

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.01.005

6,7,4'-三羟基异黄酮(T2)水溶性衍生物的合成及其对宫颈癌细胞抑制作用的研究*

袁少隆,李 蓉[△]

(第三军医大学军事预防医学院防原医学教研室/全军复合伤研究所/创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400030)

[摘要] **目的** 合成 6,7,4'-三羟基异黄酮(6,7,4'- trihydroxyisoflavone, T2)水溶性衍生物,对其结构进行表征,并对其抗肿瘤活性进行评价。**方法** 通过磺化反应在原料 B 环中 3'位引入磺酸基(-SO₃H),进一步浓氨水氨化后得到水溶性显著提高的异黄酮衍生物,通过氢谱、碳谱、质谱、元素分析等对其结构进行表征,CCK-8 法及流式测定其杀伤宫颈癌细胞(Hela)的活性。**结果** 通过上述方法得到两种水溶性异黄酮衍生物 T2-SO₃H·2H₂O 和 T2-SO₃(NH₄)₂,产率分别为:96%、75%,生物试验显示其中 T2-SO₃(NH₄)₂ 抗肿瘤活性显著增强。**结论** 与 T2 相比,其水溶性衍生物具有更高的生物相容性及抗肿瘤活性,有广泛的生物应用前景。

[关键词] 异黄酮类;宫颈肿瘤;异黄酮衍生物;水溶性;磺化反应;抗肿瘤**[中图分类号]** R730.53**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)01-0033-03

Synthesize of water-solubility derivant of 6,7,4'- trihydroxyisoflavone (T2) and study of its inhibition effect on human breast cancer cell proliferation*

Yuan Shaolong, Li Rong[△]

(Teaching and Researching Section of Protective Medicine against Nuclear Weapons, Institute of Combined Injury/State Key Laboratory of Trauma/Burns and Combined Injury, College of Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400030, China)

[Abstract] **Objective** To synthesize of water-solubility derivant of 6,7,4'- trihydroxyisoflavone (T2), to characterize its structure and to evaluate its anti-tumor activity. **Methods** The sulfonic group(-SO₃H) was grafted to 3' position in loop B of T2 through sulfonation reaction, then strong aqua was added to above production, and obtained a water-solubility elevated compound named T2-SO₃(NH₄)₂ through ammoniation. The construction of T2-SO₃(NH₄)₂ was characterized by ¹H-NMR, ¹³C NMR, MS and element analysis. Its activity for killing human breast cancer cells (Hela) was analyzed by CCK-8 assay and flow cytometry. **Results** The two kinds of water-solubility derivant of T2-SO₃H·2H₂O and T2-SO₃(NH₄)₂ were obtained through above methods, and their yield rates were 96% and 75% respectively. The biological experiments showed that the anti-tumor activity of T2-SO₃(NH₄)₂ was significantly enhanced. **Conclusion** Compared to T2, T2-SO₃(NH₄)₂ exhibit higher biocompatibility and anti-tumor activity with vast biological application prospect.

[Key words] isoflavones; uterine cervical neoplasms; derivant of trihydroxyisoflavone; water-solubility; sulfonation reaction; anti-tumor

宫颈癌是最常见的女性生殖道恶性肿瘤,发病率仅次于乳腺癌,故对宫颈癌治疗的研究已成为国内外学者研究的重点^[1]。研究表明,大豆异黄酮(isoflavone, SI)及其衍生物可明显抑制宫颈癌细胞的增殖,其机制多为诱导胞内信号分子改变,细胞周期阻滞及促进凋亡相关基因的表达^[2-3]。然而,异黄酮及其衍生物存在水溶性及脂溶性差的弊端,体内难以吸收,生物利用度低,限制了其生物应用。鉴于此,在前期合成的 6,7,4'-三羟基异黄酮(6,7,4'- trihydroxyisoflavone, T2)的基础上^[4],化学合成了其水溶性衍生物 T2-SO₃(NH₄)₂,并研究了其对宫颈癌细胞生长的抑制作用,以期寻找到一种新型的抗宫颈癌药物。

