

# 青葙苷 A 诱导肝癌 HepG2 细胞凋亡及相关机制研究

程齐来<sup>1,2</sup>, 李洪亮<sup>1</sup>, 黄志勤<sup>1\*</sup>

(1. 赣南医学院药学院, 江西 赣州 341000; 2. 湖南中医药大学, 长沙 410208)

**[摘要]** 目的: 研究中药青葙子中的齐墩果烷型三萜青葙苷 A (celosin A, CA) 对人肝癌 HepG2 细胞凋亡的诱导作用及其相关机制。方法: 采用 E-MEM 培养基建立人肝癌 HepG2 细胞体外培养体系, 采用细胞计数试剂盒 (CCK-8) 检测细胞活力, 噻唑蓝 (MTT) 法测定乳酸脱氢酶 (LDH), 免疫比色法检测细胞增殖情况, 用 4', 6-二脒基-2-苯基吲哚 (4, 6-2 amidine base-2-phenyl indole, DAPI) 荧光染色观察细胞凋亡形态学变化, Western blot 检测半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 (Caspase)-3/7 和核转录因子 kappa B (NF- $\kappa$ B) 蛋白表达水平。结果: 用 0.22-3.5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CA 处理过的 HepG2 细胞, LDH 释放增加, 呈剂量和时间依赖性。在 CCK-8 和 5-溴脱氧尿嘧啶核苷 (BrdU) 测定过程中, CA 比标准药物抗 HepG2 活性更强, 随浓度和作用时间的增加, 细胞的活性不断下降, 对 HepG2 增殖的抑制作用明显。DAPI 染色观察用 CA 处理过的 HepG2 细胞浓缩明显, 细胞核分散, 染色质凝聚。Western blot 结果显示用 CA 处理过的 HepG2 细胞 Caspase-3/7 的活性显著增加, NF- $\kappa$ B 蛋白表达水平下降。结论: Celosin A 具有诱导 HepG2 细胞凋亡的作用, 其机制可能与激活 Caspase-3/7 和抑制 NF- $\kappa$ B 蛋白表达有关。

**[关键词]** 青葙子; 青葙苷 A; HepG2 细胞; 凋亡; 核因子- $\kappa$ B

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0200-05

**[doi]** 10.11653/syfy2013230200

## Study on Apoptosis of HepG2 Cell Induced by Celosin A from Celosia Semen and its Mechanism

CHENG Qi-lai<sup>1,2</sup>, LI Hong-liang<sup>1</sup>, HUANG Zhi-qin<sup>1\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Gannan Medical University, Ganzhou 341000, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the apoptosis in human hepatic cancer HepG2 cell strain induced by celosin A (CA) from Celosia Semen and its mechanism. **Method:** The viability of HepG2 cells was detected by the method cell counting kit-8 (CCK-8). The activity of lactic dehydrogenase (LDH) was measured by thiazolyl blue (MTT) assay. Immune colorimetry was used to test the proliferation of HepG2 cells. The change of morphioigy of apoptosis HepG2 cells was observed by 4, 6-2 amidine base-2-phenyl indole (DAPI) fluorescence staining. Western blot was used to detect the expressions of Caspase-3/7 and nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) proteins of HepG2 cells. **Result:** After HepG2 cells were treated by CA of different concentration, the leakage of LDH increased in a dosage and time dependent manner. In the process of determination of BrdU and CCK-8, the inhibitory effect of CA to HepG2 cell was stronger than standard drugs, and showed clear inhibitory effect on the HepG2 cell proliferation with the increase of concentration and the acting time. By using the DAPI fluorescence dyes, the HepG2 cell cytoplasm concentrating, nucleolus dispersion and chromatin agglomeration were observed. The Western blot analysis showed that the expression of Caspase-3/7 was significantly enhanced and the expression of NF- $\kappa$ B proteins was down-regulated. **Conclusion:** Celosin A could induce the apoptosis of HepG2 cells and its mechanism related to activating the activity of Caspase-3/7 and down-regulating the expression of NF- $\kappa$ B protein.

