

基于网络药理学和分子对接的文殊兰抗肿瘤作用机制研究

于淼^{1,2,3}, 李佳鑫¹, 辛国松^{1,2,3}, 綦 峥^{1,2,3}, 薛沁冰¹, 王 娟¹, 王楠楠¹

1. 哈尔滨商业大学 药物工程技术研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076

2. 国家教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076

3. 黑龙江省肿瘤预防与抗肿瘤药物研究重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150076

摘要:目的 运用网络药理学筛选文殊兰的主要活性成分及其靶点, 探究文殊兰抗肿瘤的潜在作用机制。方法 通过 TCMID 数据库检索文殊兰的化学成分, 再经 Batman 与 Swisstargets 并结合相关文献筛选出文殊兰的主要活性成分及其潜在靶点, 建立靶点数据; 通过 GeneCards、NCBI 数据库筛选出肿瘤相关靶点; 用 Cytoscape 3.6.3 软件构建“文殊兰-成分-肿瘤-靶点”网络可视化关系图; 以蛋白互作网络分析数据库, 确立文殊兰和肿瘤的蛋白互作网络; 利用基因本体论 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 数据库对相关靶点进行富集分析, 了解文殊兰抗肿瘤可能的生物过程及其通路; 利用分子对接进行半柔性对接反向验证。结果 从文殊兰中筛选出 15 种活性成分, 与肿瘤有关的通路有 25 个, 文殊兰抗肿瘤主要作用于 INS、GAPDH、VEGFA、EGFR、TNF 等靶蛋白, KEGG 通路富集结果显示, 文殊兰主要作用于 prostate cancer、proteoglycans in cancer、microRNAs in cancer、viral carcinogenesis 等信号通路。结论 文殊兰可能对前列腺癌、非小细胞癌、胰腺癌、膀胱癌、乳腺癌等具有一定的治疗作用, 诱导肿瘤细胞凋亡是文殊兰成分抗肿瘤的一个重要机制。初步推测并验证了文殊兰抗肿瘤的主要靶基因和通路, 为后续进一步探讨文殊兰靶向抑制肿瘤细胞提供新思路。

关键词: 文殊兰; 文殊兰亭碱; 抗肿瘤; 网络药理学; 分子对接; 作用机制

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)11-3321-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.11.020

Antitumor mechanism of *Crinum asiaticum* based on network pharmacology and molecular docking

YU Miao^{1,2,3}, LI Jia-xin¹, XIN Guo-song^{1,2,3}, QI Zheng^{1,2,3}, XUE Qin-bing¹, WANG Juan¹, WANG Nan-nan¹

1. Engineering Research Center for Medicine, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

2. Engineering Research Center of Natural Anti-tumor Drugs, Ministry of Education, Harbin 150076, China

3. Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Cancer Prophylaxis and Anticancer Drugs Research, Harbin 150076, China

Abstract: Objective To screen the main active ingredients and targets of *Crinum asiaticum* by using network pharmacology and explore the potential mechanism of its anti-tumor action. **Method** TCMID database was used to retrieve the chemical constituents of *C. asiaticum*, and through Batman and Swisstargets combined with related literature, the main active components and potential targets were screened out to establish target data. The tumor-related targets were screened through GeneCards database and NCBI database. The “*C. asiaticum*-ingredient-tumor-target” correlation network visualization diagram was constructed by Cytoscape 3.6.3 software. Protein interaction network between *C. asiaticum* and tumor established through analysis database by protein interaction network. Gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) database were adopted to analyze the gene ontology enrichment of related targets and important pathways so as to learn the possible biological processes and pathways. The molecular docking was used to conduct reverse verification of semi-flexible docking. **Results** A total of 15 active ingredients and 25 tumor-related pathways, of which INS, GAPDH, VEGFA, EGFR, TNF, and other target proteins were found. KEGG pathway enrichment results showed that *C. asiaticum* mainly acted on prostate cancer, proteoglycans in cancer, microRNAs in cancer, viral carcinogenesis via signaling pathways. **Conclusion** *C.*

收稿日期: 2020-11-13

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目 (YQ2020H024); 黑龙江省博士后科研启动金 (LBH-Q20027); 中央支持地方高校改革发展资金 (2020YQ12); 哈尔滨商业大学“青年创新人才”支持计划 (2019CX07)

作者简介: 于 淼 (1982—), 男, 副研究员, 博士生导师, 从事抗肿瘤药物研究。E-mail: yumiao913@163.com

asiaticum may have certain therapeutic effects on prostate cancer, non-small cell carcinoma, pancreatic cancer, bladder cancer, and breast cancer by apoptotic mechanism. This study preliminarily speculated and verified the main target genes and pathways of antitumor activity of *C. asiaticum*, which provides a new idea for further study of the inhibition of tumor cells targeted by *C. asiaticum*.

Key words: *Crinum asiaticum* L., crinasiatine, anti-tumor, network pharmacology, molecular docking, mechanism of action

文殊兰 *Crinum asiaticum* L. 为石蒜科文殊兰属植物, 全植株含有生物碱、黄酮、氨基酸类等多种化学成分^[1]。《本草纲目拾遗》中记载文殊兰: “叶似带, 治折伤损手足者, 取叶火煨热, 贴之即愈。”其民间以叶和根状茎入药, 能够祛火解毒、消肿散结^[2]。文殊兰有抗肿瘤、抗炎、抗病毒、镇痛、抗过敏、保护心血管系统、抗拟胆碱样等药理作用^[3-4]。文殊兰鳞茎中含有石蒜碱、恩其明、力克拉敏等多种生物碱^[5], 是其主要抗肿瘤活性成分。