1 材料与方 法

1.1 材料 T2 来自于本实验室前期合成(生产批号:20140625)。人宫颈癌细胞 Hela 购自中国科学院细胞库,细胞

在常规条件下培养,取对数生长期的细胞用于试验。

1.2 试剂与仪器 DMEM 高糖培养基、胎牛血清、0.25%胰酶购于美国 Gibco 公司,批号分别为 20150706、20150524、20150612;细胞增殖活性测定试剂盒(CCK-8)购于日本 Dojindo 有限公司,批号 20150815;细胞凋亡检测试剂盒(FITC 标记了的膜联蛋白-V/碘化丙啶, Annexin V-FITC/PI)购于美国 Bipece Biopharma 公司;浓硫酸,浓氨水购于中国科龙试剂公司;二甲基亚砜(DMSO)购自美国 Sigma 公司;多功能全自动酶标仪购于美国 Molecular Devices 公司;流式细胞仪购于美国 BD 公司;高速离心机购于中国湖南湘仪公司;磁力搅拌器购于德国 IKA 公司;隔膜泵购于日本东京理化公司;真空干燥箱购于中国上海一恒公司。

1.3 方法

1.3.1 3'-磺酸基-6,7,4'-三羟基异黄酮(3'-sulfonic-6,7,4'-

Trihydroxyisoflavone, T2-SO₃H·2H₂O)的合成及表征 T2 由本课题组前期合成^[5]。取 5.0 g T2 于 100 mL 圆底烧瓶中,分别加入 10、15、20、25、30 或 35 mL 浓硫酸。超声振荡使原料溶解后,分别搅拌 4、8、12、16 或 20 h,搅拌温度分别为 5、15、25、35、45、55 °C。薄层色谱分析(thin layer chromatography, TLC)检测反应进程,反应结束后,将反应液滴加到 0 °C 的水中,控温搅拌反应 30 min,于沙芯漏斗中抽滤反应液。取 50 mL 乙腈搅洗得到的固体至中性,烘干。对得到的化合物进行熔点(mp)、氢核磁共振(¹H NMR, 400 MHz, 溶剂为 DMSO)、高分辨质谱(ESI MS, 水溶液)及碳核磁共振(¹³C NMR, 50 MHz, 溶剂为 DMSO)分析测试。

1.3.2 3'-磺酸氨-4'-羟氨-6,7,2-二羟基异黄酮 [(3'-sulfoacid-4'-hydroxylamine-6,7,4'-Trihydroxyisoflavone, T2-SO₃(NH₄)₂)]的合成及表征 取 5.0 g T2-SO₃H·2H₂O 置于 50 mL 圆底烧瓶中,加入 30 mL 浓氨水,避光磁力强烈搅拌反应 24 h 后,向其中加入 50 mL 丙酮溶液后,布氏漏斗过滤,用丙酮洗涤至中性,去掉多余的氨水溶液。最后将产品置于真空干燥箱烘干。对得到的产品进行 ESI MS(水溶液)、元素含量分析、¹H NMR (400 MHz, 溶剂为 DMSO)及¹³C NMR(50 MHz, 溶剂为 DMSO)分析测试。

1.3.3 水溶性比较 分别取 T2、T2-SO₃H·2H₂O、T2-SO₃(NH₄)₂ 各 0.2 g 置于烧杯中,加水至刚好溶解澄清,观察各化合物溶解度情况,并对各化合物水溶液的体系 pH 值进行测定。

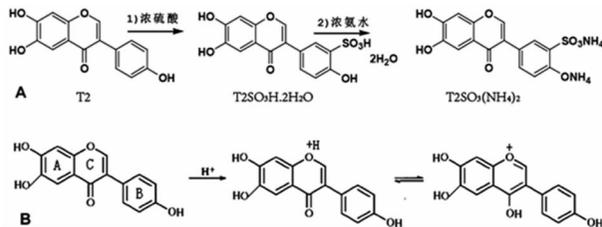
1.3.4 细胞增殖研究 将 HeLa 细胞按 2 000/孔接种于 96 孔板,每孔 100 μL。37 °C, 5%CO₂ 增湿培养箱中孵育 24 h 后,各组细胞分别加入浓度为 0、0.1、1.0、10.0、20.0 μmol/L 的 T2 或 T2-SO₃(NH₄)₂,每组 3 个复孔,继续孵育 48 h。每孔加入 10 μL CCK-8 溶液,37 °C 避光孵育 2 h,多功能酶标仪测定 450 nm 处各孔吸光度(A)值,计算细胞增殖活性。

