

中图分类号: R932; R284; R285 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)10-0046-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.10.012



白花蛇舌草化学成分及其抗结肠癌活性初探*

张其爱¹, 杨佳彬², 林冠丽¹, 李志健², 曾彩芳^{2△}

(1. 广州医科大学, 广东 广州 511436; 2. 广州医科大学附属第二医院, 广东 广州 511447)

摘要:目的 分析中药白花蛇舌草 40% 乙酸乙酯部位的化学成分, 并初步探讨其抗结肠癌活性。方法 采用中压制备色谱、制备型高效液相色谱对白花蛇舌草 40% 乙酸乙酯部位进行分离纯化; 根据理化性质及波谱数据鉴定化合物结构。采用 MTT 法检测化合物对结肠癌细胞 HT-29 和 SW480 的生长抑制作用。结果 共分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为齐墩果酸(1)、白桦脂酸(2)、熊果酸(3)、山柰酚(4)、槲皮素(5)、大黄素(6)、大黄酸(7)、芦荟大黄素(8)、大黄酚(9), 其中化合物 1, 2(半数抑制浓度 $\geq 100.4, 26.5 \mu\text{mol/L}$) 对 HT-29 和 SW480 细胞的生长抑制作用较强。结论 化合物 2, 6, 7, 8 为首次从该植物中分离得到, 化合物 1, 2 为白花蛇舌草的抗结肠癌活性成分。

关键词: 白花蛇舌草; 化合物; 分离; 鉴定; 白桦脂酸; 齐墩果酸; 抗结肠癌活性

Preliminary Study on the Chemical Constituents of *Hedyotis Diffusa* and Their Anti-Colon Carcinoma Activity

ZHANG Qiai¹, YANG Jiabin², LIN Guanli¹, LI Zhijian², ZENG Caifang²

(1. Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong, China 511436; 2. The Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong, China 511447)

Abstract: Objective To analyze the chemical constituents of the 40% ethyl acetate fraction of *Hedyotis diffusa*, and to study preliminarily their anti-colon carcinoma activity. **Methods** The medium-pressure liquid chromatography and preparative high-performance liquid chromatography were used to isolate and extract the 40% ethyl acetate fraction of *Hedyotis diffusa*. The structures of the compounds were identified based on their physicochemical properties and spectral data. The MTT method was used to detect the inhibitory effect of compounds on the growth of colon carcinoma HT-29 cells and SW480 cells. **Results** Nine compounds were isolated and identified, including oleanolic acid (1), betulinic acid (2), ursolic acid (3), kaempferol (4), quercetin (5), emodin (6), rhein (7), aloe-emodin (8) and chrysophanol (9). Among them, compounds 1 and 2 (half-inhibitory

