

基于 3D 微流控芯片分析鸡血藤总鞣质对 宫颈癌细胞 HeLa 的药理作用

王妮佳¹, 王嘉伦^{2*}, 孟宪生¹, 包永睿¹, 王帅¹, 李天骄¹
(1. 辽宁中医药大学辽宁省组方中药工程技术研究中心, 辽宁大连 116600;
2. 辽宁省药品检验检测院, 沈阳 110023)

[摘要] **目的:**研究鸡血藤总鞣质的化学成分,并分析该有效部位对宫颈癌细胞 HeLa 的药效与作用机制,为鸡血藤抗宫颈癌提供实验依据。**方法:**运用 UPLC-Q-TOF/MS 对鸡血藤鞣质类化学成分进行定性分析。将不同质量浓度的鸡血藤总鞣质作用于宫颈癌细胞 HeLa,通过 3 维(3D)微流控芯片筛选合适的给药浓度及时间。运用流式细胞仪测定鸡血藤总鞣质对宫颈癌细胞 HeLa 周期与凋亡的影响,分别应用 FlowJo v10.0.7 及 ModFit LT 3.2 软件进行分析。采用酶联免疫吸附测定(ELISA)测定经鸡血藤总鞣质作用后,宫颈癌细胞 HeLa 上清液中血管内皮生长因子-A(VEGF-A)与半胱天冬酶-3(Caspase-3)因子的含量变化。**结果:**鉴定并推断了鸡血藤总鞣质中 15 种成分。最终确定鸡血藤总鞣质低、中、高给药质量浓度分别为 0.5, 1.0, 2.0 g·L⁻¹, 36 h 为最佳给药时间。经鸡血藤总鞣质作用后宫颈癌细胞 HeLa 早调与晚调比例明显增加,宫颈癌细胞 HeLa DNA 合成前期(G₀/G₁期)明显增加,DNA 合成期(S期)与 DNA 合成后期(G₂/M期)减小。经鸡血藤总鞣质作用后,宫颈癌细胞 HeLa 上清液中 VEGF-A 因子显著降低,Caspase-3 因子显著增加。**结论:**鸡血藤中含有丰富的鞣质类成分,此类成分对宫颈癌细胞 HeLa 有明显的抑制其增殖并促进其凋亡的作用,为该有效部位的后续研究与开发提供了实验依据。

[关键词] 鸡血藤; 总鞣质; 3D 微流控芯片; 宫颈癌细胞 HeLa; 细胞凋亡; 细胞周期; 酶联免疫吸附测定法

[中图分类号] R22;R24;R28;C37;R73 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)02-0103-06

[doi] 10.13422/j.cnki.sjfx.20182204

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20180828.1522.001.html>

[网络出版时间] 2018-08-29 16:47

Analysis of Pharmacological Effect of Total Tannins from *Spatholobi Caulis* on Cervical Cancer HeLa Cells by 3D Microfluidic Chip

WANG Ni-jia¹, WANG Jia-yi^{2*}, MENG Xian-sheng¹, BAO Yong-rui¹, WANG Shuai¹, LI Tian-jiao¹

(1. Liaoning Province Multi-component Chinese Medicine Engineering Technology Research Center, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China;

2. Liaoning Institute for Drug Control, Shenyang 110023, China)

[Abstract] **Objective:** To study on the chemical constituents of total tannins from *Spatholobi Caulis*, and to analyze the pharmacodynamics and mechanism of total tannins from *Spatholobi Caulis* on cervical cancer HeLa cells. **Method:** UPLC-Q-TOF/MS was used to qualitatively analyze the composition of total tannins from *Spatholobi Caulis*. The appropriate concentration and time of administration were screened by 3 dimensional (3D) microfluidic chip. Flow cytometry was used to determine the effect of total tannins from *Spatholobi Caulis* on the cell cycle and apoptosis of cervical cancer HeLa cells and analyzed by FlowJo v10.0.7 and ModFit LT 3.2 software. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine the changes of vascular endothelial

[收稿日期] 20180409(023)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09507005);辽宁省教育厅一般项目(L201608)

