

β -榄香烯体内外对人肺癌细胞株的作用及其机制

彭彤¹, 郭纪全², 王其友³, 唐旗玲¹, 杨周萍⁴, 潘雪刁⁴,
王有娣¹, 李佳虹¹, 杨晨¹, 王军业⁵, 高瑞平⁶, 臧林泉^{4*}

(1. 广东药学院 中药学院, 广州 510006; 2. 广东省人民医院, 广州 510006;
3. 中山大学 附属第三医院, 广州 510006; 4. 广东药学院 药科学院, 广州 510006;
5. 中山大学 附属肿瘤医院, 广州 510006; 6. 广东药学院 临床医学院, 广州 510006)

[摘要] 目的:系统研究 β -榄香烯体内外抗肿瘤药理学作用及其作用机制。方法:体外抗肿瘤实验采用MTT法,检测浓度12.5~200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 β -榄香烯对人肺癌细胞株SPC-A-1, A549及人正常胚胎肺成纤维细胞MRC-5的细胞增殖抑制率;抗肿瘤机制研究采用Hoechst 33258染色,观察细胞凋亡时细胞核的形态学变化,流式细胞术FITC-Annexin V/碘化丙啶(PI)双标记染色法检测细胞凋亡率。体内以裸鼠移植瘤为模型,肿瘤生长抑制率为指标,检测 β -榄香烯对荷瘤裸鼠肿瘤生长的抑制作用。结果: β -榄香烯作用48 h时SPC-A-1, A549的50%抑制浓度(IC_{50})分别为126.0, 134.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,但对人胚胎肺成纤维细胞MRC-5有促进增殖作用,表明 β -榄香烯对肺癌细胞具有选择性抑制作用。 β -榄香烯对人肺癌细胞株SPC-A-1增殖的抑制作用呈时间和浓度依赖性,干预24, 48, 72 h的 IC_{50} 值分别为549.7, 126.0, 21.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;Hoechst 33258染色后倒置荧光显微镜下观察可见 β -榄香烯孵育后出现凋亡细胞核固缩,浓染,着色深而呈亮蓝色;流式细胞术检测结果显示, β -榄香烯可诱导SPC-A-1细胞出现不同程度的凋亡。给药剂量为45, 135 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 β -榄香烯在体内对裸鼠移植性人肺癌SPC-A-1细胞的增殖抑制率分别为34.01%, 49.57%。结论: β -榄香烯具有选择性抗肿瘤作用,提示其在发挥抗肿瘤作用的同时其毒副作用小,而且该作用可能机制是通过诱导肺癌细胞凋亡实现的。

[关键词] β -榄香烯; 抗肿瘤; 细胞增殖; 凋亡

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)09-0160-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015090160

Effect and Its Mechanism of β -elemene on Human Lung Cancer SPC-A-1 Cell Lines *in Vivo* and *in Vitro*

PENG Tong¹, GUO Ji-quan², WANG Qi-you³, TANG Qi-ling¹, YANG Zhou-ping⁴, PAN Xue-diao⁴,
WANG You-di¹, LI Jia-hong¹, YANG Chen¹, WANG Jun-ye⁵, GAO Rui-ping⁶, ZANG Lin-quan^{4*}

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;
2. Guangdong General Hospital, Guangzhou 510006, China; 3. Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University,
Guangzhou 510006, China; 4. College of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006,
China; 5. Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510006, China; 6. School of Clinical Medicine of
Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect and mechanism of beta-elemene *in vivo* and *in vitro*. **Method:** The *in vitro* effects of beta-elemene (12.5-200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) on human lung cancer SPC-A-1 cell line, A549 cells and human diploid fibroblasts MRC-5 cell proliferation were observed by MTT method; the morphological changes of apoptotic cells were detected by Hoechst 33258; the cells stained by Annexin V and propidium iodide (PI) were observed by flow cytometry for apoptosis, cell morphological changes were observed by electron microscope. Its *in vivo* anti-tumor effect on transplanted human SPC-A-1 tumor cells in nude mice was detected by conventional methods. **Result:** Fifty percent inhibition concentration (IC_{50}) of the above-mentioned 2

[收稿日期] 20140916(001)

[基金项目] 科技部新药重大专项(2011zx09102-001-31);国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2012AA020304);广东药学院中青年骨干教师专项课题