肿瘤是危害当今人类健康的重要杀手, 近年来, 随着肿瘤研究的发展, 临床抗肿瘤药物的耐药性和化疗后副作用等一系列问题的出现, 抗癌中药的筛选始终是研究热点^[6]。大量研究表明, 文殊兰中的石蒜碱可通过抑制肿瘤细胞的增殖, 诱导肿瘤细胞凋亡发挥抗肿瘤作用^[7-9], 但对文殊兰中其他成分的相关报道很少, 因此, 本研究应用网络药理学研究文殊兰抗肿瘤的活性成分, 以期为该药的深入研究提供理论基础。

网络药理学可以准确展示潜在的药物-靶点之间的相互作用^[10]。本研究采用网络药理学策略 (图 1), 系统地研究了文殊兰抗肿瘤的潜在靶点和分子机制, 通过化学相似性分析、药效团模型筛选和反向对接等方法对其分子靶点进行预测。利用各种生物信息学平台识别病理靶点。然后根据基因本体论 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 数据库进行富集分析, 构建药物靶向途径网络。最后, 利用分子对接技术验证文殊兰与其靶分子之间的相互作用。

1 材料与实验

1.1 靶点筛选

通过 TCMID 数据库 (<http://119.3.41.228:8000/tcmid/herb/6636/>) 检索文殊兰的化学成分, 将所有的化学成分通过 Swisstargets 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 进行吸收、分布代谢、排泄 (absorption, distribution, metabolism, excretion, ADME) 参数的检索和筛选, 将符合要求的化合物纳

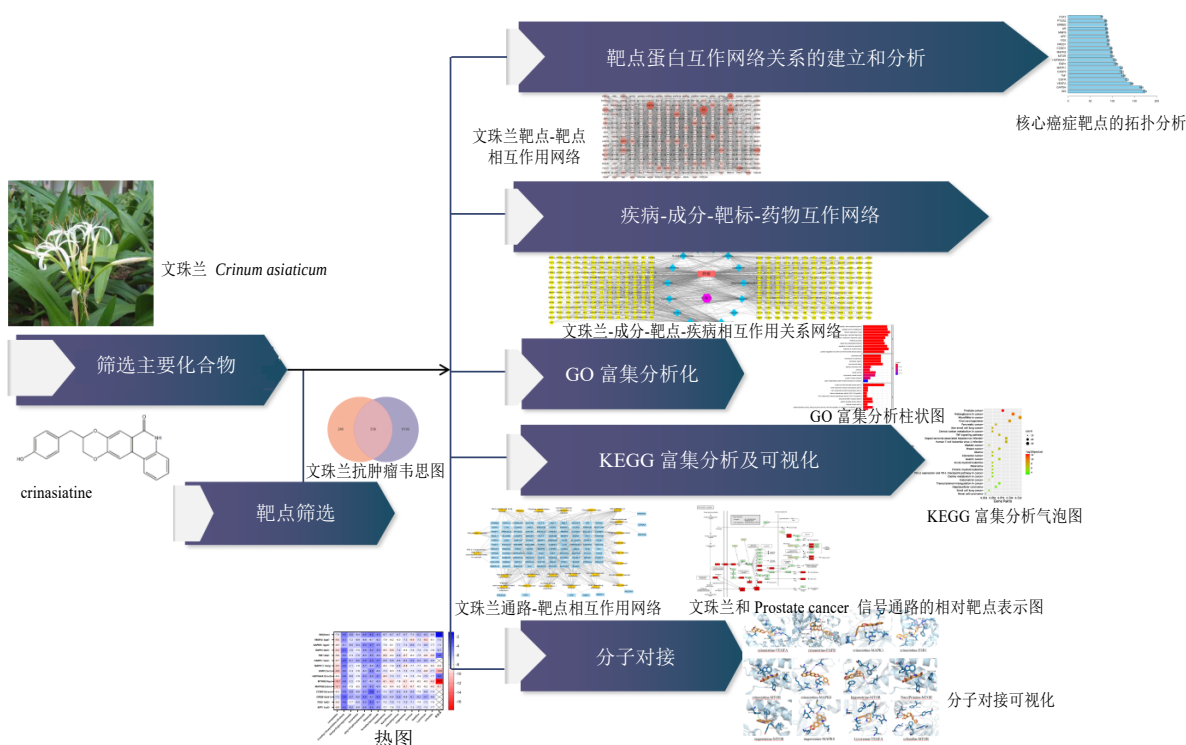


图 1 文殊兰网络药理学分析流程

Fig. 1 Network pharmacology workflow of *C. asiaticum*

入, 并通过 Swisstargets 数据库和 Batman 数据库 (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>) 检索其作用靶点。以肿瘤 “tumor” 为关键词, 在 GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 和 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>) 进行检索。将得到的疾病靶点和药物靶点导入 Venny 2.1 软件找出交集靶点, 并绘制韦恩图, 作为药物作用于疾病的预测靶点。

1.2 蛋白质相互作用网络 (protein-protein interaction, PPI) 构建

将药物疾病交集靶点输入 String 数据库 (<https://string-db.org/cgi/input.pl>) 构建 PPI 网络进行初步筛选, 再将 PPI 网络导入 Cytoscape 3.6.3 中, 通过 Network Analyzer 工具进行拓扑分析, 以度 (degree)、中心度 (betweenness centrality)、平均最短路径变化量 (average shortest path length) 和接近中心性 (closeness centrality) 4 个参数为参考标准, 通过 degree 排序, 选取分值大于平均分的基因作为关键靶点。以关键靶点作为节点构建相互作用网络, 并对前 20 个靶点进行拓扑分析。