[第一作者] 王妮佳,在读硕士,从事中药分析研究,E-mail:nijiawang@outlook.com

[通信作者] *王嘉伦,博士,主任药师,从事药品、保健食品、化妆品检验与检测研究,Tel:0411-85890185,E-mail:zdx024@163.com

growth factor (VEGF) -A and Caspase-3 factors in cervical cancer HeLa cells supernatant treated with total tannins from *Spatholobi Caulis*. **Result:** Total of 15 components in total tannins from *Spatholobi Caulis* were identified or inferred. The low, medium and high dosages of total tannins from *Spatholobi Caulis* were 0.5, 1.0, 2.0 g·L⁻¹ and the best time of administration was 36 h. The proportions of early and late apoptosis of cervical cancer HeLa cells increased significantly in the apoptosis analysis after being treated by total tannins from *Spatholobi Caulis*. The DNA synthesis early phase (G₀/G₁ phase) of cervical cancer HeLa cells significantly increased, and the DNA synthesis phase (S phase) and the DNA synthesis late phase (G₂/M phase) reduced. After being treated with total tannins from *Spatholobi Caulis*, the expression of VEGF-A in cervical cancer HeLa cells supernatant was significantly decreased and the expression of Caspase-3 was significantly increased. **Conclusion:** *Spatholobi Caulis* is rich in tannins, which can significantly inhibit the proliferation of cervical cancer HeLa cells and promote its apoptosis. This paper can provide the basis for further research of total tannins from *Spatholobi Caulis*.

[**Key words**] *Spatholobi Caulis*; total tannins; 3D microfluidic chip; cervical cancer HeLa cells; cell apoptosis; cell cycle; enzyme-linked immunosorbent assay

鸡血藤又名大血藤、血藤、血风藤、三叶鸡血藤,是补血活血的传统中药^[1],具有补血活血、调经止痛、舒经活络的功效,临床上主治月经不调、风湿痹痛、麻木瘫痪、血虚萎黄等^[2]。通过查阅相关文献,鸡血藤中黄酮类与鞣质类成分含量较高,并且这些成分还具有抗癌作用^[3,4]。近年来对鸡血藤的抗癌研究主要集中在黄酮类成分,关于其鞣质类成分的抗癌研究较少。在前期已对鸡血藤总鞣质进行提取与纯化的基础上,本实验拟研究鸡血藤总鞣质的主要成分,通过 3D 微流控芯片筛选合适的给药量及给药时间,进一步分析鸡血藤总鞣质对宫颈癌细胞 HeLa 凋亡与周期的影响,运用酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒检测血管内皮生长因子-A 与半胱天冬酶-3 的含量变化。结果发现鸡血藤总鞣质对宫颈癌细胞 HeLa 有明显的抑制其增殖并促进其凋亡的作用,证明鸡血藤总鞣质类成分具有一定的抗宫颈癌作用。鸡血藤总鞣质类成分具有很大的潜在价值,有待于科研工作者进一步研究。

1 材料

1290 型超高效液相色谱仪和 6550 型超高分辨率和精确质量四极杆-飞行时间串联质谱仪(美国安捷伦科技公司),US AutoFlow 型 CO₂ 培养箱(德国 Nuair 公司),HD2-BCN-1360B 型生物洁净工作台(哈尔滨东联电子技术开发有限公司),Accuri™ C6 型流式细胞仪(美国 BD 公司)。

鸡血藤药材购于信宜市安顺药业有限公司,产地为广西,经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定为豆科植物密花豆 *Spatholobus suberectus* 的干燥藤茎;人宫颈癌细胞 HeLa(上海复蒙基因生物科技有限公