[第一作者] 彭彤,在读硕士,从事药理毒理研究,E-mail:285892459@qq.com

[通讯作者] *臧林泉,教授,从事药理学研究,E-mail:zanglq@163.com

kinds of lung cancer cells by beta-elemene was 126.0, 134.1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, but the effect on human diploid fibroblasts MRC-5 cells was promoting growth. The inhibition effects of beta-elemene on human lung cancer cell line SPC-A-1 depended on the duration and concentrations. IC_{50} at the 24, 48, 72 h was 549.7, 126.0, 21.2 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. Apoptotic body in apoptotic cells could be observed by Hoechst 33258 dyeing. Flow cytometry showed that beta-elemene could induce SPC-A-1 cell apoptosis distinctly at different levels. The growth inhibition rates of beta-elemene (45, 135 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) on transplanted human lung cancer cell line SPC-A-1 cells *in vivo* were 34.01%, 49.57%. **Conclusion:** Beta-elemene has an antitumor effect between 12.5-200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The mechanism of anti-tumor effect is possibly achieved by inducing apoptosis of tumor cells.

[**Key words**] beta-elemene; anti-tumor; cell proliferation; apoptosis

肺癌的发病率和死亡率都位居恶性肿瘤榜首,与此同时,肺癌患者生理上常伴有剧烈疼痛,严重影响生活质量。近 50 年来,肺癌的发病率仍呈现出持续增长的趋势,随着工业发展,大气污染的愈发严重,肺癌发病情况出现低龄化,女性发病率增高明显等特点^[1]。目前,肺癌治疗多以化疗为主,但化疗药物在杀死癌细胞的同时,也影响正常组织细胞。近年来,国内外学者也致力于中草药抗肺癌活性成分的研究^[2],该类成分具有毒副作用小的特点。

β -榄香烯(beta-elemene)是国家二类非细胞毒性抗肿瘤药物^[3-5],是从中药温郁金中提取出来的倍半萜烯类有效活性单体,在临床上已经用于癌症的治疗^[6-8]。国内外实验研究结果表明^[9-11], β -榄香烯对喉癌、肝癌、乳腺癌等均有抗癌作用,但对抗人非小细胞肺癌的研究较少,本实验通过体外各项实验与裸鼠腋下移植瘤模型对 β -榄香烯的抗肺癌作用进行研究。

1 材料

1.1 细胞株 人非小细胞肺癌细胞株 SPC-A-1, A549, MRC-5, 购自南京凯基科技发展有限公司,细胞株均符合 ADCC 要求。

1.2 动物 健康 BALB/c-nu 裸鼠,雄雌各半,3 周龄左右,体重 18~22 g,购自广东省实验动物中心,SPF 级,合格证号 SCXK(粤)2013-002。动物饲养在 SPF 级实验动物室中的独立通风系统(IVC)设施。群养,自由饮水、进食,实验室温度为 20~25 $^{\circ}\text{C}$,湿度为 40%~70%。

1.3 试剂 β -榄香烯(纯度为 $\geq 96.0\%$,上海高朗化工科技有限公司,批号 L00058-140101),0.25% 胰蛋白酶(批号 1535318),胎牛血清(批号 51R5698D),RPMI 1640 培养基(批号 8114156)均为美国 Gibco 公司,Hoechst 33258 试剂(批号 20140505),Annexin V-FITC/碘化丙啶(PI)细胞凋亡检测试剂盒(批号 20140604),均为南京凯基生物

科技发展有限公司,噻唑蓝(MTT,批号 4326020250,北京鼎国生物技术有限责任公司),0.9% 生理盐水(贵州天地药业有限责任公司,批号 A13090303),二甲基亚砷(广州翔博生物科技有限公司,批号 0709a14)。

1.4 仪器 3111 型 CO_2 恒温细胞培养箱,CR3i 型冷冻型多功能离心机(美国 Thermo 公司),SW-CJ-1FD 型洁净工作台(洁净度 ISO5,苏州安泰空气技术有限公司),680 型酶标仪(美国 BIO-RAD 公司),090-135002 型倒置荧光显微镜(德国 Zeiss 公司),贝克曼 EPICS XL 型流式细胞仪(美国贝克曼库尔特有限公司),IVC 型独立送回风净化笼具(苏州市苏杭实验动物设备厂),AUY120 型电子天平(日本岛津公司)。