1.3 GO 通路富集

将药物疾病关键靶点进行 GO 的生物过程 (biological process, BP)、分子功能 (molecular function, MF)、细胞组分 (cell component, CC) 富集, 引用 String 数据库, 将校正 $P \leq 0.05$ 的项目进行筛选, 并使用 R3.6.3, 安装并引用 clusterProfiler、enrichplot、ggplot2 包后, 绘制柱状图。

1.4 KEGG 通路富集及分析

将药物疾病共有靶点进行 KEGG 通路富集分

析, 引用 String 数据库, 将校正 $P \leq 0.05$ 的项目进行筛选, 并使用 R3.6.3 软件, 安装并引用 clusterProfiler 包后, 绘制与癌症相关的相关通路气泡图。将文殊兰预测得到的化合物与癌症相关的关键靶点和与 KEGG 通路富集的癌症相关的通路作为节点构建 “靶点-通路” 网络, 并利用软件 Cytoscape 3.6.3 对网络进行可视化处理并分析主要作用通路。

1.5 分子对接

将筛选出的主要活性成分通过 PubChem 下载 SDF 格式; 将关键蛋白靶点通过 PDB 数据库, 尽量选择分辨率 Resolution (Å) 高, 有配体、结构相对完整的晶体结构, 并下载 PDB 格式文件。

将配体分子导入 PyRx 软件^[11]进行能量最小化处理。蛋白导入 Auto Dock Tools, 进行除水、加氢、计算电荷, 原子类型设为 Assign AD4 type。将处理好的配体分子导入 PyRx 软件的 Ligands 选项; 蛋白导入 Macromolecules 选项, 进行 Run Vina 计算分数。

2 结果

2.1 化学成分及其对应靶点的采集

通过 TCMID 数据库检索文殊兰的化学成分, 将所有的化学成分通过 Swisstargets 数据库 ADME 参数的检索和筛选, 得到 15 个符合要求的化合物, 见表 1。

2.2 癌症靶点基因与文殊兰治疗靶点的关联分析

通过 Swisstargets 和 Batman 数据库预测得到文殊兰主要成分的相关靶点, 去重, 共得到 585 个基因靶点。依据 GeneCards、NCBI 数据库挖掘得到癌

表 1 筛选出的化学成分信息

Table 1 Information of selected chemical composition

化合物名称	度	中心度	接近中心性
文殊兰亭碱 (crinasiatine)	114	0.055 382	0.431 873
3-甲基-1H-嘧啶-2,4-二酮 (3-methyl-1H-pyrimidine-2,4-dione)	76	0.025 164	0.395 323
苄基-D-吡喃葡萄糖苷 (benzyl-D-glucopyranoside)	56	0.013 575	0.378 465
力克拉敏 (石蒜胺, lycoramine)	50	0.011 160	0.373 684
对羟基苯甲酸乙酯 (ethyl-4-hydroxybenzoate)	45	0.008 751	0.369 792
油酸酰胺 (oleamide)	38	0.006 339	0.364 476
N-甲基苯甲酰胺 (N-methyl-benzamide)	37	0.006 007	0.363 730
小星蒜碱 (海泊星碱, hippeastrine)	25	0.002 516	0.355 000
水仙明 (narciprimine)	24	0.002 357	0.354 291
伪石蒜碱 (pseudolycorine)	23	0.002 220	0.353 586
恩其明 (氧化石蒜碱, ungeremine)	15	0.000 970	0.348 039
石蒜碱 (lycorine)	12	0.000 468	0.346 004
多花水仙碱 (tazettine)	6	1.47×10^{-4}	0.342 004
石蒜宁碱 (lycorenan)	6	1.82×10^{-4}	0.342 004
非洲防己苦素 (columbin)	4	8.05×10^{-5}	0.340 691

症相关基因,去重后得到 6538 个靶点,将筛选出的药物靶点与疾病靶点输入 Venny 2.1,得到 339 个共有靶点(图 2),作为药物作用于疾病的预测靶点。