司,批号 20160703),鸡血藤总鞣质提取物(自制,60% 乙醇回流提取后经正丁醇萃取而得,质量分数 >84%)^[4],聚二甲基硅氧烷(PDMS)和固化剂(美国 Dow Corning 公司,批号分别为 0009209454,24001673921),细胞周期检测试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司,批号 KGA512),细胞凋亡检测试剂盒(天津三箭生物技术有限公司,批号 AO2004),血管内皮生长因子-A(VEGF-A)活性检测试剂盒和半胱天冬酶-3(Caspase-3)活性检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号分别为 BPE10099,BPE11078)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 采用 Poroshell 120 SB-C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm,2.7 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~29 min,5%~50% B;29~30 min,50%~100% B),柱温 30 ℃,流速 0.6 mL·min⁻¹,进样量 0.2 μL。质谱条件为采用电喷雾离子源,运用正、负 2 种模式检测,锥孔电压 65 V,碎裂电压 125 V,雾化器压力 335.534 kPa,毛细管电压 4 kV,干燥气体温度 400 ℃,干燥气流速 11 L·min⁻¹,m/z 100~1 500。

2.2 基于 3D 微流控芯片筛选给药浓度及时间 3D 微流体装置由 3 层 PDMS 和 1 层玻璃组成。本课题组设计其包含了气体阀和液体阀。第 1 层设计为气体通道,第 2 层设计为流体通道层,第 3 层设计为基底层,最后 1 层是玻璃。这 4 层通过氧等离子体结合在一起。该芯片采用标准的软光刻方法制造^[5]。分别制备含 1% 海藻酸钠的细胞悬液和含 1% 氯化钙的培养液,应用蠕动注射泵,将配制好的

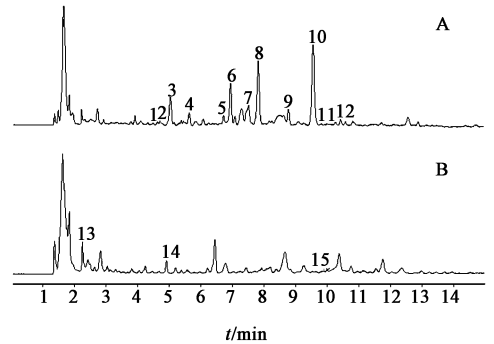
溶液注入芯片内,2 种溶液在芯片内发生交联反应生成海藻酸钙凝胶,经 3,6,9,12 d 后观察细胞团状态。将含 1% 柠檬酸钠的培养液通过蠕动注射泵注入芯片中,用于溶解胶体,并收集细胞制成细胞涂片,采用瑞氏-吉姆萨试剂将细胞团染色并观察细胞团生长状态。当细胞团生长 12 d 后开始给药,给予质量浓度为 0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00, 8.00 g·L⁻¹ 的鸡血藤总鞣质溶液,作用 24,36,48 h 后分别采用含 1% 柠檬酸钠培养液溶解胶体并收集细胞,并用钙黄绿素和碘化丙啶荧光染料进行染色。

2.3 细胞凋亡检测 取状态良好且处于对数生长期的宫颈癌细胞 HeLa 制成细胞悬液,调整密度为 5 × 10⁵ 个/mL 接种于 6 孔板中。当细胞密度达到 80% 时给予质量浓度为 0,0.5,1.0,2.0 g·L⁻¹ 的鸡血藤总鞣质溶液,同时设立空白组与阳性药组(6 mg·L⁻¹ 紫杉醇)。作用 36 h 后收集细胞,参照凋亡试剂盒说明进行操作并利用流式细胞仪检测^[6-7]。

2.4 细胞周期的检测 细胞接种方法与给药方法同 2.3 项,作用 36 h 后收集细胞,参照周期试剂盒说明书进行操作并利用流式细胞仪检测^[6-10]。

2.5 VEGF-A 与 Caspase-3 因子的测定 细胞接种方法与给药方法同 2.3 项,作用 36 h 后收集细胞上清液,运用 ELISA 检测细胞上清液中 VEGF-A 与 Caspase-3 因子的含量。具体操作参照试剂盒说明书^[6-10],并应用 ELISA Calc v0.1 软件进行分析。

2.6 总离子流图及离子峰的鉴别 正、负离子模式下的总离子流图(TIC)见图 1,根据文献[11-16]和相对质量分数、保留时间等信息,推断出了 15 种鞣质类化学成分,见表 1。