*基金项目: 广州医科大学大学生实验室开放项目[0506309]。

第一作者: 张其爱, 女, 大学本科, 药士, 研究方向为治疗药物监测与药剂学, (电子信箱)1623417972@qq.com。

△通信作者: 曾彩芳, 女, 大学本科, 主任中药师, 研究方向为医院制剂与医院药事管理, (电子信箱)gyfsyyjk@126.com。

- death via iR30b-p53-PTPN11/SHP2 signaling pathway in human hepatocellular carcinoma cells [J]. Eur J Pharmacol, 2017, 796: 233-241.
- [6] WU Q, ZHENG K, HUANG X, et al. Tanshinone- II_A -Based Analogues of Imidazole Alkaloid Act as Potent Inhibitors To Block Breast Cancer Invasion and Metastasis *in Vivo* [J]. J Med Chem, 2018, 61(23): 10488-10501.
- [7] LIU Z, ZHU W, KONG X, et al. Tanshinone II_A inhibits glucose metabolism leading to apoptosis in cervical cancer [J]. Oncol Rep, 2019, 42(5): 1893-1903.
- [8] 吴筱霓, 刘伟, 何玉华, 等. 丹参酮 II_A 药理作用研究进展 [J]. 中国药业, 2020, 29(21): 93-97.
- [9] 温文浩, 侯雪楠, 崔赛男, 等. 丹参酮 II_A 通过自噬诱导肺癌 A549 细胞周期阻滞的作用研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(5): 539-545.
- [10] 李武杰, 李勇强, 张樊苹, 等. Claudin-1 与 cyclinB1 在下咽鳞状细胞癌中的表达及其临床意义 [J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2020, 26(5): 537-543.
- [11] 林晋, 黄宇, 唐风华, 等. 褪黑素通过调节 survivin 和 Caspase-3 表达诱导人骨肉瘤细胞凋亡 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2020, 29(1): 28-33.
- [12] 黄敏, 杨燕. 丹参酮 II_A 联合 CASC2 对甲状腺癌细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭的影响固有淋巴细胞在脂质代谢中的研究进展 [J]. 中国细胞生物学学报, 2021, 43(5): 947-955.
- [13] 左文娜, 朱虹, 金爱燕, 等. 沉默 MMP-9 对喉癌细胞侵袭、迁移及 PI3K/Akt 磷酸化水平的影响 [J]. 疑难病杂志, 2021, 20(10): 987-991.
- [14] 熊涛, 王慧, 黄梦婷, 等. 毛茛乙素调控 lncRNA CPS1-IT1 表达抑制膀胱癌 T24 细胞增殖、迁移、侵袭的机制研究 [J]. 河北医药, 2022, 44(5): 650-654.
- [15] OJALILL M, PARIKAINEN M, RAPPU P, et al. Integrin $\alpha_5\beta_1$ decelerates proliferation, but promotes survival and invasion of prostate cancer cells [J]. Oncotarget, 2018, 9(65): 32435-32447.
- [16] 刘淑娟, 金翠红. 整合素 $\alpha_5\beta_1$ 和 CD44V4 与早期宫颈鳞癌淋巴结转移的关系 [J]. 肿瘤学杂志, 2019, 25(11): 972-975.
- (收稿日期: 2022-08-23; 修回日期: 2022-11-16)

concentration not lower than were 100.4 $\mu\text{mol/L}$ and 26.5 $\mu\text{mol/L}$ respectively) had a strong inhibitory effect on the growth of HT-29 cells and SW480 cells. **Conclusion** Compounds 2, 6, 7 and 8 are isolated from this plant for the first time, and compounds 1 and 2 are the anti-colon carcinoma active constituents of *Hedyotis diffusa*.

Key words: *Hedyotis diffusa*; compound; isolation; identification; betulinic acid; oleanolic acid; anti-colon carcinoma activity

白花蛇舌草为茜草科耳草属植物白花蛇舌草 *Hedyotis diffusa* (Willd.) Roxb. 的全草, 能清热解毒、利湿通淋, 有抗肿瘤作用^[1-3], 而国内临床常用于治疗中晚期原发性肝癌^[4]。结肠癌的发病率和死亡率在我国均逐年上升, 严重威胁人民健康。根治性肿瘤切除术为临床常用治疗方式^[5], 但患者术后的5年生存率仅50%~60%, 且对于术后复发及不能手术患者, 多药耐药性(MDR)为结肠癌化学药物治疗(简称化疗)失败的重要原因^[6-7]。白花蛇舌草抗肿瘤机制为增强宿主非特异性免疫, 以抑制耐药型结肠癌细胞的生长并促进凋亡^[8-9], 而目前尚无有关其化学成分和药理作用研究的报道。为探究其抗耐药型结肠癌药效物质基础, 前期对白花蛇舌草化学成分进行了研究, 初步筛选出其抗结肠癌的有效部位为乙酸乙酯部位, 本研究中进一步对该有效部位的化学成分进行探讨。现报道如下。

1 仪器、试药与细胞

1.1 仪器

CP225D型电子天平(德国Sartorius公司); Bruker AV-400/500 FT型傅立叶变换超导核磁共振谱仪(德国Bruker公司); Q-TOF micro型四极杆飞行时间高分辨质谱仪(美国Waters公司); WRX-4型熔点测定仪(上海星尧科学仪器有限公司); RV-8型旋转蒸发仪(德国IKA公司); Pure C-815型中压制备色谱仪(瑞士Buchi公司); Agilent 1260 Infinity II制备型高效液相色谱系统(美国Agilent公司); 311型细胞培养箱(美国Thermo Fisher Scientific公司)。

1.2 试药

100~200目液相色谱柱用硅胶(烟台黄海化工有限公司, 批号为0210056); 二甲基亚砜(DMSO)、MTT试剂(美国Aladdin公司, 批号分别为D201041, A191008); RPMI 1640培养基、DMEM培养液、胎牛血清、胰蛋白酶(美国Gibco公司, 批号分别为8120485, BC20200311, 2020490C, PYM2020011); 5-氟尿嘧啶(5-FU, 天津金耀有限公司, 批号为201607); 有机试剂均为分析纯, 水为屈臣氏蒸馏水。白花蛇舌草药材饮片(广州致信中药饮片有限公司, 批号为20200123), 产地为广西壮族自治区玉林市, 由南方医科大学中药鉴定教研室张宏伟教授鉴定为正品。