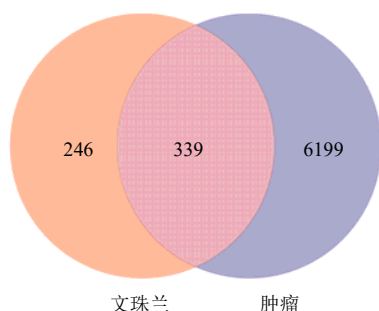


图 2 文殊兰抗肿瘤韦恩图

Fig. 2 Antitumor Venny diagram in *C. asiaticum*

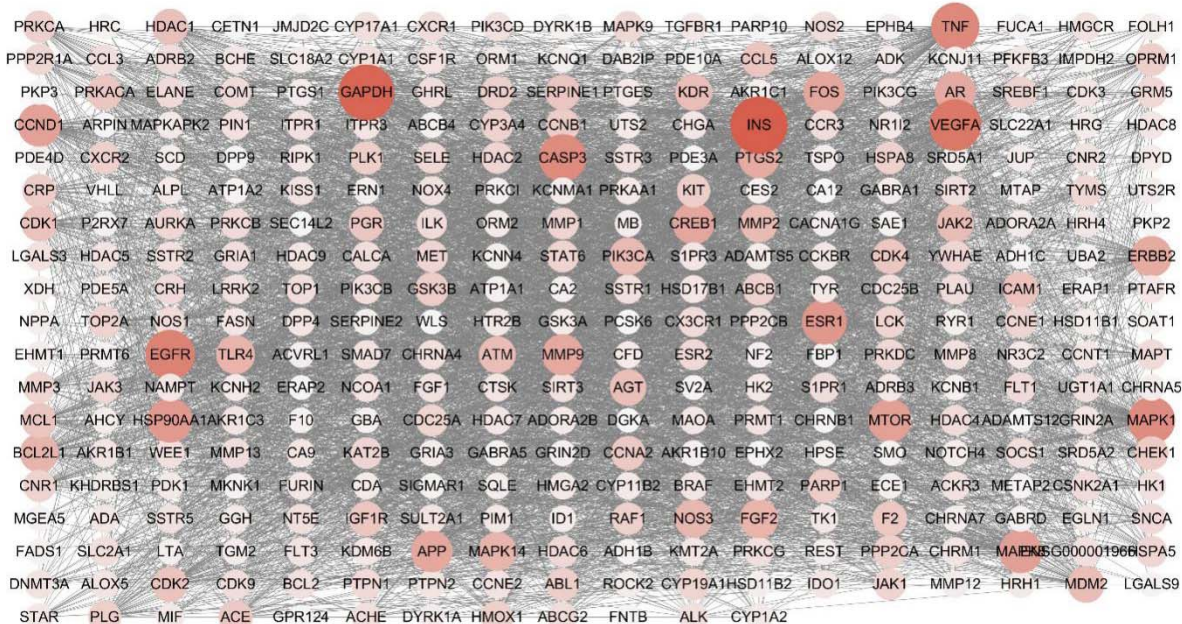


图 3 文殊兰蛋白相互作用网络

Fig. 3 Protein interaction network of *C. asiaticum*

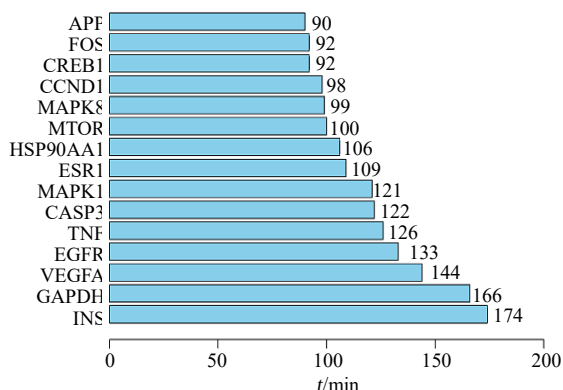


图 4 核心癌症靶点的拓扑分析

Fig. 4 Topological analysis of core cancer targets

2.3 蛋白相互作用网络关系的建立和分析

将得到的文殊兰靶点数据导入 Cytoscape 3.6.3 中,通过度排序,选取分值大于平均分的基因作为关键靶点,共筛选出 118 个关键靶点(图 3),节点颜色和大小根据度值调整,越大、颜色越深,度值越大。将排名前 15 个靶点作为核心靶点并使用 R3.6.3 进行拓扑分析(图 4)。

2.4 “成分-靶点-疾病”网络的构建

用 Cytoscape 3.6.3 软件处理得到文殊兰“成分-靶点-疾病”相互作用关系网络(图 5)。网络中黄色为药物作用于疾病的靶点,蓝色为文殊兰活性成分。表明文殊兰的抗肿瘤作用是基于多成分、多基因、多靶点的协同复杂作用。

2.5 GO 富集分析

GO 富集分析结果显示,根据错误发生率(false discovery rate, FDR) < 0.05,筛选出 BP(如黏附、迁移、凋亡、周期等)2691 个,CC(如细胞膜、细胞质等)225 个,MF 164 个,根据 Count 值排序,取前 10,结果如图 6 所示,细胞生物过程富集的基因数较多,FDR 值较低,说明文殊兰主要通过调节细胞生物过程发挥抗肿瘤作用。