1.3.5 流式细胞技术检测细胞凋亡 HeLa 细胞按 1×10⁵/孔接种于 6 孔细胞培养板中,每孔 1 mL,孵育箱内培养 24 h。各组细胞分别加入浓度为 0、1.0、10.0、20.0 μmol/L 的 T2 或 T2-SO₃(NH₄)₂ 处理,继续孵育 48 h。胰酶消化收集细胞,1 500 r/min 离心 5 min,弃去培养液,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 次。采用细胞凋亡检测试剂盒测定细胞凋亡率,将细胞与 Annexin V-FITC/PI 室温避光共孵育 15 min,上流式细胞仪进行检测。

2 结 果

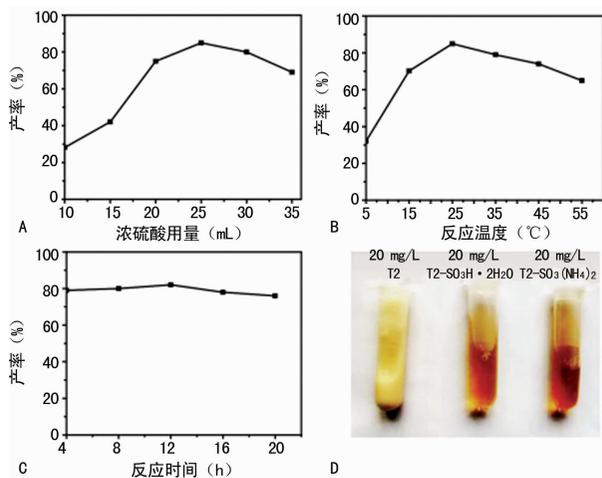
2.1 T2-SO₃H·2H₂O 的合成及表征 首先通过 T2 与浓硫酸的磺化反应,对异黄酮骨架的芳环进行选择性活化,合成反应路线及机理如图 1,最终生成化合物 T2-SO₃H·2H₂O。本研究探讨了浓硫酸用量、磺化反应温度及反应时间对 T2-SO₃H·2H₂O 产率的影响。当 T2 投料量为 5.0 g 时,其反应产率随着浓硫酸用量、反应温度及反应时间的增加,呈现先升后降的趋势(图 2)。浓硫酸用量为 25 mL,反应温度在 25 °C,反应时间控制在 12 h 时产率最大(分别为 88.2%、89.3%、84.6%),反应结果较理想。使用优化后的反应条件,T2 投料 5.0 g,得到 T2-SO₃H·2H₂O 共 7.2 g,计算其产率 96.0%。随后对得到的 T2-SO₃H·2H₂O 进行化学表征。mp 测试结果大于 300 °C。¹H NMR 测试结果显示氢原子出峰(包括相应裂峰)位置 δppm 分别为 8.268(¹H, s, H-2),7.690(¹H, s, H-5),7.370(²H, d, J=8.6 Hz, H-2, H-6'),6.912(¹H, s, H-8),6.820(¹H, s, H-5')。ESI MS 分析结果显示主要离子峰为 349 (M-1)⁻。¹³C NMR 分析结果显示碳原子出峰位置 δppm 分别为

174.345、152.975、152.727、152.209、150.947、144.614、131.555、130.469、127.707、122.825、122.284、116.610、116.214、108.131、102.823。