A. 负离子模式;B. 正离子模式

图 1 鸡血藤鞣质类化合物的 TIC

Fig.1 Total ion chromatograms of tannins from *Spatholobi Caulis*

表 1 鸡血藤鞣质类化合物的鉴定

Table 1 Identification of tannins from *Spatholobi Caulis*

峰号	t _R /min	化合物	分子式	一级质谱 m/z		二级质谱 m/z
				理论值	实际值	
1	4.556	没食子酰葡萄糖	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331.066 5	331.099 7	248,197,168,146
2	4.709	没食子酸	C ₇ H ₆ O ₅	169.023 5	167.033 1	146,137,123,119
3	5.031	表没食子儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	306.014 3	305.064 7	204,179,177,165,137,125
4	5.575	原儿茶酸	C ₇ H ₆ O ₄	153.031 5	153.017 5	146,112,109
5	6.710	儿茶素二聚体	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₂	577.135 1	577.136 0	451,407,289,161,125
6	7.221	原花青素	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	593.128 7	593.130 4	575,467,441,423,407,305,289,245,125
7	7.663	原花青素 C	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	865.197 1	865.191 5	739,695,575,423,287,146
8	7.918	儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.071 2	289.150 1	245,203,179,151,125,109
9	8.835	表儿茶素二聚体	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₂	577.211 4	577.131 2	451,425,407,289,245,161,125
10	9.564	表儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.052 1	289.070 0	245,205,179,151,125,109
11	9.750	原花青素 B	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.133 7	577.137 0	531,451,407,289,273,161,137,125
12	10.413	儿茶素三聚体	C ₄₅ H ₄₂ O ₁₈	865.174 4	865.192 4	739,713,695,577,413,287
13	2.252	没食子酸乙酯	C ₉ H ₁₀ O ₅	197.053 3	196.052 8	174,130,102
14	4.872	阿魏酸-O-葡萄糖苷	C ₁₆ H ₂₀ O ₉	355.097 2	355.099 5	324,192,185,102
15	9.914	表儿茶素没食子酸酯	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	441.112 4	441.172 1	331,289,193,172,130

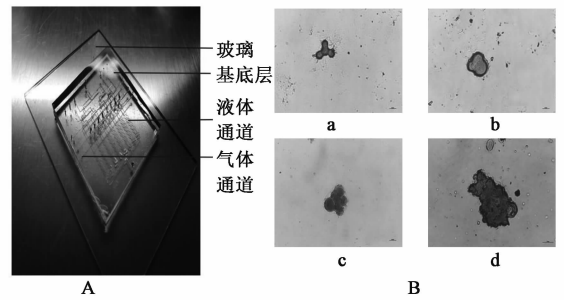
2.7 药效测定 3D 微流控芯片实物见图 2(A),芯片内细胞团生长状况见图 2(B)。结果发现细胞数

量在显著增多并且细胞团正在逐渐增大,说明 PDMS 没有毒副作用。提示这种 3D 微流体培养装

置可以模拟人体生理环境,并可为细胞生长提供稳定的生长环境。基于 3D 微流控芯片筛选出合适的给药浓度及给药时间,鸡血藤总鞣质对宫颈癌细胞 HeLa 增殖的抑制作用见图 3。结果发现时间与鸡血藤总鞣质质量浓度的增加,鸡血藤总鞣质对宫颈癌细胞 HeLa 的抑制率明显增大。通过 GraphPad Prism 7 软件计算鸡血藤总鞣质作用 24,36,48 h 的半抑制浓度 (IC_{50}) 分别为 3.83,0.96,0.62 $g \cdot L^{-1}$ 。说明 36 h 为鸡血藤总鞣质作用于宫颈癌细胞 HeLa 的最佳给药时间。故选用 1.00 $g \cdot L^{-1}$ 作为中剂量组,0.50 $g \cdot L^{-1}$ 为低剂量组,2.00 $g \cdot L^{-1}$ 为高剂量组。

2.8 细胞凋亡的影响 通过流式细胞仪的检测及 FlowJo v10.0.7 软件的分析结果显示,鸡血藤总鞣质组相对于空白组有显著差异,鸡血藤总鞣质作用于宫颈癌细胞 HeLa 36 h 后,宫颈癌细胞 HeLa 早凋与晚凋的比例随鸡血藤总鞣质质量浓度的增加而增大,见表 2。经 SPSS 20.0 软件分析其差异均具有显著性。结果发现鸡血藤总鞣质具有诱导宫颈癌细胞 HeLa 凋亡的作用。