**[Key words]** Celosia Semen; celosin A; HepG2 cells; apoptosis; NF- $\kappa$ B

**[收稿日期]** 20130727(004)

**[基金项目]** 江西省自然科学基金项目(2012ZBAB205006); 江西省教育厅科技计划项目(GJJ13676)

**[通讯作者]** \* 黄志勤, 硕士, 副教授, 从事天然药物学研究, E-mail: cql\_57@126.com

青葙子 (*Celosia Semen*) 为苋科青葙 (*Celosia argentea* L.) 的干燥成熟的种子<sup>[1]</sup>, 始载于《神农本草经》, 是传统的清肝明目药物。青葙子味苦、性微寒, 归肝经, 具有清肝、明目、退翳之功效, 用于肝热目赤、眼生翳膜、视物昏花、肝火眩晕。现代药理学研究表明, 青葙子具有保肝、抗肿瘤、降血糖、降血压等作用<sup>[2-4]</sup>, 对脂肪肝等亦具有很好的防治作用。青葙子资源在我国分布极广, 在江西赣南地区资源非常丰富, 其主要化学成分有脂肪酸类、氨基酸类、三萜苷类、三萜酸类等<sup>[2]</sup>。本课题组通过前期的研究, 已从青葙子中分离鉴定出多个五环三萜苷类化合物, 其中的青葙苷 A (celosin A, CA), 属于齐墩果烷型三萜, 而现代研究表明一些三萜和三萜皂苷特别是具有羧基的该类化合物具有抗肿瘤活性<sup>[5]</sup>。本实验观察 CA 对人肝癌 HepG2 细胞凋亡的诱导作用以及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 (Caspase)-3/7、核因子 (NF)- $\kappa$ B 蛋白表达水平的影响, 旨在为中药青葙子的深入开发与利用研究提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 药品和试剂** CA 对照品 (含量 > 96%, HPLC 法) 自制; 实验前用水溶解; E-MEM 培养基 (批号 20120412)、DMSO (批号 20120308213)、细胞计数试剂盒 (CCK-8, 批号 20120824)、噻唑蓝 (MTT, 批号 09064523)、乳酸脱氢酶 (LDH) 试剂盒 (批号 20120925)、Triton X-100 培养液 (批号 20120915)、4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (DAPI, 批号 20120308)、5-溴脱氧尿嘧啶核苷 (BrdU 批号 20120121) 均为 Sigma 公司产品; Apo-ONE<sup>®</sup> Homogeneous 均质蛋白酶-3/7 检测试剂盒 (批号 20120522)、NF- $\kappa$ B (p65) 转录因子分析试剂盒 (批号 20120901) 购自北京普洛麦格生物公司。

**1.2 细胞株** 肝癌 HepG2 细胞株由赣南医学院科研中心提供。

**1.3 仪器** CO<sub>2</sub> 培养箱 (德国 Heraeus 公司), 354 型酶标仪 (美国 Thermo 公司), CK40 荧光倒置显微镜 (日本 Olympus BX70 公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞培养** 细胞用含 2 mmol·L<sup>-1</sup> L-谷氨酰胺、10% 胎牛血清、100 U·mL<sup>-1</sup> 的青霉素和链霉素 100 mg·L<sup>-1</sup> 的 E-MEM 培养基培养, 置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub>、95% 饱和湿度的恒温密闭培养箱中进行常规培养。每日观察细胞生长情况, 2~3 d 传代 1 次。所有实验均选用对数生长期的细胞, 并且用来溶解样品的二甲基亚砜 (DMSO) 的最终溶度均不超

