(5): 789-796.
- [52] Shanmugam M K, Rajendran P, Li F, *et al.* Ursolic acid inhibits multiple cell survival pathways leading to suppression of growth of prostate cancer xenograft in nude mice [J]. *J Mol Med*, 2011, 89(7): 713-727.
- [53] Limami Y, Pinon A, Leger D Y, *et al.* The P2Y2/Src/p38/COX-2 pathway is involved in the resistance to ursolic acid-induced apoptosis in colorectal and prostate cancer cells [J]. *Biochimie*, 2012, 94(8): 1754-1763.
- [54] Shanmugam M K, Ong T H, Kumar A P, *et al.* Ursolic acid inhibits the initiation, progression of prostate cancer and prolongs the survival of TRAMP mice by modulating pro-inflammatory pathways [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e32476.
- [55] Shin I S, Lee M Y, Jung D Y, *et al.* Ursolic acid reduces prostate size and dihydrotestosterone level in a rat model of benign prostatic hyperplasia [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(3/4): 884-888.
- [56] 刘雁飞, 韩盼, 赖永继. 熊果酸对慢性非细菌性前列腺炎模型大鼠的治疗作用 [J]. *医药导报*, 2015, 34(10): 1292-1295.
- [57] 王文苓, 苏晓峰, 付莉莉, 等. 齐墩果酸对人肾囊肿衬里上皮细胞周期及凋亡的影响 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2013, 14(8): 708-710.
- [58] 陈波, 盛玉文. 熊果酸对膀胱癌 5637 细胞的作用研究 [J]. *中国医学工程*, 2011, 19(5): 44-46.
- [59] 郭万松. 熊果酸对人膀胱癌 T24 细胞的抑制作用及其机制研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2011.
- [60] Zheng Q Y, Jin F S, Yao C, *et al.* Ursolic acid-induced AMP-activated protein kinase(AMPK) activation contributes to growth inhibition and apoptosis in human bladder cancer T24 cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 419(4): 741-747.
- [61] Dorota W, Marta K, Dorota TG. Effect of asiatic and ursolic acids on morphology, hydrophobicity, and adhesion of UPECs to uroepithelial cells [J]. *Folia Microbiol(Praha)*, 2013, 58(3): 245-252.
- [62] Vyas N, Argal A. Antiuro lithiatic activity of extract and oleanolic acid isolated from the roots of *Lantana camara* on zinc disc implantation induced urolithiasis [J]. *ISRN Pharmacol*, 2013, 2013: 951795. Doi:10.1155/2013/951795.2013-05-15.
- [63] 张明发, 沈雅琴. 甘草及其活性成分对生殖系统药理作用研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2014, 37(4): 367-374.
- [64] 张明发, 沈雅琴, 张艳霞. 甘草酸对肾损伤的保护作用和临床应用研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2012, 27(6): 655-659.
- [65] 张明发, 沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸的抗消化系肿瘤作用 [J]. *上海医药*, 2011, 32(12): 606-611.