2.9 鸡血藤总鞣质对宫颈癌细胞 HeLa 周期的影响 通过流式细胞仪的检测及 ModFit LT 3.2 软件的分析结果显示,鸡血藤总鞣质有效抑制了宫颈癌细胞 HeLa 的 DNA 合成,抑制了 DNA 合成前期 (G_0/G_1 期) 向 DNA 合成期 (S 期) 与 DNA 合成后期



A. 3D 微流控芯片实物; B. 细胞团生长状况; a~d 分别代表细胞团 3, 6, 9, 12 d 的生长状况

图 2 3D 微流控芯片及其内部细胞团的生长状况

Fig. 2 3D microfluidic chip and growth status of its internal cell mass

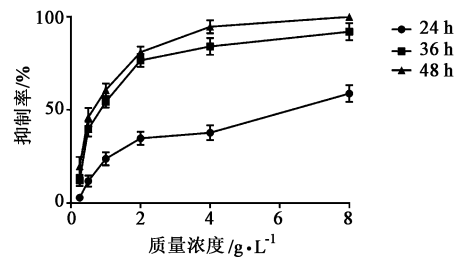


图 3 鸡血藤总鞣质对 HeLa 细胞的抑制曲线

Fig. 3 Inhibition curves of total tannins from Spatholobi Caulis on HeLa cells

(G_2/M 期) 的转化,使细胞分裂周期延长并抑制细胞增殖,结果见表 3。

表 2 鸡血藤总鞣质对宫颈癌细胞 HeLa 凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	质量浓度/ $g \cdot L^{-1}$	正常细胞	早凋细胞	坏死与晚凋细胞	机械损伤
空白	-	92.22 ± 2.31	6.12 ± 1.10	2.11 ± 0.23	0.05 ± 0.02
鸡血藤总鞣质	0.50	76.35 ± 3.33 ²⁾	17.92 ± 1.12 ²⁾	5.42 ± 1.69 ²⁾	0.02 ± 0.11
	1.00	51.92 ± 3.32 ²⁾	19.37 ± 3.47 ²⁾	29.42 ± 1.55 ²⁾	0.40 ± 0.03 ²⁾
	2.00	35.61 ± 2.51 ²⁾	22.72 ± 2.45 ²⁾	41.57 ± 1.71 ²⁾	0.35 ± 0.03 ²⁾
紫杉醇	6.00×10^{-3}	20.01 ± 3.14 ²⁾	36.03 ± 4.51 ²⁾	47.42 ± 2.21 ²⁾	0.69 ± 0.19 ²⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 3 同)。

表 3 鸡血藤总鞣质对宫颈癌细胞 HeLa 周期的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	质量浓度/ $g \cdot L^{-1}$	G_0/G_1 期 /%	S 期 /%	G_2/M 期 /%	VEGF-A 质量浓度/ $ng \cdot L^{-1}$	Caspase-3 质量浓度/ $ng \cdot L^{-1}$
空白	-	27.69 ± 3.13	50.15 ± 2.32	23.67 ± 2.67	252.26 ± 0.25	0.41 ± 0.02
鸡血藤总鞣质	0.50	35.32 ± 2.27 ¹⁾	48.38 ± 2.61	14.61 ± 4.48 ¹⁾	146.26 ± 0.08 ²⁾	0.93 ± 0.05 ²⁾
	1.00	38.49 ± 4.10 ¹⁾	46.67 ± 2.44	13.42 ± 2.30 ²⁾	75.79 ± 0.21 ²⁾	1.86 ± 0.12 ²⁾
	2.00	44.71 ± 3.69 ²⁾	42.64 ± 1.45 ²⁾	11.35 ± 2.43 ²⁾	36.19 ± 0.13 ²⁾	3.66 ± 0.01 ²⁾
紫杉醇	6.00×10^{-3}	48.67 ± 1.16 ²⁾	37.11 ± 2.34 ²⁾	10.64 ± 2.25 ²⁾	29.09 ± 0.04 ²⁾	6.43 ± 0.03 ²⁾