A: T2-SO₃(NH₄)₂ 合成示意图; B: 芳环选择活化的机理。

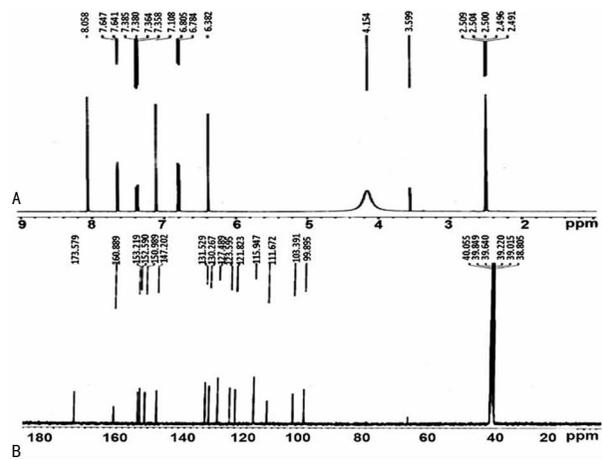
图 1 T2-SO₃(NH₄)₂ 合成反应路线及机理



A: 浓硫酸用量; B: 反应温度; C: 反应时间; D: 20 mg/mL T2, T2-SO₃H·2H₂O, T2-SO₃(NH₄)₂ 的水溶液照片。

图 2 T2 磺化反应条件试验

2.2 T2-SO₃(NH₄)₂ 的合成及表征 进一步通过 T2-SO₃H·2H₂O 与浓氨水的氨化反应生成 T2-SO₃(NH₄)₂, 其合成路线如图 1A。T2-SO₃H·2H₂O 投料 5.0 g, 得到 T2-SO₃(NH₄)₂ 共 3.8 g, 计算其产率 75.00%。ESI MS 分析结果显示主要离子峰为 349(M-2NH₄)⁺, 进一步的元素含量分析显示其碳元素含量为 45.80%, 氮元素含量为 7.33%, 氢元素含量为 4.41%, 其¹H NMR 及¹³C NMR 结果见图 3。



A: T2-SO₃(NH₄)₂ 的¹H NMR; B: T2-SO₃(NH₄)₂ 的¹³C NMR。

图 3 T2-SO₃(NH₄)₂ 的结构表征分析

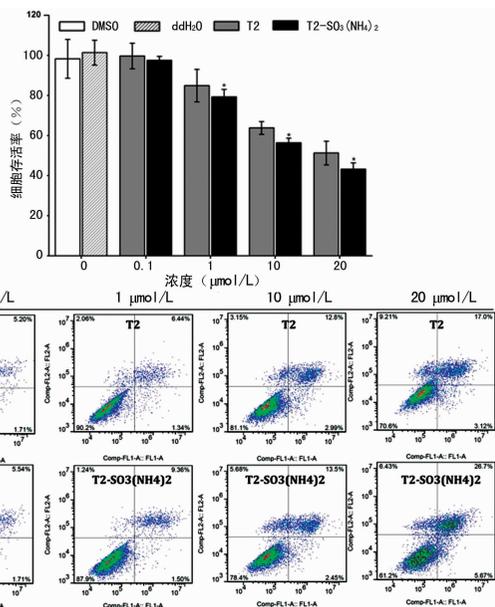
2.3 水溶性比较 对 T2、T2-SO₃H·2H₂O 及 T2-SO₃(NH₄)₂ 的水溶性进行考察, 20 mg/mL T2, T2-SO₃H·2H₂O 及 T2-SO₃(NH₄)₂ 的水溶液照片如图 2D, T2-SO₃H·2H₂O 及

表 1 T2 及其衍生物在水中溶解度测试结果比较

样品	质量(g)	最小溶剂用量(mL)	溶解度(mg/mL)	溶解性	体系 pH 值
T2	0.2	2 000.0	<0.1	不溶	6~7
T2-SO ₃ H·2H ₂ O	0.2	4.0	50.0	溶解	2~4
T2-SO ₃ (NH ₄) ₂	0.2	0.2	1 000.0	易溶	7~8

T2-SO₃(NH₄)₂ 均为橙色澄清水溶液, T2 为乳白色混悬液。3 种化合物具体溶解度如表 1, 相比 T2(溶解度: <0.1 mg/mL), T2-SO₃H·2H₂O(溶解度: 50.0 mg/mL) 和 T2-SO₃(NH₄)₂(溶解度: 1 000.0 mg/mL) 的水溶性明显提高, 尤其是 T2-SO₃(NH₄)₂ 达到了易溶的范围。对各化合物溶解后的体系 pH 测定显示, T2(pH: 6~7) 及 T2-SO₃(NH₄)₂(pH: 7~8) 的 pH 均在生理 pH 范围内, 而 T2-SO₃H·2H₂O 溶解后呈强酸性环境(pH: 2~4)。