过 0.1%。

**2.2 细胞活力检测 (CCK-8 检测)** 细胞活力采用细胞计数试剂盒 CCK-8 检测。CCK-8 一种基于 WST-8 的检测细胞增殖和细胞毒性的方法。WST-8 是一种类似于 MTT 的化合物, 在电子耦合试剂存在的情况下, 可以被线粒体内的一些脱氢酶还原生成橙黄色的 formazan。细胞增殖越多越快, 则颜色越深。用不同浓度 (0.22 ~ 3.5 μmol·L<sup>-1</sup>) CA 处理过的 HepG2 细胞 (2 × 10<sup>3</sup> 个细胞/孔) 在 96 孔板上培养 24, 48 h。二甲基亚砜作为对照溶剂。每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 96 孔板持续的在 37 °C 中培养 4 h, 用酶标仪在 450 nm 波长测量每孔的吸光度 (A)。HepG2 细胞株活性用  $A_{\text{处理组}} / A_{\text{对照组}} \times 100\%$  表示。

**2.3 LDH 测定** LDH 用来作为坏死细胞指数。在培养液中的活性代表 LDH 从培养细胞释放程度。LDH 活性按照 Cytotoxicity Detection Kit<sup>PLUS</sup> (LDH) 试剂盒说明进行测定。每 100 μL 含 5 × 10<sup>3</sup> 个细胞的 E-MEM 置于 37 °C 培养 24 h, 一式 4 份。然后用添加了的 1% 的 FBS 和不同浓度 CA 的培养液持续培养 24, 48 h。每孔加 LDH 试剂和催化剂 (1: 45) 50 μL, 在室温下培养 30 min, 反应通过添加 50 μL 的停止液来停止, 在波长 490 nm 处采用四唑盐比色法 (MTT) 测定 LDH。Triton X-100 培养液作为阳性对照。结果用 LDH 释放率表示。

**2.4 细胞增殖测定** 采用免疫比色法测定在 DNA 合成过程中掺入的 BrdU 检测细胞增殖情况, 按照制造商的说明进行测定。每孔含 1 × 10<sup>4</sup> HepG2 细胞与 CA 的 96 孔板培养 24, 48 h, 然后添加 BrdU (终浓度 100 μmol·L<sup>-1</sup>) 进一步培养 2 h, 加入 anti-BrdU-POD 工作液, 室温下细胞固定培养 2 h。在波长 490 nm 处检测免疫复合物。其吸光度值直接与 DNA 中的掺入的 BrdU 数目相关, 它代表增殖细胞的数量。

**2.5 细胞凋亡检测** 应用 DAPI 荧光染色观察细胞凋亡形态学变化。用 8 腔室培养玻片组培养 HepG2 细胞 (5 × 10<sup>3</sup>/腔) 细胞用 CA 处理 24, 48 h。然后细胞用 PBS 洗 2 次, -20 °C 甲醇固定 30 min, 去除甲醇后, -20 °C 丙酮固定 1 min, 然后风干。固定的细胞用 1 mg·L<sup>-1</sup> DAPI 在黑暗室温条件下染色 30 min。PBS 再洗 2 次, 玻片上使用 SlowFade 抗荧光淬灭试剂。细胞在荧光显微镜下观察。细胞凋亡通过细胞核固缩碎裂来鉴定。对于每组实验, 每个样品 6 个随机视野的细胞核被放大 600 倍后检测。

**2.6 半胱氨酸蛋白酶-3/7 (Caspase-3/7) 的活性测**

定 Apo-ONE<sup>®</sup> Homogeneous 均质蛋白酶-3/7 检测试剂盒(北京普洛麦格生物公司)用于测量蛋白酶-3/7 活性。在 E-MEM 中培养的 HepG2 细胞接种在黑色 96 孔板上( $1 \times 10^4$ /孔)。为了确保附着力,细胞置于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 空气中过夜培养。预培养后,细胞分别用 3 种不同浓度的 CA 或者  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的依托泊苷处理 3 h。依托泊苷被用来作为细胞凋亡触发剂。每孔加 100  $\mu\text{L}$  的 APO-ONE<sup>®</sup> 试剂,然后在室温下培养,以  $350 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  振荡 40 min。荧光的测量使用 CytoFluor Series 4000 荧光板阅读器(Applied Biosystems, USA),采用 485 nm 激发滤光片/530 nm 发射滤光片。与细胞培养和检测试剂(空白实验)有关的背景荧光从实验数据中减去。以蛋白酶-3/7 的活性作为实验目标重复测定 3 次。