2.10 鸡血藤总鞣质对宫颈癌细胞 HeLa 分泌 VEGF-A 因子的影响 VEGF-A 因子在癌细胞中高表达,其含量对癌症细胞的生长有重要作用,给药组相比于空白组 VEGF-A 因子的含量减小,随鸡血藤总鞣质质量浓度的增大 VEGF-A 因子的含量逐渐减小^[17],见表 3。应用 ELISA Calc v0.1 软件分析,以质量浓度为横坐标,吸光度 A 为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y = (1.48015 - 0.11691) / [1 + (X/45.21589)^{0.68016}] + 0.11691$ ($R^2 = 0.99973$)。

2.11 鸡血藤总鞣质类成分对宫颈癌细胞 HeLa 分泌 Caspase-3 因子的影响 Caspase 家族在细胞凋亡中起着关键作用^[18]。由表 3 可知,给药组相比于空白组 Caspase-3 含量明显增加,并随鸡血藤总鞣质质量浓度的增大其含量也明显增大。应用 ELISACalc v0.1 软件分析,以质量浓度为横坐标, A 为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y = (1.49021 - 0.14328) / [1 + (X/0.43298)^{0.70059}] + 0.14328$ ($R^2 = 0.99948$)。

3 讨论

现代临床对于宫颈癌的治疗多以手术为主,手术治疗不仅危险性高而且给病人带来了极大的痛苦。宫颈癌疫苗的上市为攻克这一疾病带来了曙光,但由于西药的副作用大、价格相对偏高等因素,患者对于疫苗的使用仍处于观望阶段。随着我国中药事业的大力发展,中药治疗宫颈癌也日益引起国内外重视。中药以其多方位、多靶点、副作用小的特点,在治疗癌症方面有突出的疗效。鸡血藤是补血活血的传统中药,具有补血活血、调经止痛、舒筋活络的功效,其鞣质类成分具有很好的抗癌作用。本实验通过研究鸡血藤总鞣质的化学成分,并考察鸡血藤总鞣质对宫颈癌细胞 HeLa 的药效与作用机制,为鸡血藤治疗宫颈癌提供实验依据。

微流控芯片技术在中药研究方面具有很大的优势和潜力。一方面,多层芯片有利于细胞团的形成和生长,并且通过相关染色技术,可以观察到细胞团的生长,以确定给药时间。每个通道有多个培养室,避免反复操作,减少操作失误。灵敏的阀门装置可以精确控制相应通道的开关。同时,使用注射泵可将试剂消耗量降低到 $0.2 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ 。处理 36 h 后,试剂的消耗总量未达到 0.5 mL,与传统的在 96 孔板中培养细胞的技术相比更经济。另一方面,3D 微流体系统可以提供仿生实验环境用来模拟人体内微环境。通过荧光染色的细胞涂片,计算出细胞存活率。3D 培养比 2D 培养更接近人体内的生理环境,

与 2D 系统相比,3D 培养是将药物通过蠕动泵输送到细胞聚集体周围的基质中,体现出 3D 培养系统可以在更加贴近人体生理相关的环境中用于药物的筛选。

本实验采用 UPLC-Q-TOF/MS 技术快速、全面地对鸡血藤总鞣质中主要化学成分进行分析,查找出了 15 种鞣质类成分。将鸡血藤总鞣质作用于宫颈癌细胞 HeLa,结果发现随鸡血藤总鞣质质量浓度的增加以及作用时间的延长,鸡血藤总鞣质对宫颈癌细胞 HeLa 的抑制率明显增大并且呈正相关趋势。运用流式细胞仪检测及 FlowJo v10.0.7 软件分析,证明鸡血藤总鞣质对宫颈癌细胞 HeLa 有明显的促进凋亡作用。应用 ModFit LT 3.2 软件分析细胞周期,证明鸡血藤总鞣质有效抑制了宫颈癌细胞 HeLa 由 G_0/G_1 期向 S 期与 G_2/M 期的转化,抑制宫颈癌细胞 HeLa 中蛋白与 DNA 的合成,使宫颈癌细胞 HeLa 分裂周期延长,抑制细胞增殖。通过对 VEGF-A 因子的测定,证明鸡血藤总鞣质通过抑制宫颈癌细胞 HeLa 分泌 VEGF-A 因子来抑制宫颈癌细胞 HeLa 的增殖。Caspase-3 因子是癌症细胞凋亡的执行者和启动者,证明鸡血藤总鞣质通过促进宫颈癌细胞 HeLa 分泌 Caspase-3 因子来促使宫颈癌细胞 HeLa 凋亡率增大。后续可通过研究 VEGF-A 与 Caspase-3 因子相关的通路,并对相关通路上的靶基因与靶蛋白进行分析,探索鸡血藤总鞣质对宫颈癌细胞 HeLa 的作用机制。