1.3 细胞

人结肠癌HT-29和SW480细胞株(中国科学院上海生科院细胞资源中心)。

2 方法与结果

2.1 化学成分的提取与分离

取药材饮片样品30 kg, 精密称定, 用95%乙醇(样品质量的6倍)加热回流提取3次, 每次2 h, 合并提取液, 60℃下减压浓缩至无醇味, 加水稀释制得混悬液(4~5 L), 依次用石油醚、乙酸乙酯、饱和正丁醇萃取, 以混悬液-溶剂(1:1, V/V)反复萃取至萃取溶剂色淡, 合并各萃取液, 并减压浓缩; 取乙酸乙酯部位上中压制备色谱, 以乙酸乙酯和石油醚梯度洗脱[0, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% (乙酸乙酯/石油醚)], 得7个部位; 取40%乙酸乙酯部位经硅胶柱层析, 以石油醚和乙酸乙酯进行梯度洗脱[0, 20%, 40%, 60%, 100% (乙酸乙酯/石油醚)], 洗脱液经薄层色谱(TLC)分析、合并, 并经制备型高效液相色谱纯化, 得9个化合物。

2.2 结构鉴定

化合物1: 浅绿色固体; 香草醛-浓硫酸试剂显紫色; mp. 130~131℃; ESI-MS: m/z 439.8 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。¹H-NMR(400 MHz, CDCl_3) δ : 5.21(1H, t, J = 3.5 Hz, H-12), 2.75(1H, dd, J = 13.7, 4.2 Hz, H-18), 1.15, 1.09, 1.05, 1.03, 0.93, 0.91, 0.81($\text{CH}_3 \times 7$, s, H-23, 24, 25, 26, 27, 29, 30)。¹³C-NMR(CDCl_3 , 100 MHz) δ : 184.0(C-28), 143.6(C-13), 122.4(C-12), 56.2(C-3), 55.3(C-5), 47.4(C-17), 46.9(C-19), 46.6(C-14), 45.8(C-8), 41.7(C-9), 41.0(C-18), 39.3(C-4), 39.1(C-10), 36.8(C-1), 34.1(C-22), 33.8(C-21), 33.0(C-29), 32.4(C-7), 32.1(C-23), 30.7(C-20), 27.7(C-15), 26.4(C-2), 25.8(C-27), 23.5(C-30), 23.5(C-16), 22.9(C-11), 21.4(C-26), 19.5(C-6), 17.0(C-25), 15.0(C-24)。以上数据与文献[10]的报道一致, 故鉴定化合物1为齐墩果酸。

化合物2: 白色固体; 香草醛-浓硫酸试剂显紫色; mp. 254~255℃。¹H-NMR(CDCl_3 , 400 MHz) δ : 4.67(1H, s, H-29a), 4.55(1H, s, H-29b), 1.63(1H, s, H-30), 1.00, 0.92, 0.91, 0.86, 0.82($\text{H} \times 5$, s, H-23, 24, 25, 26, 27)。¹³C-NMR(CDCl_3 , 400 MHz) δ : 181.0(C-28), 149.4(C-20), 108.7(C-29), 58.2(C-3), 56.3(C-5), 53.9(C-17), 48.8(C-19), 48.1(C-14), 46.3(C-8), 45.8(C-9), 41.47(C-4), 39.61(C-18), 38.3(C-15), 37.4(C-10), 36.0(C-1), 35.8(C-2), 33.1(C-13), 32.5(C-7), 31.1(C-16), 29.5(C-21), 28.6(C-15), 25.6(C-22), 24.5(C-2), 20.3(C-

24), 20.0(C-28), 18.5(C-27), 18.3(C-6), 14.9(C-23), 14.8(C-26), 13.6(C-25)。以上数据与文献[11]的报道一致,故鉴定化合物2为白桦脂酸。