**2.7 NF- $\kappa$ B p65 的转录因子检测** 通过测定 HepG2 细胞核提取物 NF- $\kappa$ B p65 与 DNA 结合活性来衡量 NF- $\kappa$ B 的激活水平。检测采用 NF- $\kappa$ B(p65) 转录因子分析试剂盒,购自北京普洛麦格生物公司。核提取物使用 Nuclear Extraction kit 试剂盒分离。核提取物在涂有 NF- $\kappa$ B 共识结合位点(5'-GGGACTTTC-3')的寡核苷酸的 96 孔板上(每孔 10  $\mu\text{g}$  蛋白)培养。核提取物中激活的 NF- $\kappa$ B 易于结合该核苷酸。只有当 NF- $\kappa$ B 绑定到其目标 DNA,才能获得针对 p65 上抗原的抗体。在加一抗、二抗培养后,辣根过氧化物酶提供计量颜色信息,反映了在波长 450 nm 处用酶标仪测得的 NF- $\kappa$ B 的量。其活性用 HepG2 细胞中每 1  $\mu\text{g}$  核蛋白吸光度(A)表示。

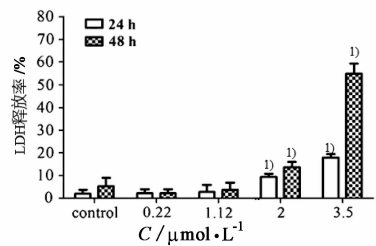
**2.8 统计分析** 结果用  $\bar{x} \pm s$  来表示。所有数据均来自至少 3 个独立相同模型的实验。数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析,随后进行 Dunnett 多重比较分析。 $P < 0.05$  为有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 细胞毒性 LDH 释放和 CCK-8 细胞活性分析

**3.1.1 LDH 释放** 4 种不同溶度的 CA 对 HepG2 细胞的细胞毒性如图 1。结果表明,2, 3.5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 CA 分别处理 24 h 和 48 h 后,LDH 释放增加,特别是处理 24 h 后,相对于对照组在 2, 3.5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  显著增加。比较 3.5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  试药处理 HepG2 细胞 24 h 和 48 h 后结果发现,CA 作用后,LDH 释放率从 19.6% 增加到 58.5%。总之,化合物对细胞的毒性呈现浓度和时间依赖性。

**3.1.2 CCK-8 细胞活性分析** 不同浓度(0.22 ~



注:与对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ;

图 1 CA 对 HepG2 细胞 LDH 释放的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

3.5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的药物作用后, HepG2 细胞的活性测定结果见图 2 中。随着浓度和作用时间的不断增加,细胞的活性不断下降。CA 在相同浓度 3.5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理 24 h 和 48 h 后, HepG2 细胞活性分别从 24.5% 下降至 12.7%。

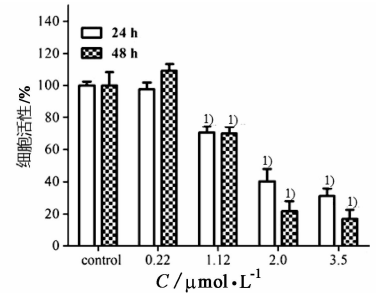


图 2 CA 对 HepG2 细胞活性的影响 (CCK-8 活性分析)( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

**3.2 BrdU 测定** 药物对 HepG2 增殖的抑制作用明显,呈剂量和时间依赖性(图 3)。不同浓度度(0.22 ~ 3.5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) CA 作用于 HepG2 细胞 24 h 后,细胞增殖率分别从 108.5% 下降到 20.2%。实验结果还表明,CA 作用 48 h 后对 HepG2 细胞增殖的影响呈相同作用趋势。