2.4 抗肿瘤活性研究 研究 T2 水溶性改造对其抗肿瘤活性的影响, 如图 4A 所示, 随着浓度的增大, T2 及 T2-SO₃(NH₄)₂ 对 HeLa 细胞增殖抑制呈现浓度依赖式增加, 20 μmol/L 时细胞存活率仅 40.0%~50.0%; 而在浓度大于 1 μmol/L 时, T2-SO₃(NH₄)₂ 对 HeLa 细胞的损伤显著强于 T2(细胞存活率降低约 5.1%~9.3%)。细胞凋亡分析如图 4B, 随着浓度的增大, T2 及 T2-SO₃(NH₄)₂ 处理 HeLa 细胞凋亡率呈现浓度依赖式增加, T2-SO₃(NH₄)₂ 诱导 HeLa 细胞总凋亡率显著高于 T2(细胞总凋亡率增加 3.08%~12.17%)。



A: T2 及 T2-SO₃(NH₄)₂ 对 HeLa 细胞增殖活性影响, * P<0.05, 与相同浓度 T2 组比较; B: T2 及 T2-SO₃(NH₄)₂ 对 HeLa 细胞凋亡的影响。

图 4 T2 及 T2-SO₃(NH₄)₂ 抗肿瘤活性比较

3 讨论

三羟基异黄酮因其独特的化学结构, 对宫颈癌细胞的抑制作用最佳。但由于其水溶性差, 难以做成注射剂, 水溶性和脂溶性差, 做成片剂在体内也难以吸收, 生物利用度不高, 严重阻碍了其抑癌作用的新药物的开发。因此, 对其进行水溶性修饰改造, 是有必要的。

T2 与浓硫酸的磺化反应属于亲电子取代反应, 反应中浓硫酸既是磺化剂又是溶剂。异黄酮骨架的 B 芳环活化, 而 A 芳环却未被磺化。其机制为在磺化反应过程中, 浓硫酸提供的

质子可以与异黄酮骨架吡喃环(C 环)的氧原子结合生成伴盐。C 环氧原子的质子化使氧原子带部分正电荷, 同时对 A 环产生吸电子效应, 使 A 环被钝化, 不发生磺化反应。从而高选择性地原料 B 环中 3 位引入磺酸基, 该基团易被高浓度氨水氨化^[5], 从而得到异黄酮衍生物 T2-SO₃(NH₄)₂。通过相应的 ESI MS、元素含量分析、结构表征分析、¹H NMR 及 ¹³C NMR 结果分析研究, 从而确证 T2 的水溶性衍生物, 即 T2-SO₃H·2H₂O 及 T2-SO₃(NH₄)₂ 的分子结构, 为进一步探索其的水溶性和生物学活性奠定了基础。由于磺酸水溶性很好, 因此 T2 B 环中引入磺酸基能显著提高化合物的水溶性。但由于磺酸基具有强酸性, 因此 T2-SO₃H·2H₂O 溶解后 pH 较低, 不适于生理 pH 环境。而氨基的引入, 可以中和磺酸基的强酸性, 因此 T2-SO₃(NH₄)₂ 兼具较高的水溶性及生物相容性, 因此具有更广的生物应用前景。

大量研究证实, 异黄酮及其衍生物通过诱导凋亡相关基因如抑癌基因 p53 及 B 淋巴细胞瘤-2 基因(B-cell lymphoma-2, BCL-2)的表达^[6-7], 调节细胞增殖与分化相关信号如 ERK1/2 和 MAPK 通路^[8-9], 改变细胞周期相关蛋白如 CDKs 蛋白激酶、细胞周期蛋白 cyclin A/B 的表达^[10-12], 从而诱导肿瘤细胞凋亡, 延长细胞周期阻滞时间, 抑制肿瘤细胞增殖。本研究也证实了较低浓度的 T2 对能诱导宫颈癌细胞发生凋亡, 从而抑制肿瘤细胞的增殖。而其水溶性衍生物 T2-SO₃(NH₄)₂ 的抗肿瘤活性显著增强, 其机制可能与 T2-SO₃(NH₄)₂ 水溶性的改善, 相同浓度进入细胞的有效成分有所增加, 因此细胞的生物利用度也相应提高有关。而化合物中-SO₃(NH₄)₂ 对细胞活性是否存在影响, 还需进一步研究。