[参考文献]

- [1] 符影,程悦,陈建萍,等. 鸡血藤化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药,2011,42(6):1229-1234.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:194.
- [3] 刘伟桥,于澎. 中药黄酮类化合物的抗肿瘤机制[J]. 长春中医药大学学报,2015,31(2):254-255.
- [4] 程悦,符影,王志宇,等. 鸡血藤提取物中缩合鞣质的含量测定及其抗肿瘤活性初步研究[J]. 中山大学学报:自然科学版,2011,50(2):75-80.
- [5] 徐为峰,王帅,孟宪生,等. 用于肿瘤细胞三维培养的微流控芯片构建及培养条件研究[J]. 中国药理学通报,2016,32(4):581-584.
- [6] 樊佳新,包永睿,孟宪生,等. 基于细胞凋亡和细胞周期研究荆芥总黄酮对 Caco-2 细胞的影响[J]. 中药材,2016,39(8):1876-1878.
- [7] 包永睿,王帅,孟宪生,等. 薏苡仁脂肪酸类成分对人肝癌细胞株 SMMC-7721 细胞周期及细胞凋亡的影响[J]. 中成药,2014,36(2):235-239.

- [8] 潘国凤,杨庆,刘安,等. 瑞香狼毒药效组分诱导人肝癌细胞凋亡及对细胞周期依赖性蛋白激酶 CDK2 的影响[J]. 中药药理与临床,2011,27(5):41-45.
- [9] 曾志涛,傅纓,熊耀斌,等. 发酵虫草菌粉对人肝癌细胞增殖、凋亡及 VEGF, MMP-2 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,21(9):141-144.
- [10] 张彩霞,张亚杰,江滨,等. 白术内酯 II 促进大肠癌 Lovo 细胞凋亡及对 PARP1 和 Caspase-3 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(5):157-161.
- [11] 刘梦娇,王云,李玲云,等. 三黄片化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速鉴定分析[J]. 中国中药杂志,2017,42(9):1685-1692.
- [12] 周本宏,易慧兰,郭咸希,等. HPLC-ESI-MS 对石榴皮中鞣质类化学成分的初步分析[J]. 中国药师,2015,18(2):201-204.
- [13] 富臻,李波,王源,等. 塔拉豆荚中鞣质化合物及其抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(10):56-59.
- [14] 黄西,李国春,尹莲,等. 凉血通瘀方凉血活血有效部位及其化学成分的 HPLC-MS 和 GC-MS 分析[J]. 药学学报,2015,50(1):86-93.
- [15] 潘海峰,杨明宇,徐宝欣,等. 基于 HPLC-MS/MS 比较不同产地山楂叶中 8 个成分含量[J]. 药物分析杂志,2015,37(12):2173-2179.
- [16] 董红娇,陈晓虎,曾锐,等. UPLC-Q-Exactive 四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用快速分析民族药小大黄的化学成分[J]. 中草药,2016,47(14):2428-2435.
- [17] Navarro-González J F, Mora-Fernández C, Muros de Fuentes M, et al. Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. Nat Rev Nephrol,2011,7(6):327-340.
- [18] 吴志敏,袁克厚. Caspase 蛋白酶的结构及其在 CNS 损伤中的作用[J]. 中国临床神经外科杂志,2003,8(2):155-156.

[责任编辑 刘德文]