2 方法

2.1 体外对多种肺癌细胞增殖的抑制作用 按常规方法培养各种细胞^[12],上述 3 种细胞均用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养、传代,放置于 37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 的培养箱中恒温培养。参考文献中 MTT 实验方法^[13],对数生长期的上述 3 种细胞,以细胞密度为 4×10^3 个/孔,接种于 96 孔板中,于 5% CO_2 ,37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养过夜。细胞贴壁后,每孔加入 100 μL 不同浓度的 β -榄香烯(6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),其中,对照组每孔加入 100 μL 不含 β -榄香烯的培养基,空白组不加细胞,其他平行操作,每个浓度设置 3 个复孔。药物作用 48 h 后,每孔加入 20 μL MTT(5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$),继续培养 4 h,弃上层培养基,每孔加入 100 μL 二甲基亚砷(DMSO)置于摇床震荡 10 min,充分溶解结晶后,于 570 nm 处测定每孔吸光度(A),上述实验重复 3 次。实验数据进行统计学分析,根据以下公式计算细胞增殖抑制率(IR)。

$$\text{IR} = (\text{对照孔 } A - \text{加药孔 } A) / (\text{对照孔 } A - \text{空白组 } A) \times 100\%$$

根据实验结果,发现 β -榄香烯对人肺癌细胞株 SPC-A-1 的抑制作用最强,故选取其进行进一步实验,探讨药物作用时间对抑制率的影响,将药物作用时间分别设置为 24, 48, 72 h, 其余按照上述实验方法操作,计算细胞增殖抑制率。

2.2 体外对细胞形态学的影响 取对数生长期细胞株,根据细胞计数,将细胞密度调整为 1×10^5 个/mL,以 1 mL 每孔接种于 6 孔培养板中,以 5% CO_2 , 37 $^\circ\text{C}$ 培养过夜。细胞贴壁后,各孔分别加入 1 mL 不同浓度的 β -榄香烯 (12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),继续培养 48 h 后,弃去上层培养基并用 PBS 充分洗涤,加入 4% 的多聚甲醛溶液,固定 30 min,弃上清并用 PBS 充分洗去固定液。每孔加入 1 mL Hoechst33258 染色液 (5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$),室温避光染色 30 min 后, PBS 充分洗去染色液后,超净台中避光风干,倒置荧光显微镜观察细胞形态,并随机拍照。

2.3 体外对细胞凋亡的影响 取对数生长期细胞株,根据细胞计数,将细胞密度调整为 1×10^5 个/mL,以 3 mL 每皿接种于 35 mm^2 培养皿中,以 5% CO_2 , 37 $^\circ\text{C}$ 培养过夜。细胞贴壁后,各皿分别加入 3 mL 不同浓度的 β -榄香烯 (12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),继续培养 48 h 后,收集悬浮细胞后再消化收集贴壁细胞,离心 (2 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 5 min),弃上清,用 PBS 洗涤 2 次。依次加入 500 μL Binding buffer 并且悬浮细胞, 5 μL 的 Annexin V-FITC 混匀后, 5 μL 的 PI,充分混匀后,室温避光反应 5 min,于贝克曼 EPICS XL 型流式细胞仪进样检测,并以仪器所配软件进行数据处理,计算细胞凋亡率,并进行统计学分析。

2.4 体内抗肺癌的作用 用无血清培养基调整 SPC-A-1 细胞悬液密度 (1×10^8 个/mL),按 0.2 mL 每只皮下注射至裸鼠右侧腋下。接种后 10 d,可触

摸到大小、形状均一的肿瘤,体积为 (0.5 \times 0.5 \times 0.5) mm^3 。随机将裸鼠分为 4 组,每组 8 只,雌雄各半,分别为模型组, β -榄香烯低,中,高剂量组 (15, 45, 135 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)。采用腹腔给药方式,连续给药 14 d,期间隔天用游标卡尺测定肿瘤长宽,按以下公式计算肿瘤体积 (tumor volume, TV): $\text{TV} = 1/2 \times a \times b^2$ (其中 a, b 分别表示肿瘤的长和宽)。于第 15 天处死裸鼠,称重后解剖,取各脏器及肿瘤并称重、记录,根据公式计算肿瘤抑制率。