2.6 KEGG 通路富集分析

KEGG 分析共富集到 168 条信号通路,其中 25 条癌症相关通路,并对 25 条通路进行可视化处理(图 7)。根据 KEGG 通路分析,文殊兰可能对前列

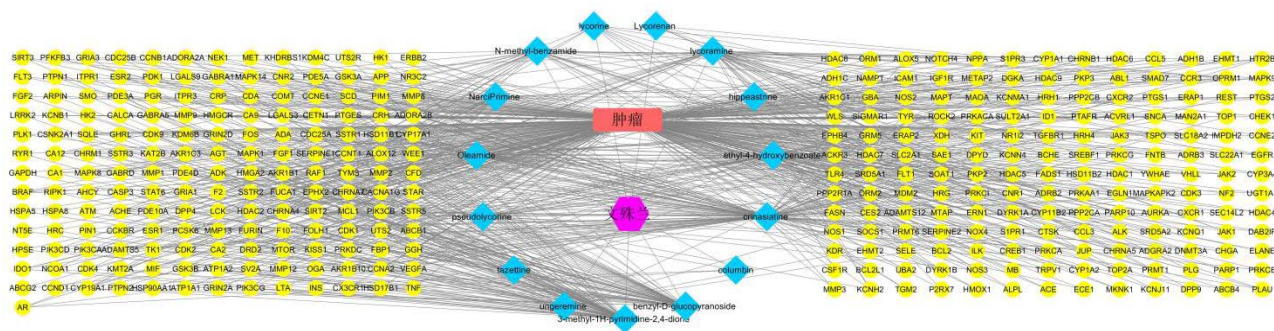


图 5 成分-靶点-疾病相互作用关系网络

Fig. 5 Composition-target-disease interaction network

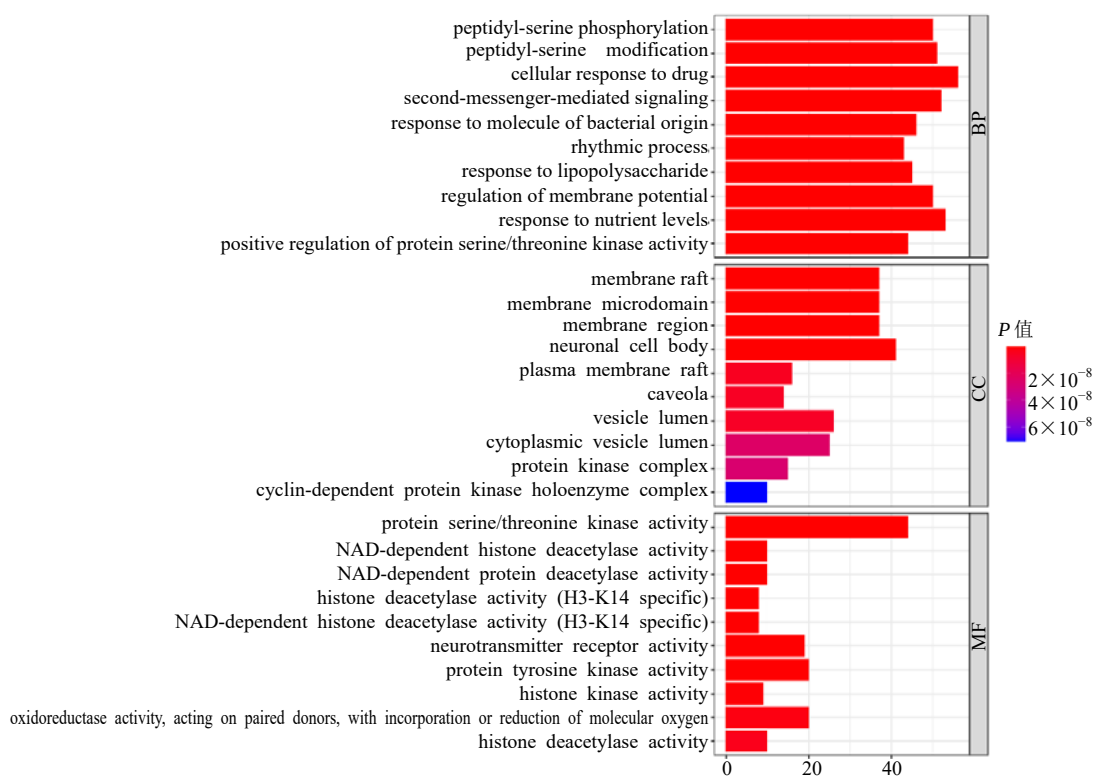


图 6 GO 富集分析结果

Fig. 6 Analysis results of GO enrichment

腺癌 (prostate cancer)、胰腺癌 (pancreatic cancer)、非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer) 等多种癌症有治疗作用, 文殊兰靶点-通路相互作用网络关系见图 8, 其与 prostate cancer 信号通路的靶点作用关系见图 9。

2.7 分子对接

对筛选出核心化合物和前 15 个潜在核心靶点进行分子对接, 对接结果的标准误差 (root mean square deviation, RMSD) 与原配体的 RMSD 分别进行模型表征对比, 以最低值为筛选条件。通常认为, 配体和受体的构象越稳定, 能量越低, 结合的可能性越

大^[12]。经 PyRx 对接, 得到的数据进行热图分析 (图 10, 红色越深, 结合自由能越高)。本研究结合自由能小于 -5 kJ/mol 的活性成分有 202 个, 占 90%; 小于 -9 kJ/mol 的活性成分有 12 个, 占 5.3%, 可见这些核心化合物与受体结合活性较高, 结构相对稳定。本研究以结合能 $\leq -9.0 \text{ kJ/mol}$ 作为筛选标准, 用 Pymol 2.3 软件进行可视化 (图 11)。