综上所述, 本研究在 T2 的基础上, 创新性地引入磺酸氨基团, 改善了化合物的水溶性, 提高了抗宫颈癌细胞增殖的效应。对后期进一步机制研究及异黄酮抗癌新药的开发奠定了基础, 具有重要的生物应用前景。

参考文献

[1] 王临虹, 邱琇, 郑睿敏, 等. 我国宫颈癌流行病学状况及防治策略的回顾与展望[J]. 中国妇幼卫生杂志, 2010, 1(3): 146-149.

[2] 蒋葭菴, 冉昇, 吴婷婷, 等. 大豆异黄酮及其衍生物对宫颈癌细胞增殖的影响[J]. 大豆科学, 2012, 31(6): 1017-1020, 1023.

[3] 韩小龙, 王培玉, 李子一, 等. 金雀异黄酮对宫颈癌细胞增殖的影响[J]. 北京大学学报(医学版), 2015, 47(3): 551-554.

[4] Liu J, Yang ZY, Luo SL, et al. Facile method for the large-scale synthesis of 6, 7, 4'- trihydroxyisoflavone[J]. Synthetic Commun, 2014(44): 3296-3303.

[5] Zhang CP, Ni H, Tu HY, et al. Genistein-3'-sulfonic acid dehydrate[J]. Acta Crystallogr Sect E Struct Rep Online, 2009(65): 1137-1138.

(下转第 39 页)

Caspase-3 和 Bax 及促氧化应激产物 MDA 的表达,而增加凋亡蛋白 Caspase-3 和 Bcl-2,上调抗氧化应激产物 CAT,GPx 和 SOD 的表达。这显示姜黄素可通过抗炎、抗凋亡和抗氧化应激途径而减轻脑缺血再灌注损伤。但姜黄素在脑缺血再灌注损伤中抑制炎症、凋亡和氧化应激的具体机制不清。

mTOR 是一种进化上相对保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是 AKT 下游的一个重要靶点,可通过磷酸化其下游的靶蛋白,参与基因的转录和蛋白的表达,进而影响炎症、氧化应激、自噬、凋亡等生物学活动^[13]。其激活途径为细胞内外因子通过受体酪氨酸激酶激活 PI3K,活化的 PI3K 在 PDK1 的协同下磷酸化 AKT。活化的 AKT 磷酸化 TSC2,而磷酸化的 TSC2 可通过负向调节使 Rheb 从 TSC1/TSC2 复合物中解聚,从而使 Rheb 活性增强,进而激活 mTOR^[12-14]。本研究发现脑缺血再灌注损伤可增加 PI3K、p-AKT 和 mTOR 的表达,而姜黄素可进一步增加 PI3K、p-AKT 和 mTOR 的表达,这提示姜黄素可进一步增加 PI3K/AKT/mTOR 信号途径的活性,其调节为正向调节。

综上所述,姜黄素可通过进一步促进 PI3K/AKT/mTOR 信号通路激活而减轻炎症、凋亡和氧化应激,进而减轻脑缺血再灌注损伤。但是姜黄素是直接作用于 PI3K 信号分子还是通过调节其上游激酶和(或)信号分子而间接发挥作用仍不清楚,除 PI3K/AKT/mTOR 信号通路外,是否还有其他信号通路涉及姜黄素抑制炎症、凋亡和氧化应激,尚需进一步更深入的研究。

参考文献

- [1] Liu J, Li J, Yang Y, et al. Neuronal apoptosis in cerebral ischemia/reperfusion area following electrical stimulation of fastigial nucleus[J]. *Neural Regen Res*, 2014, 9(7): 727-734.
- [2] Zhang X, Yan H, Yuan Y, et al. Cerebral ischemia-reperfusion-induced autophagy protects against neuronal injury by mitochondrial clearance[J]. *Autophagy*, 2013, 9(9): 1321-1333.
- [3] Gao HJ, Liu PF, Li PW, et al. Ligustrazine monomer against cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Neural Regen Res*, 2015, 10(5): 832-840.
- [4] Gibellini L, Bianchini E, De Biasi S, et al. Natural compounds modulating mitochondrial functions [J]. *Evid*

Based Complement Alternat Med, 2015; 527209.