**3.3 不同实验 IC<sub>50</sub> 值的比较** 不同试药在 50% 抑制浓度的 IC<sub>50</sub> 值如表 1 所示。在表 1 中 IC<sub>50</sub> 值所示的是 CA,熊果酸(oleanolic acid, OA)和依托泊苷作用 48h 后的实验的结果。很明显,在上述 3 种基于细胞水平的试验中,试药 CA 抗癌潜力相对较大,发挥最强抗 HepG2 活性,IC<sub>50</sub> 分别为 4.25  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (LDH 测定), 2.14  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (CCK-8 测定), 1.82  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (BrdU 测定)。对于细胞毒性的比较,同时测定了典型的抗癌药物依托泊苷以及试药结构类似物 OA 的 IC<sub>50</sub> 值(见表 1)。结果表明,在 CCK-8 测定和 BrdU 测定过程中,IA 比标准药物抗 HepG2 活性更强(见表 1)。

**3.4 形态学变化** 未经处理的 HepG2 细胞形态在图 4 作为对照。未经处理的 HepG2 细胞表现出典型的生长模式和正常形态,而用 CA 处理过的

表 1 不同细胞水平测定方法下 CA 与对照药的细胞毒性

试药	IC <sub>50</sub> /μmol·L <sup>-1</sup>		
	LDH	CCK-8	BrdU
etoposide	11.98	10.65	5.34
OA	7.53	6.35	3.09
CA	4.25	2.14	1.82

注:IC<sub>50</sub> 依据药物与肿瘤细胞作用 48 h 后剂量反应曲线计算。

HepG2 细胞圆形皱缩、细胞质溶出以及细胞大小异常见图 3。这些形态特征显示了细胞凋亡特征。为了进一步探讨 CA 对细胞凋亡的影响,利用 4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染色来观察细胞核的形态变化。对照组 HepG2 细胞不进行阳性染色。HepG2 细胞用 CA(1.12 ~ 3.5 μmol·L<sup>-1</sup>)处理 24 h 和 48 h 后,浓缩明显以及细胞核分散表明了细胞正在凋亡(图 4)。染色质凝聚或凋亡小体(图中白色箭头所指)在高浓度和较长作用时间的情况下被观察到有较高的发生率。CA 在最高剂量时,核形态变化比对照组更明显。

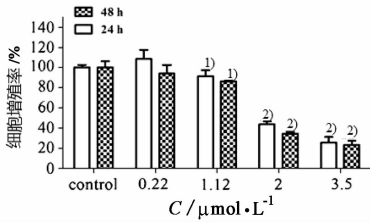


图 3 CA 对 HepG2 细胞增殖的影响 (BrdU 测定,  $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

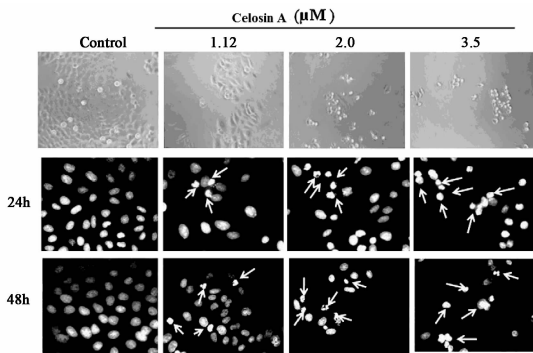


图 4 CA 对 HepG2 细胞凋亡的影响 (DAPI 染色,  $\times 600$ , 箭头所指为凋亡细胞)

**3.5 Caspase-3/7 的活性** 通过使用以 Z-DEVD-R110 为基质的荧光分析 Caspase-3/7 以证实 HepG2 细胞的凋亡。图 5 显示的是用添加依托泊苷的试药(每个试药的浓度设定为 3.5, 4.5, 10 μmol·L<sup>-1</sup>)处理 3 h 后的 Caspase-3/7 表达水平。结果表明 CA 以剂量依赖的方式显著增加了 Caspase-3/7 的活性。因此,CA 对 HepG2 细胞的杀伤作用可能与激活