化合物3:淡黄色粉末;香草醛-浓硫酸试剂显紫色;mp. 285~286 °C;ESI-MS: m/z 469.1[M-H]⁻。¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 600 MHz)δ: 5.5(1H, s, H-12), 1.41, 1.39, 1.34, 1.26, 1.10, 1.07, 0.77(3H×7, s, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29)。¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 600 MHz)δ: 199.01(C-12), 180.9(C-30), 169.0(C-13), 127.3(C-12), 86.6(C-4), 60.0(C-17), 56.3(C-5), 55.1(C-3), 52.4(C-19), 50.2(C-14), 45.5(C-8), 43.5(C-9), 42.0(C-18), 40.1(C-10), 38.7(C-1), 33.8(C-22), 33.6(C-21), 33.2(C-29), 32.3(C-7), 31.9(C-23), 31.0(C-20), 30.8(C-15), 29.7(C-2), 29.0(C-27), 27.5(C-30), 27.0(C-11), 23.5(C-16), 23.0(C-11), 21.3(C-26), 20.6(C-6), 19.7(C-25), 18.2(C-24)。以上数据与文献[11]的报道一致,故鉴定化合物3为熊果酸。

化合物4:浅黄色粉末;香草醛-浓硫酸试剂显天蓝色;mp. 305~306 °C。¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz)δ: 8.05(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-2', 6'), 6.39(2H, d, *J*=8.8 Hz, H-3', 5'), 6.44(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.19(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6)。¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 600 MHz)δ: 176.4(C-4), 164.4(C-7), 161.2(C-9), 159.7(C-4'), 156.7(C-5), 147.3(C-2), 136.1(C-3), 130.0(C-2'6'), 122.1(C-1'), 115.9(C-3'5'), 103.5(C-10), 98.7(C-6), 94.0(C-8)。以上数据与文献[12]的报道一致,故鉴定化合物4为山柰酚。

化合物5:黄色针状结晶;香草醛-浓硫酸试剂显天蓝色;mp. 301~302 °C。¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz)δ: 12.5(1H, s, OH-5), 10.8(1H, s, OH-3), 9.57(1H, s, OH-3'), 9.3(2H, s, OH-7, 4'), 7.66(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2'), 7.53(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6'), 6.82(1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5'), 6.39(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.17(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6)。¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 600 MHz)δ: 175.4(C-4), 163.4(C-7), 160.2(C-9), 159.7(C-4'), 156.7(C-4'), 156.1(C-5), 146.8(C-2), 135.1(C-3), 119.0(C-2'6'), 122.1(C-1'), 115.6(C-3'5'), 103.2(C-10), 98.2(C-6), 93.0(C-8)。以上数据与文献[12]的报道一致,故鉴定化合物5为槲皮素。

化合物6:红色针晶;溶于甲醇;Borntrager's反应和乙酸镁反应为阳性;香草醛-浓硫酸试剂显黄色;mp. 255~256 °C。¹H-NMR(CD₃OD, 400 Hz)δ: 12.21(1H, s, OH-1), 12.10(1H, s, OH-8), 10.15(1H, s, OH-3), 7.61(1H, m, H-4), 7.28(1H, d, *J*=2.2 Hz,

H-5), 7.08(1H, d, *J*=6.7 Hz, H-2), 6.68(1H, m, H-7), 2.46(3H, s, CH₃)。¹³C-NMR(CD₃OD, 400 Hz)δ: 164.3(C-1), 107.2(C-2), 164.9(C-3), 106.5(C-4), 120.5(C-5), 149.8(C-6), 124.7(C-7), 161.9(C-8), 193.1(C-9), 133.5(C-11), 113.2(C-12), 103.9(C-12), 108.7(C-13), 135.6(C-14), 21.3(-CH₃)。以上数据与文献[13]的报道一致,故鉴定化合物6为大黄素。

化合物7:淡黄色粉末;溶于吡啶;Borntrager's反应和乙酸镁反应为阳性;香草醛-浓硫酸试剂显黄色;mp. 321~322 °C。¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 400 Hz)δ: 11.91(2H, s, OH-1, 8), 8.12(1H, s, OH-8), 7.82(1H, s, OH-3), 7.75(1H, m, H-4), 7.73(1H, d, *J*=2.1 Hz, H-5), 7.40(1H, d, *J*=7.8 Hz, H-2)。¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 400 Hz)δ: 164.3(C-1), 124.2(C-2), 138.9(C-3), 119.5(C-4), 118.5(C-5), 137.8(C-6), 124.7(C-7), 161.9(C-8), 193.1(C-9), 181.7(C-10), 133.2(C-4a), 118.9(C-8a), 118.7(C-1a), 135.6(C-5a), 163.5(-COOH)。以上数据与文献[13]的报道一致,故鉴定化合物7为大黄酸。