$$\text{肿瘤抑制率} = (1 - \text{给药组平均瘤质量} / \text{模型组平均瘤质量}) \times 100\%$$

2.5 统计学方法 所有计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。数据均采用 SPSS 11.0 统计学软件系统进行单因素方差分析,组间比较 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对多种肺癌细胞的生长抑制作用 不同浓度的 β -榄香烯 (12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 分别作用于 3 种肺癌细胞 48 h 后,细胞的生长均受到不同程度的抑制,这与细胞种类和药物浓度有一定关系,但作用于人胚胎肺成纤维细胞 MRC-5 后未出现抑制作用,反而出现了一定的促进作用, β -榄香烯对 SPC-A-1 细胞株的增殖抑制率最高;不同浓度的 β -榄香烯作用于 SPC-A-1 细胞 24, 48, 72 h 后,细胞的生长也受到不同程度的抑制,其抑制作用呈时间和浓度依赖性,与对照组相比,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),结果见表 1, 2。采用 SPSS 11.0 软件进行统计分析后, β -榄香烯作用 48 h, SPC-A-1, A549 的 50% 抑制浓度 (IC_{50}) 分别为: 126.0, 134.1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。 β -榄香烯对人肺癌细胞株 SPC-A-1 生长的抑制作用呈时间-浓度依赖性,干预 24, 48, 72 h 的 IC_{50} 分别为 549.7, 126.0, 21.2 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 1 体外 β -榄香烯作用 48 h 后对多种细胞生长抑制的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 The impact on multiple kinds of cell growth inhibition of *in vitro* β -elemene' after 48 hours ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	细胞生长抑制/%		
		SPC-A-1	A549	MRC-5
对照组	-	0	0	0
β -榄香烯	12.5	9.87 \pm 0.74	8.39 \pm 0.19	-2.19 \pm 0.04
	25.0	17.93 \pm 0.75 ¹⁾	10.53 \pm 0.78	-17.51 \pm 0.14 ¹⁾
	50.0	32.81 \pm 1.01 ¹⁾	24.42 \pm 0.48 ¹⁾	-20.19 \pm 1.12 ¹⁾
	100.0	45.70 \pm 0.81 ¹⁾	40.50 \pm 0.33 ¹⁾	-24.89 \pm 0.45 ¹⁾
	200.0	62.20 \pm 0.26 ¹⁾	58.74 \pm 0.33 ¹⁾	-40.00 \pm 0.86 ¹⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

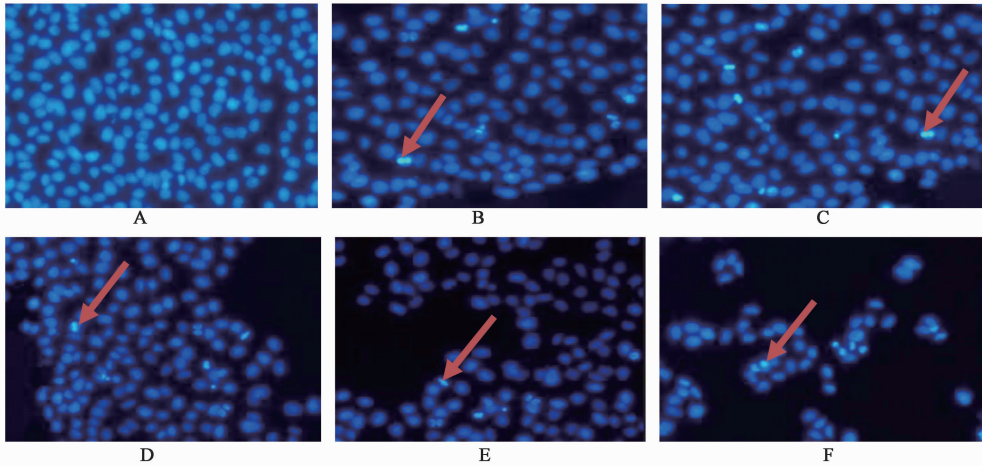
表 2 体外 β -榄香烯对人非小细胞肺癌 SPCA-A-1 细胞生长抑制的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Impact on non-small cell lung cancer SPCA-A-1 cell growth inhibition of β -elemene *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	细胞生长抑制/%		
		24 h	48 h	72 h
对照	-	0	0	0
β -榄香烯	12.5	1.69 \pm 0.66	9.87 \pm 0.74	26.45 \pm 0.35 ¹⁾
	25.0	13.72 \pm 0.81	17.93 \pm 0.75 ¹⁾	60.07 \pm 0.76 ¹⁾
	50.0	17.19 \pm 0.99 ¹⁾	32.81 \pm 1.01 ¹⁾	81.21 \pm 0.89 ¹⁾
	100.0	21.61 \pm 0.03 ¹⁾	45.70 \pm 0.81 ¹⁾	90.34 \pm 0.54 ¹⁾
	200.0	35.90 \pm 0.76 ¹⁾	62.20 \pm 0.26 ¹⁾	91.19 \pm 0.11 ¹⁾