Caspase-3/7 以促进细胞凋亡的途径有关。

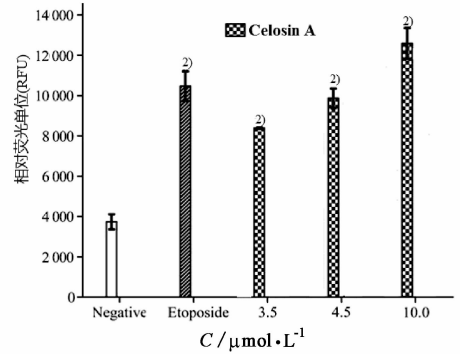


图 5 CA 对 HepG2 细胞 Caspase-3/7 的活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

**3.6 NF-κB 的失活** 为了评估 NF-κB 活性,用浓度递增的 CA 与 HepG2 细胞一起预培养 3h。在应用 TNF-α 30 min 后,检测 NF-κB 的活性。在本研究中,OA 为阳性对照。TNF-α 与 HepG2 细胞预培养后,在受刺激对照细胞中的 NF-κB 蛋白表达呈高水平的增加(见图 6)。相比之下,未刺激对照细胞的 NF-κB 蛋白表达水平非常低( $A_{450} = 0.26$ ,为阴性对照)。正如图 6 所示,与阳性对照 TNF-α 相比,CA 处理 HepG2 细胞 3h,NF-κB 活性受到抑制。结果表明,CA 和 OA 对 NF-κB 的 p65 亚基的活化均有显著地抑制作用,并且呈一定剂量的剂量依赖性。

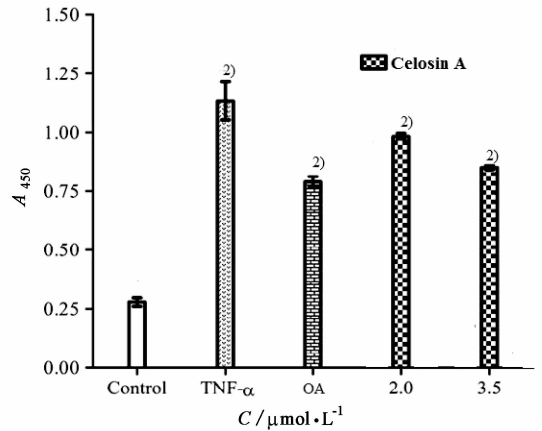


图 6 CA 对 HepG2 细胞 NF-κB 活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

#### 4 讨论

肝癌是人类常见的恶性肿瘤之一,寻找和研制高效低毒的治疗肝癌的药物仍然是当前肝癌研究工作的热点<sup>[6-7]</sup>。本研究结果表明,用 0.22 ~ 3.5 μmol·L<sup>-1</sup>青葙苷 A(CA)处理过的肝癌 HepG2 细胞,LDH 释放增加,呈剂量和时间依赖性。在 CCK-8 和 BrdU 测定过程中,CA 比标准药物抗 HepG2 活性更强,随浓度和作用时间的增加,细胞的活性不断下降,对 HepG2 增殖的抑制作用明显。DAPI 染色

# 逍遥舒心胶囊对慢性应激抑郁模型小鼠的 抗抑郁作用及其机制

韩亚娟<sup>1</sup>,周国儿<sup>2</sup>,黄云娟<sup>2</sup>,陆红<sup>1\*</sup>

(1. 浙江中医药大学,杭州 310053; 2. 浙江省舟山医院,浙江 舟山 316000)