3 讨论

本研究采用网络药理学^[13]的方法, 探索多组分、多靶点、多通路的复杂中药网络关系。基于网络药理学, 发现文殊兰抗肿瘤的主要活性成分为生

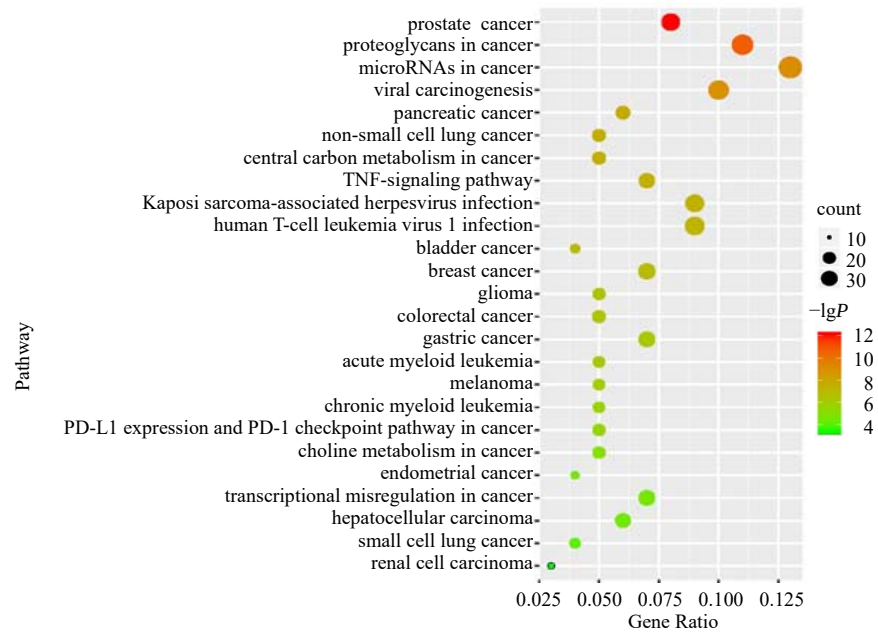
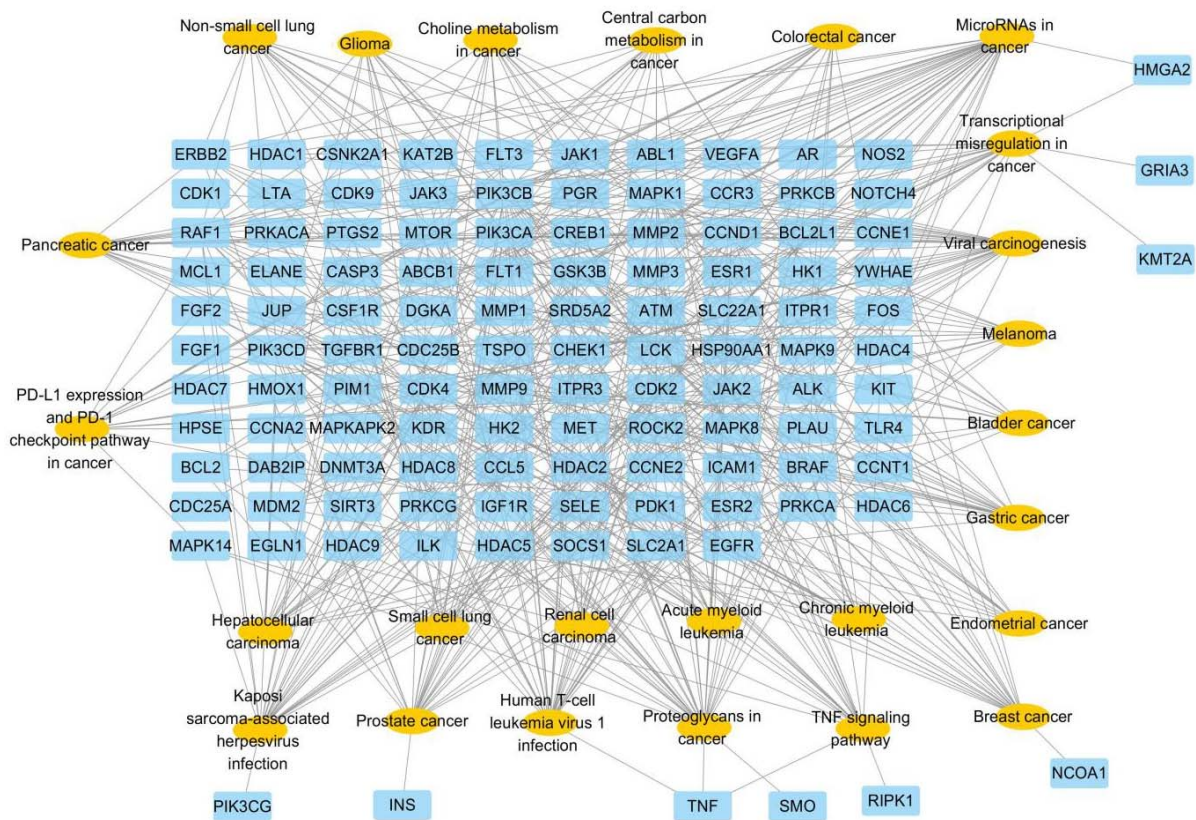


图 7 KEGG 富集分析气泡图

Fig. 7 Bubble diagram of KEGG enrichment analysis



黄色椭圆形代表与肿瘤相关的信号通路，蓝色矩形代表关键靶点

Yellow ovals represent tumor-associated signaling pathways and blue rectangles represent key targets