3.2 SPC-A-1 细胞荧光染色 Hoechst33258 染色后可见, 对照组细胞形态一致, 核内呈淡蓝色荧光, 亮度均匀。不同浓度的 β -榄香烯作用后可见出

现细胞凋亡形态学改变, 凋亡细胞核固缩, 细胞核碎裂成块状着色较深, 并且呈亮蓝色, 生成凋亡小体, 结果见图 1。



A, B, C, D, E, F. β -榄香烯浓度分别为 0, 12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

图 1 不同浓度 β -榄香烯作用于 SPC-A-1 细胞 48 h 后凋亡情况 (Hoechst33258 荧光, $\times 200$)

Fig. 1 Apoptosis results after 48 h impacts on SPC-A-1 cells of β -elemene at different concentration (Hoechst3358 dying, $\times 200$)

3.3 细胞凋亡率的检测 通过分析流式细胞术的结果显示, 不同浓度的 β -榄香烯 (12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 作用后, 晚期凋亡和坏死的细胞均明显多于对照组, 且随 β -榄香烯的浓度增大而增加, 呈现浓度依赖性。不同浓度的 β -榄香烯作用 SPC-A-1 细胞 48 h 后的总凋亡率分别为 12.3%, 16.3%, 18.7%, 21.1%, 62.3%。该结果与 MTT 结果基本一致, 显示 β -榄香烯对 SPC-A-1 细胞生长的抑制作用与诱导其凋亡有关。

3.4 对裸鼠移植瘤生长的抑制作用 以瘤重为指标计算肿瘤抑制率, 结果显示 β -榄香烯高、中、低剂量组的抑瘤率分别为 46.22%, 38.87%, 28.17%, 抑瘤效果与 β -榄香烯的剂量呈一定量-效关系 (表 3)。给药期间, 各实验组动物均未出现死亡情况, 体重、各脏器质量与模型组相比也无显著性差异。

表 3 β -榄香烯对荷人肺癌细胞株 SPC-A-1 裸鼠肿瘤质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Impact on tumor's weight of nude mouse bearing human lung cancer cell line SPC-A-1 of β -elemene ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	肿瘤质量/g	抑瘤率/%
模型	-	1.047 \pm 0.361	-
β -榄香烯	135	0.563 \pm 0.204 ¹⁾	46.22
	45	0.640 \pm 0.202 ¹⁾	38.87
	15	0.752 \pm 0.154 ¹⁾	28.17

4 讨论

β -榄香烯是从植物温郁金的根茎中提取出来的抗癌有效成分, 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$, 相对分子质量为 204^[14], 其抗肿瘤作用明显, 具抗癌谱广, 疗效确切, 毒副作用轻微等优点。

本实验中, 在体外实验部分中, β -榄香烯对肺癌

细胞株 SPC-A-1, A549 的增殖有抑制作用,且药物作用效应与药物浓度,作用时间呈正相关作用。有文献报道称^[15], β -榄香烯能阻滞人肺腺癌细胞株 A549 从 G₀/G₁ 期向 S 期转换,通过减少细胞的有丝分裂,能够有效抑制肿瘤细胞的增殖。由于 β -榄香烯对不同细胞的敏感性不同,也考虑到其对不同细胞的阻滞点不同,故对人肺癌细胞 SPC-A-1 的阻滞点还有待进一步研究。另外,选用的 FITC-Annexin V/PI 双染色法流式细胞术是目前观察凋亡的理想方法,特别适用于凋亡细胞的检测。流式细胞术检测结果表明 β -榄香烯药物作用 SPC-A1 细胞后,凋亡细胞出现皱缩,其药物作用 48 h 的细胞凋亡率随药物浓度增大而增大,具有一定的浓度依赖性。与 MTT 实验结果相符,Annexin V/PI 双染法证实了 β -榄香烯可以诱导肿瘤细胞凋亡,从而抑制细胞增殖,发挥抗肿瘤作用。