**[摘要]** 目的:探讨逍遥舒心胶囊对慢性应激抑郁模型小鼠的抗抑郁作用及可能机制。方法:60 只 ICR 小鼠随机分为 6 组:正常对照组、模型组、逍遥丸(1.5 g·kg<sup>-1</sup>)组、逍遥舒心胶囊低、中、高剂量(0.5,1.5,4.5 g·kg<sup>-1</sup>)组。于造模第 1 天灌胃给药,每日 1 次,连续 5 周,空白对照组和模型组给予等容积的生理盐水。除空白对照组外,其余组均采用慢性不可预见性应激加孤养法建立慢性应激抑郁症小鼠模型,并观察逍遥舒心胶囊对小鼠强迫游泳和自主活动等指标的影响。采用分光光度法测定血清中超氧化物歧化酶(SOD)活力以及丙二醛(MDA)含量,采用酶联免疫吸附法测定脑组织中 5-羟色胺(5-HT)、促肾上腺皮质激素(ACTH)、脑源性神经营养因子(BDNF)含量。结果:逍遥丸 1.5 g·kg<sup>-1</sup>剂量及逍遥舒心胶囊 1.5,4.5 g·kg<sup>-1</sup>剂量可缩短抑郁症小鼠游泳不动时间,使血清中 SOD 活力升高,MDA 含量降低,并可升高脑组织中 5-HT, BDNF 含量,降低 ACTH 含量。逍遥丸 1.5 g·kg<sup>-1</sup>剂量及逍遥舒心胶囊 0.5,1.5,4.5 g·kg<sup>-1</sup>剂量组均可不同程度地提高抑郁症小鼠的自主活动次数,改善抑郁症状。结论:逍遥舒心胶囊可拮抗慢性应激所引起的抑郁样行为,其作用机制可能与提高脑组织中单胺类神经递质功能,改善下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴功能紊乱,提高神经可塑性和促进神经发生,改善机体自由基损伤等多种途径有关。

**[关键词]** 逍遥舒心胶囊; 抑郁症; 单胺类神经递质; HPA 轴; 脑源性神经营养因子; 自由基损伤

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0204-05

**[doi]** 10.11653/syfy2013230204

**[收稿日期]** 20130608(021)

**[基金项目]** 浙江省卫生计生中医药科技计划项目(2011ZB157)

**[第一作者]** 韩亚娟,在读硕士,Tel:18042323392,E-mail:hayajuan@163.com

**[通讯作者]** \*陆红,硕士,教授,从事药物毒理学研究,Tel:0571-86613603,13157129893,E-mail:luhong03@hotmail.com

观察用 CA 处理过的 HepG2 细胞浓缩明显,细胞核分散,染色质凝聚。Western blot 结果显示用 CA 处理过的 HepG2 细胞 Caspase-3/7 的活性显著增加,NF- $\kappa$ B 蛋白表达水平下降。中药青箱子中分离提取的齐墩果烷型三萜化合物青箱苷 A 具有肝癌细胞增殖抑制及诱导凋亡的作用,为肝癌治疗所需的新的化疗试剂或其类似物的发现提供了信息。

## [参考文献]

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:化学工业出版社,2005:137.
- [2] 王莹,郭美丽. HPLC-ELSD 法测定青箱子中青箱苷 A 和青箱苷 B 的含量[J]. 第二军医大学学报,2007,28(11):1245.
- [3] Vetriehelvan T, Jegadeesan M, Devi B A U. Anti-

diabetic activity of alcoholic extract of *Celosia argentea* seeds in rats[J]. Biol Pharm Bull,2002,25(3):526.

- [4] 单俊杰,任晋玮,杨静,等. 青箱子提取物降血糖活性的研究[J]. 中国药学杂志,2005,40(5):1230.
- [5] 陈会敏,张静. 熊果酸诱导胃癌细胞 BGC-823 凋亡机制的研究[J]. 武汉大学学报,2006,27(3):299.
- [6] 黄敬敬,王修珍. 蓝萆甲素对 HepG2 匀 HepG2 细胞的作用及其相关机制研究[J]. 中国药理学通报,2012,28(3):421.
- [7] Dalad S,Takayuki N,Hirotoishi T. Effect of epoxides and  $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -lactone skeleton of sesquiterpenes from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves on caspase-dependent apoptosis and NF- $\kappa$ B inhibition in human cervical cancer cells[J]. Fitoterapia,2011,82:1093.

[责任编辑 聂淑琴]