图 8 文殊兰“通路-靶点”相互作用网络

Fig. 8 “Pathway-target” network of *C. asiaticum*

Fig. 10 Thermal diagram analysis of molecular docking fraction

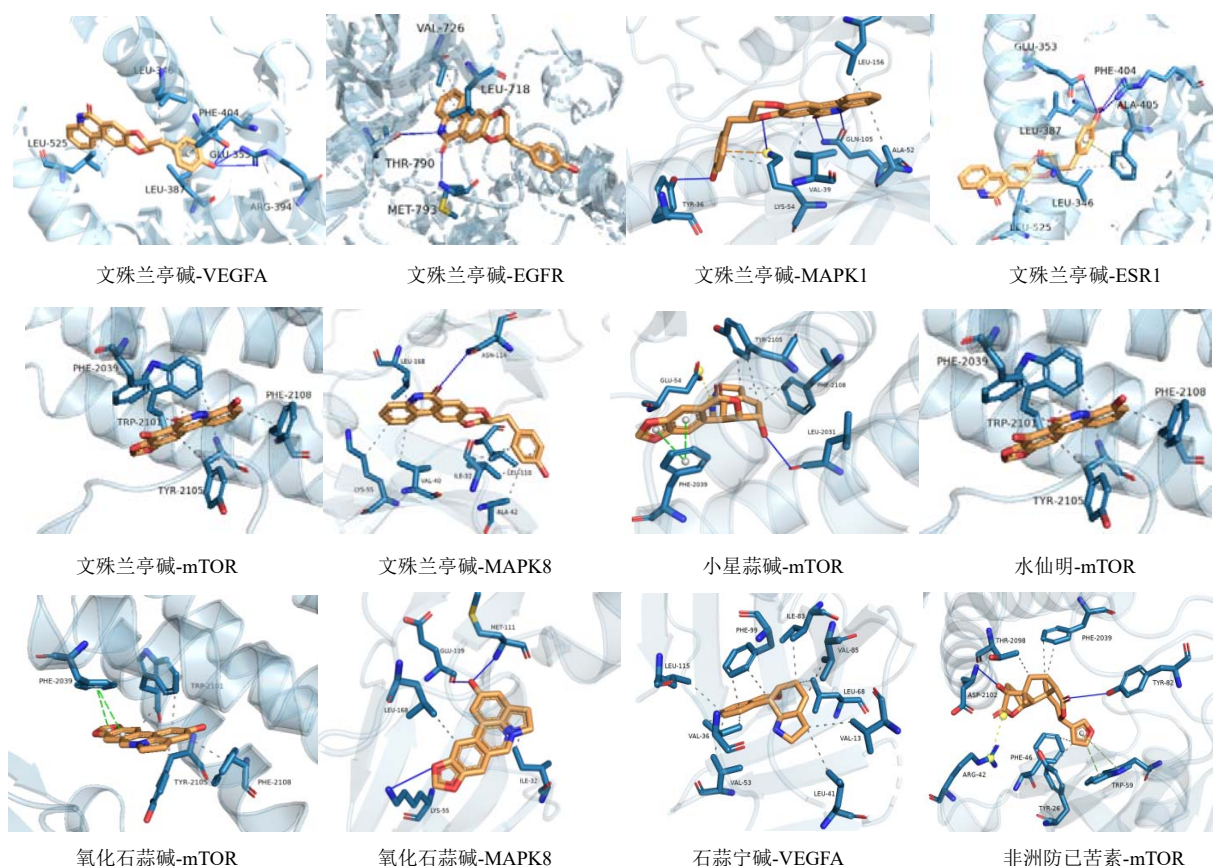


图 11 文殊兰活性成分与核心靶点分子对接可视化 (结合能 ≤ -9 kJ/mol)

Fig. 11 Visualization of docking between active components and core target molecules of *C. asiaticum* (affinity ≤ -9 kJ/mol)

物碱类, 确认文殊兰亭碱、石蒜胺和小星蒜碱等 15 个抗肿瘤活性成分, 以及 15 个关键靶点, 包括胰岛素 (insulin, INS)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGFA)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 等。KEGG 富集出的通路跟癌症相关的有 25 条, 并通过分子对接技术进行半柔性对接, 结果显示化合物与关键靶点均有结合活性, 结构相对稳定。KEGG 富集分析结果显示, 前列腺癌、多聚糖肿瘤信号通路等与文殊兰抗肿瘤作用密切相关。因此, 推断出文殊兰对前列腺癌、胰腺癌、结肠癌、非小细胞肺癌等多种癌症有治疗作用。

对接过程中, 活性中心 Gridbox 的大小设置合理与否会直接影响到分子对接的准确性, 故本研究以原配体抑制剂为活性口区域, 合理设置分子对接的 Gridbox 大小。本研究通过 TCMID、PubChem 数据库从文殊兰中筛选出 15 个化合物, 分别与 15

个关键靶点进行了分子对接。文殊兰中结合能小于 -5 kJ/mol 的活性成分有 202 个, 占 90%; 小于 -9 kJ/mol 的活性成分有 12 个, 占 5.3%。已有研究表明, 文殊兰中的菲啶型生物碱 (水仙明、恩其明、石蒜宁碱等)、石蒜型生物碱 (石蒜碱)、lycorenine 型生物碱 (石蒜宁碱) 是其主要的抗肿瘤活性成分^[6], 且 Lycorenine 型生物碱活性大于石蒜型生物碱。结合分子对接结果, 推测菲啶型生物碱、石蒜型生物碱、lycorenine 型生物碱可能在文殊兰发挥潜在抗肿瘤作用中具有较大贡献。

分子对接结果显示, 文殊兰亭碱与 VEGFA、EGFR、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase 1, MAPK1)、MAPK8、雌激素受体 α (estrogen receptor alpha, ESR1)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 等关键靶点结合能均 ≤ -9 kJ/mol, 说明文殊兰亭碱与以上靶点能很好的结合, 同时 KEGG 富集分析得到的与癌症相关的通路大多涉及到以上基因。已研究表明, 文殊兰亭碱对胰腺癌 PNAC-1-LUC 细胞、恶性黑色素瘤细胞 SK-MEL-2、乳腺癌 ZR-75-1 细

胞等一系列肿瘤细胞均有细胞毒作用^[14]。小星蒜碱与 mTOR 结合能力较好, mTOR 相关信号通路磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)/mTOR 的激活与列腺癌的发生密切相关, 在临床上常用 PI3K/Akt/mTOR 通路抑制剂治疗前列腺癌^[15-16]。因此, 推测文殊兰中的核心化合物通过作用关键靶点 VEGFA、EGFR、MAPK1、MAPK8、ESR1、mTOR 等调控前列腺通路、胰腺癌通路、非小细胞肺癌通路、黑色素瘤通路、乳腺癌通路等信号通路起到抗肿瘤作用。

在这些关键基因中, Caspase-3 是半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶, 研究发现 Caspase-3 的过度表达可促进树突状细胞细胞的成熟并提高其抗肿瘤能力^[17]。Caspase-3 是一种常被激活的死亡蛋白酶, 催化其特异性裂解许多关键的细胞蛋白^[18]。体外实验表明, 小星蒜碱能降低 Caspase-3 的表达, 诱导小鼠肉瘤 S₁₈₀ 细胞凋亡^[19]。同时, 小星蒜碱能显著抑制人结肠癌 Ht-29 细胞和肝癌 Hepg2 细胞的增殖^[20]。甜菜碱型生物碱氧化石蒜碱对 9 种肿瘤细胞株具有细胞毒作用, 其机制可能为促进肿瘤细胞坏死、自噬以及 Caspases 激活介导的细胞凋亡、激活基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 通路和活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 生成^[21]。非洲防己苦素是一类二萜类呋喃化合物, 具有多种药理活性, 包括抗炎、抗肿瘤、体内抑制酶活性等^[22]。非洲防己苦素通过抑制结肠癌细胞的增殖, 显著抑制偶氮甲烷诱导大鼠结肠发育的进展^[23]。水仙明被发现是一种新的抗肿瘤细胞增殖药物, 对人急性淋巴细胞白血病 CEM 细胞具有明显的抑制细胞周期紊乱和凋亡诱导作用, 其机制可能是由 Caspase 级联激活介导的凋亡作用^[24]。这与 KEGG 分析结果相符合, Caspase 可能是结肠癌信号通路、白血病信号通路等通路的关键靶点, 由此可以推断, 诱导肿瘤细胞凋亡是文殊兰成分抗肿瘤作用的重要机制。