化合物8:淡黄色粉末;mp. 240~241 °C;ESI-MS: m/z 268[M-H]⁻。¹H-NMR(CDCl₃, 400 Hz)δ: 8.15(1H, d, *J*=8.0 Hz, H-8), 7.43(1H, d, *J*=8.0 Hz, H-7), 8.06(1H, s, H-5), 7.76(1H, s, H-4), 7.73(1H, s, H-1), 4.02(3H, s, -OCH₃), 2.48(3H, s, -CH₃)。¹³C-NMR(CDCl₃, 400 Hz)δ: 186.7(C-10), 181.3(C-9), 153.1(C-2), 1149.3(C-3), 143.7(C-6), 131.7(C-7), 134.5(C-5a), 130.6(C-10a), 121.7(C-8), 119.3(C-5), 117.4(C-10a), 113.3(C-9a), 110.7(C-4), 103.4(C-1), 54.1(-OCH₃), 23.3(-CH₃)。以上数据与文献[13]的报道一致,故鉴定化合物8为芦荟大黄素。

化合物9:淡黄色粉末;溶于吡啶;Borntrager's反应和乙酸镁反应为阳性;mp. 196~197 °C。¹H-NMR(CDCl₃, 400 Hz)δ: 11.91(2H, s, OH-1, 8), 8.12(1H, s, OH-8), 7.82(1H, s, OH-3), 7.75(1H, m, H-4), 7.73(1H, d, *J*=2.1 Hz, H-5), 7.40(1H, d, *J*=7.4 Hz, H-2), 2.46(3H, s, CH₃)。¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 400 Hz)δ: 164.3(C-1), 124.2(C-2), 138.9(C-3), 119.5(C-4), 118.5(C-5), 137.8(C-6), 124.7(C-7), 161.9(C-8), 193.1(C-9), 181.7(C-10), 133.2(C-4a), 118.9(C-8a), 118.7(C-1a), 135.6(C-5a), 23.5(-CH₃)。以上数据与文献[13]的报道一致,故鉴定化合物9为大黄酚。

2.3 体外抗结肠癌活性筛选

采用MTT法检测化合物1-9对SW480和HT-29细

表1 9个化合物的 IC_{50} ($\mu\text{mol/L}$, $n=6$)
Tab.1 IC_{50} of nine compounds ($\mu\text{mol/L}$, $n=6$)

细胞	化合物1	化合物2	化合物3	化合物4	化合物5	化合物6	化合物7	化合物8	化合物9	5-FU
HT-29	100.4	26.5	484.6	477.0	650.0	867.5	546.2	405.7	461.3	7.4
SW480	87.3	18.7	432.2	540.5	452.4	432.5	583.1	481.7	876.0	4.3

胞生长的抑制作用^[14]。取9个化合物及5-FU适量,分别以DMSO溶解,并配成浓度为200 mmol/L的母液,加DMEM培养液稀释,分别配成浓度为200.0, 100.0, 50.0, 25.0, 12.5, 6.3 $\mu\text{mol/L}$ 的含药培养液。取SW480和HT-29细胞,加入含10%胎牛血清的1640培养液(含双抗),在37℃、5% CO₂培养箱中培养至对数生长期。取细胞适量,调细胞密度为 5×10^3 个/孔,接种于96孔板(每孔100 μL),以上述含药培养液继续培养24 h,培养3 d后,弃去上清液,每孔加入5 g/L MTT 20 μL , 37℃孵育4 h,弃去上清液,每孔加入DMSO 150 μL ,振荡10 min,以酶标仪测定570 nm波长处各孔的吸光度(OD)值,并计算半数抑制浓度(IC_{50})。实验另设DMSO对照(等体积含1% DMSO的完全培养基)及空白对照(等体积不含细胞的完全培养基);均设6个复孔。结果见表1。

结果表明,化合物1在高浓度($\geq 100.4 \mu\text{mol/L}$)时表现出一定的肿瘤细胞抑制活性,但与5-FU相比不显著($P>0.05$);化合物2在中高浓度($\geq 26.5 \mu\text{mol/L}$)时对SW480和HT-29细胞的生长具有显著抑制作用;而化合物3,4,5,6,7,8,9几乎未显示抑制肿瘤细胞的活性。