- [5] Fiorentini D, Zamboni L, Dalla Sega FV, et al. Polyphenols as modulators of aquaporin family in health and disease[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015; 196914.
- [6] Mahmood K, Zia KM, Zuber M, et al. Recent developments in curcumin and curcumin based polymeric materials for biomedical applications: a review[J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 81(15): 877-890.
- [7] Ghosh S, Banerjee S, Sil PC. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: a recent update[J]. *Food Chem Toxicol*, 2015(83): 111-124.
- [8] Shanmugam MK, Rane G, Kanchi MM, et al. The multifaceted role of curcumin in cancer prevention and treatment[J]. *Molecules*, 2015, 20(2): 2728-2769.
- [9] Liu L, Zhang W, Wang L, et al. Curcumin prevents cerebral ischemia reperfusion injury via increase of mitochondrial biogenesis[J]. *Neurochem Res*, 2014, 39(7): 1322-1331.
- [10] Li W, Wu M, Tang L, et al. Novel curcumin analogue 14p protects against myocardial ischemia reperfusion injury through Nrf2-activating anti-oxidative activity[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2015, 282(2): 175-183.
- [11] Fan Z, Jing H, Yao J, et al. The protective effects of curcumin on experimental acute liver lesion induced by intestinal ischemia-reperfusion through inhibiting the pathway of NF- κ B in a rat model[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014; 191624.
- [12] Wu NC, Wang JJ. Curcumin attenuates liver warm ischemia and reperfusion-induced combined restrictive and obstructive lung disease by reducing matrix metalloproteinase 9 activity[J]. *Transplant Proc*, 2014, 46(4): 1135-1138.
- [13] Bockaert J, Marin P. mTOR in brain physiology and pathologies[J]. *Physiol Rev*, 2015, 95(4): 1157-1187.
- [14] Latacz A, Russell JA, Oclon E, et al. mTOR pathway - novel modulator of astrocyte activity[J]. *Folia Biol (Kra-kow)*, 2015, 63(2): 95-105.

(收稿日期: 2016-07-18 修回日期: 2016-09-08)

(上接第 35 页)

- [6] 张淑华. 大豆苷元对宫颈癌 HeLa 细胞增殖及凋亡的影响和机制[D]. 扬州: 扬州大学, 2011.
- [7] Chen ZP, Yeung DC. Regulation of p53 expression in HeLa cells[J]. *Biochem Mol Biol Int*, 1996, 38(3): 607-616.
- [8] Yatagai C, Singu T, Maruyama M, et al. Genistein and its analogue enhanced tissue plasminogen activator activity in HeLa S3 [J]. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 2007, 36(6): 298-304.
- [9] Kim SH, Kim SH, Kim YB, et al. Genistein inhibits cell growth by modulating various mitogen-activated protein kinases and AKT in cervical cancer cells[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2009(1171): 495-500.

- [10] Lee DE, Lee KW, Jung SK, et al. 6,7,4'-trihydroxyisoflavone inhibits HCT-116 human colon cancer cell proliferation by targeting CDK1 and CDK2 [J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(4): 629-635.
- [11] Yashar CM, Spanos WJ, Taylor DD, et al. Potentiation of the radiation effect with genistein in cervical cancer cells [J]. *Gynecol Oncol*, 2005, 99(1): 199-205.
- [12] Guo JM, Kang GZ, Xiao BX, et al. Effect of daidzein on cell growth, cell cycle, and telomerase activity of human cervical cancer in vitro[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2004, 14(5): 882-888.

(收稿日期: 2016-07-15 修回日期: 2016-08-18)