本研究通过网络药理学和分子对接相结合的方法, 确认文殊兰抗肿瘤活性成分、关键靶点和信号通路, 并基于分子对接初步模拟其可能分子作用机制。本研究结果为后续文殊兰的研究提供了理论基础和重要依据, 这些信息可能有助于阐明文殊兰抗肿瘤的基本机制和识别潜在靶点, 但未来需要对靶点和特定相互作用进行实验验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 于淼. 文殊兰种子中总生物碱提取方法的比较 [J]. 中草药, 2014, 45(8): 1089-1095.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典 (上册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1993: 1359.
- [3] 季宇彬, 辛国松, 曲中原, 等. 石蒜属植物生物碱类化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(1): 157-164.
- [4] 秦昆明, 李笑, 徐昭, 等. 石蒜碱及其衍生物的药理作用研究情况 [J]. 北京联合大学学报: 自然科学版, 2003, 23(1): 6-9.
- [5] 史琪荣. 四种药用植物活性成分的系统研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2007.
- [6] 尹婕, 李琦, 孙立东, 等. 天然产物抗癌研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(1): 19-27.
- [7] 刘希宇, 贺小英, 王凤梅, 等. 石蒜碱对人胃癌细胞体外增殖的影响 [J]. 信阳师范学院学报: 自然科学版, 2015, 28(2): 173-176.
- [8] 王崇山. 石蒜碱对膀胱癌细胞 T24 的作用及机制初探 [D]. 广州: 南方医科大学, 2017.
- [9] 辛国松, 季宇彬, 于淼, 等. 基于线粒体靶向机制的石蒜碱抗肝癌作用研究 [J]. 中草药, 2018, 49(5): 1132-1138.
- [10] Peng Y, Wang M, Xu Y, et al. Drug repositioning by prediction of drug's anatomical therapeutic chemical code via network-based inference approaches [J]. *Briefings Bioinform*, 2021, 22(2): 2058-2072.
- [11] Trot T O, Olson A J. AutoDock Vina: Improving speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading [J]. *J Comput Chem*, 2010, 31(2): 455.
- [12] Dallakyan S, Olson A J. Small-molecule library screening by docking with PyRx. [J]. *Methods Molecular Biol*, 2015, 1263: 243-250.
- [13] Liu C T, Chen Y H, Huang Y C, et al. Chemotherapy in conjunction with traditional Chinese medicine for survival of patients with early female breast cancer: protocol for a non-randomized, single center prospective cohort study [J]. *Trials*, 2019, 20(1): 741.
- [14] Likhitwitayawuid K, Angerhofer C K, Chai H, et al. Cytotoxic and antimalarial alkaloids from the bulbs of *Crinum amabile* [J]. *J Nat Prod*, 1993, 56(8): 1331-1338.
- [15] Atmaca H, Camli P C, Cittan M. *Liquidambar orientalis* Mill. gum extract induces autophagy via PI3K/Akt/

- mTOR signaling pathway in prostate cancer cells [J]. *Int J Envir Health Res*, 2020, doi: 10.1080/09603123.2020.1818187.
- [16] Li X J, Tang Y P, Yu F M, *et al.* Inhibition of prostate cancer DU-145 cells proliferation by anthopleura anjunae oligopeptide (YVPGP) via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. *Marine Drugs*, 2018, 16(9): 325.
- [17] Chen G L, Tian Y Q, Wu J L, *et al.* Antiproliferative activities of Amaryllidaceae alkaloids from *Lycoris radiata* targeting DNA topoisomerase I [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38284.
- [18] Liu J, Wang F, Yin D, *et al.* Caspase 3 may participate in the anti-tumor immunity of dendritic cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 511(2): 447-453.
- [19] Porter A G, Jänicke R U. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis [J]. *Cell Death Differ*, 1999, 6: 99-104.
- [20] Chen G L, Tian Y Q, Wu J L, *et al.* Antiproliferative activities of Amaryllidaceae alkaloids from *Lycoris radiata* targeting DNA topoisomerase I [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38284.
- [21] Liao N, Ao M Z, Zhang P, *et al.* Extracts of *Lycoris aurea* induce apoptosis in murine sarcoma S180 cells [J]. *Molecules*, 2012, 17: 3723-3735.
- [22] Armelle T, Mbaveng G T M, Gabin T M, *et al.* Cytotoxicity of ungeremine towards multi-factorial drug resistant cancer cells and induction of apoptosis, ferroptosis, necroptosis and autophagy [J]. *Phytomedicine*, 2019, 60: 152832.
- [23] Kohno H, Maeda M, Tanino M, *et al.* A bitter diterpenoid furanolactone columbin from *Calumbae Radix* inhibits azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis [J]. *Cancer Lett*, 2002, 183(2): 131-139.
- [24] Nair J J, RárováL, Strna M D, *et al.* Apoptosis-inducing effects of distichamine and narciprimine, rare alkaloids of the plant family Amaryllidaceae [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22(19): 6195-6199.

[责任编辑 潘明佳]