3 讨论

白花蛇舌草作为临床常用抗结肠癌中草药^[15],药理及药物化学研究相对丰富,中外学者从中分离并鉴定出上百个化合物,包括黄酮类、萜类及环烯醚萜类^[16],但未见对分离得到的单体进行抗结肠癌活性筛选的报道。本研究中对白花蛇舌草有效部位进行分离、纯化,提取并鉴定出的化合物2,6,7,8(白桦脂酸、大黄素、大萘醌、芦荟大黄素)为从该植物中首次分离得到,经初步考察发现,化合物齐墩果酸和白桦脂酸对SW480和HT-29细胞的生长有一定抑制作用,尤其是白桦脂酸在中高浓度时对肿瘤细胞的生长有显著抑制作用。白桦脂酸为有抗癌前景的天然产物,其作用包括直接杀伤肿瘤细胞,激活肿瘤细胞线粒体途径凋亡,增强机体的免疫功能以杀伤肿瘤细胞,以及作为抑癌增效剂,在联合化疗中避免MDR的产生,增强抗肿瘤药的治疗效果,但其抗结肠癌活性未见报道,本研究中初步揭示其抗结肠癌活性,其作用机制需深入研究^[17-18]。本研究中初步探明了白花蛇舌草抗结肠癌的部分物质基础,可为其抗结肠癌的药理作用研究及后续开发提供参考。

参考文献

- [1] 朱建坤,王秋兰,等. 白花蛇舌草抗肿瘤机制研究[J]. 西部中医药,2013,21(6):119-121.
- [2] GU GW, BARONE I, GELSOMINO L, et al. Oldenlandia diffusa extracts exert antiproliferative and apoptotic effects on human breast cancer cells through ER α /Sp1-mediated p53 activation[J]. J cell physiol, 2012, 227(10):3363-3372.
- [3] 刘志刚. 白花蛇舌草化学成分研究及抑瘤活性成分筛选[D]. 广州:第一军医大学,2005.
- [4] 陈晨,张吉菲,房鑫. 白花蛇舌草对肝癌的作用机制研究[J]. 河南中医,2018,38(1):67-71.
- [5] 顾晋,杜长征. 结肠癌术后复发的研究进展[J]. 中华消化外科杂志,2008,7(3):167-169.
- [6] 丁欣. KRAS突变型结肠癌化疗耐药的新机制[D]. 合肥:安徽医科大学,2018.
- [7] 苏建伟,周喜汉. 结肠癌细胞耐药的研究现状[J]. 右江医学,2017,45(1):91-94.
- [8] 林久茂,詹友知,魏丽慧,等. 白花蛇舌草提取物逆转结肠癌细胞5-Fu耐药的作用[J]. 福建中医药,2013,44(1):53-55.
- [9] 戴军. 白花蛇舌草对大肠癌耐药移植瘤细胞凋亡的影响[D]. 福州:福建中医药大学,2016.
- [10] 江洪波,董小萍,田仁君,等. 女贞子三萜类化学成分及其体外抗氧化活性的研究[J]. 华西药学杂志,2015,30(2):163-164.
- [11] 陈改敏. 细圆藤的三萜类化学成分的分类及鉴定[J]. 医药卫生杂志,2012,34(2):23-25.
- [12] 任凤芝,刘刚叁,张丽,等. 白花蛇舌草黄酮类化学成分研究[J]. 中国药理学杂志,2005,40(7):502-504.
- [13] 李艳明. 植物大黄中抗AIDS病毒有效成分研究[D]. 天津:南开大学,2002.
- [14] 谭玉珍. 实用细胞培养技术[M]. 北京:高等教育出版社,2006:10-12.
- [15] 陆培华. 消癌解毒方中白花蛇舌草抑制结肠癌的作用及机制研究[D]. 南京:南京中医药大学,2016.
- [16] 张轲. 白花蛇舌草化学成分研究[D]. 北京:中国中医科学院,2016.
- [17] 王开祥,张慧,郑克岩,等. 白桦脂酸体外抗肿瘤的活性和机制[J]. 吉林大学学报,2009,43(27):622-625.
- [18] WANG YJ, LIU JB, DOU YC, et al. Sequential treatment with betulinic acid followed by 5-fluorouracil shows synergistic cytotoxic activity in ovarian cancer cells[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(1):252-259.

(收稿日期:2022-12-24;修回日期:2023-02-18)