β -榄香烯体外抗肺癌实验结果显示出其在细胞水平实验方面,并未体现出极为有效的抗肺癌作用。本实验中,在体内实验部分中, β -榄香烯作用于裸鼠移植瘤模型,可抑制肿瘤生长,给药周期为 14 d,在给药期间,未见药物组出现体重减轻,给药结束后解剖,未见药物组各脏器出现萎缩、坏死等现象,其中 β -榄香烯组 (135 mg·kg⁻¹),抑瘤率达到 46.22%。 β -榄香烯显示出较为安全的抗肿瘤作用,考虑应是其具有诱导肺癌细胞凋亡的同时,也选择性阻滞了肺癌细胞周期,减少了其有丝分裂。

综上所述, β -榄香烯在体内、外均有抗肺癌的药理作用,且对正常细胞无抑制作用。 β -榄香烯的抗肿瘤作用机制,可能是通过诱导肺癌细胞凋亡,阻滞细胞周期来实现的,但进一步更为确切的作用机制还有待探讨。

[参考文献]

[1] 李为民,刘丹,卢铀. 肺癌诊治水平的进展与提高[J]. 四川大学学报:医学版,2014,45(2):289-292.
[2] Jeong S Koh W, Kim B, Kim S, et al. Are there new therapeutic options for treating lung cancer based on

herbal medicines and their metabolites? [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 138(3):652-655.
[3] 王茜莎,杨威,李明,等. δ -榄香烯体内外抗肿瘤作用研究[J]. 中国药房,2009,20(9):650-653.
[4] 陆新升,陈仙,杨罗艳. β -榄香烯抗肿瘤机制研究进展[J]. 社区医学杂志,2010,8(7):40-43.
[5] Xian Zhang, Yang Zhang, Yinghua Li. β -elemene decreases cell invasion by upregulating E-cadherin expression in MCF-7 human breast cancer cells [J]. Oncol Rep, 2013, 30(2):745-748.
[6] Jieli Zhang, Yuqiu Mao, Li Hou, et al. The effect of beta-elemene on alpha-tubulin polymerization in human hepatoma HepG2 cells [J]. CJCR, 2013, 25(6):770-776.
[7] 曾建红,莫炫永,戴平,等. 广西莪术挥发油抗肿瘤作用的谱效关系研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(13):91-94.
[8] 袁静,顾振纶,周文轩. 榄香烯——一种新型的抗肿瘤药[J]. 中国野生植物资源,1997,16(3):8-11.
[9] Li Q Q, Wang G D, Huang F R, et al. Antineoplastic effect of beta-elemene on prostate cancer cells and other types of solid tumour cells [J]. J Pharm Pharmacol, 2010, 62(8):1018-1021.
[10] Yao Y Q, Ding X, Jia Y C, et al. Anti-tumor effect of beta-elemene in glioblastoma cells depends on p38 MAPK activation [J]. Cancer Lett, 2008, 64(1):127-130.
[11] 陈美婉,钟章锋,王胜鹏,等. β -榄香烯抗癌活性及其新型给药系统的研究进展[J]. 中国新药杂志,2012,21(12):1358-1361.
[12] 杨周萍,臧林泉,黄婕,等. 芹菜素抗肺癌 SPC-A1 细胞增殖和诱导凋亡作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,1(1):115-118.
[13] 魏文青,赵满仓,刘晶,等. MTT 肿瘤药物敏感试验的方法学研究[J]. 临床肿瘤学杂志,2008,13(10):871-874.
[14] 苏志国,刘国强. 榄香烯抗恶性骨肿瘤研究进展[J]. 临床合理用药,2014,9(7):174-175.
[15] 王宏虹,刘华钢,刘丽敏. β -榄香烯抗肿瘤作用机制研究概况[J]. 药物评价研究,2009,32(2):140-143.

[责任编辑 聂淑琴]