



MTT Method for Detecting the Anti-tumor Effect of *Polyporus umbellatus* Steroids

Zhang Hai-xiang^{1,2}, Hong Dong-feng³, Zhao Xiang-rong^{1,2}, Wang Jin-ping⁴, Guo Hua^{5,*}

¹Shaanxi Engineering Research Center of Cell Immunology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, China

²Shaanxi Key Laboratory of Infection and Immunity Disease, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, China

³College of Food and Drug, Luoyang Normal University, Luoyang, China

⁴Department of Otolaryngology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, China

⁵Department of Clinical Laboratory, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, China

Email address:

307706698@qq.com (Zhang Hai-xiang), yuanli-666@163.com (Hong Dong-feng), xiangrong1446@126.com (Zhao Xiang-rong),

306070789@qq.com (Wang Jin-ping), guohua1123@163.com (Guo Hua)

*Corresponding author

To cite this article:

Zhang Hai-xiang, Hong Dong-feng, Zhao Xiang-rong, Wang Jin-ping, Guo Hua. MTT Method for Detecting the Anti-tumor Effect of *Polyporus umbellatus* Steroids. *Science Discovery*. Vol. 10, No. 3, 2022, pp. 125-131. doi: 10.11648/j.sd.20221003.17

Received: May 5, 2022; Accepted: May 31, 2022; Published: June 1, 2022

Abstract: *Polyporus umbellatus* is a kind of medicine and food fungus, in addition to the main component of polysaccharides, steroid components are rich in content, good biological activity and small side effects, part of its efficacy has been widely used in the treatment of various diseases. To investigate the anti-tumor biological activity and pharmacological effects of the steroid components, thiazole blue (MTT) method was used to evaluate the anti-proliferative effect of *Polyporus umbellatus* steroids on human hepatocarcinoma cell line HepG2, human cervical carcinoma cell line Hela, human renal clear-cell carcinoma cell line 786-O and human renal proximal tubular epithelial cell line HKC. The results indicated that different steroid compounds at different concentrations showed different degrees of inhibition of cell proliferation, as the concentration of the compound increases, its inhibition rate gradually increases, and it is concentration-dependent. The inhibitory effect of different compounds on the proliferation of the same cell was also different, among which the IC₅₀ value of compound ZT-5 on HepG2 cells, Hela cells and 786-O cells was only 14.36 µg/mL, 21.90 µg/mL and 46.56 µg/mL, far lower than that of other compounds. The cytotoxic activity of *Polyporus umbellatus* steroids against tumor cells HepG2 and Hela was higher than that of 786-O cells, and the cytotoxic activity against normal cells HKC was less, showing obvious cell selectivity. The *Polyporus umbellatus* steroids have obvious anti-proliferative effect on tumor cells, which expand the therapeutic potential and have important guiding significance for the clinical application of *Polyporus umbellatus*.

Keywords: MTT Method, *Polyporus umbellatus*, Steroids, Anti-tumor

MTT法检测猪苓甾体化合物抗肿瘤作用

张海祥^{1,2}, 洪东风³, 赵向绒^{1,2}, 王晋平⁴, 郭华^{5*}

¹陕西省人民医院陕西省细胞免疫工程技术研究中心, 西安, 中国

²陕西省人民医院陕西省感染与免疫疾病重点实验室, 西安, 中国

³洛阳师范学院食品与药品学院, 洛阳, 中国

⁴陕西省人民医院耳鼻喉科, 西安, 中国

⁵陕西省人民医院检验科, 西安, 中国

邮箱

307706698@qq.com (张海祥), yuanli-666@163.com (洪东风), xiangrong1446@126.com (赵向绒), 306070789@qq.com (王晋平), guohua1123@163.com (郭华)

摘要:猪苓是一种药食两用的真菌,除主要成分多糖外,甙体类成分的含量丰富,生物活性好且副作用小,其部分功效已在临床上广泛用于治疗各种疾病。为探讨猪苓甙体成分的抗肿瘤生物活性和药理作用,本研究采用噻唑蓝(MTT)法评价猪苓甙体化合物对人肝癌细胞HepG2、人子宫颈癌细胞Hela、人肾透明细胞癌细胞786-O和人近端肾小管上皮细胞HKC的增殖抑制作用。研究结果表明:不同甙体化合物以不同的浓度作用细胞后呈现不同程度的细胞增殖抑制作用,随着化合物浓度升高其抑制率逐渐增加,并且呈浓度依赖关系。不同化合物对于同一细胞的增殖抑制作用亦各不相同,其中化合物ZT-5对HepG2细胞、Hela细胞和786-O细胞的IC₅₀值仅为14.36 μg/mL、21.90 μg/mL和46.56 μg/mL,远低于其他化合物;猪苓甙体化合物对肿瘤细胞HepG2和Hela的细胞毒活性高于786-O细胞,对正常细胞HKC的细胞毒活性则较小,呈现出明显的细胞选择性。猪苓甙体化合物的抗肿瘤细胞增殖作用明显,拓展了猪苓药物的治疗潜力,对猪苓的临床应用具有重要指导意义。

关键词: MTT法,猪苓,甙体化合物,抗肿瘤

1. 引言

近年来,国内外科学者在天然药物的医疗研究领域有了长足的进步,特别是从天然产物中寻找新的疗效高、副作用小的天然药物吸引了众多研究者的兴趣。甙体药物的治疗效果显著,在上市药物中占有重要地位,新的甙体类化合物不断被分离鉴定,并发现其有显著的生物活性。

猪苓(*Polyporus umbellatus*)作为一种药用真菌,为常用中药,具有增强免疫、利尿、抗癌和抗菌等作用[1-3]。研究表明,猪苓的主要化学成分为多糖类和甙体类[4,5],长期以来国内外学者对猪苓的研究主要集中在猪苓多糖的抗肿瘤和利尿活性,及其化学成分、药理、药效和应用研究等[6-8]。虽然有文献报道猪苓甙体化合物也具有多种生物功能[9,10],但大多数的药理学研究都是使用特征不明显的猪苓粗提物进行,更多的生物活性成分及其可能的潜在作用和机制并没有被评估和明确[11],需要更多的体内、体外和临床研究去证实。因此,本研究通过对猪苓菌核和发酵菌丝甙体成分的分离和鉴定,确定其化学结构,使用MTT法检测其对肝癌细胞HepG2、人子宫颈癌细胞Hela、人肾透明细胞癌细胞786-O和人近端肾小管上皮细胞HKC的增殖抑制作用,初步探讨猪苓甙体化合物的抗肿瘤和细胞毒活性,为后期深入研究奠定基础,也为猪苓的临床开发利用提供科学依据,在甙体药物的应用研究方面具有较强的理论和实践价值。

2. 材料与方法

2.1. 材料

2.1.1. 细胞培养

将人肝癌细胞HepG2、人子宫颈癌细胞Hela、人肾透明细胞癌细胞786-O和人近端肾小管上皮细胞HKC培养于含有10%新生胎牛血清、青霉素(100 μg/mL)以及链霉素(100 μg/mL)的RPMI 1640培养液和含有10%胎牛血清,2 mM L-谷氨酰胺和Earle's BSS, 1.5 g/L NaHCO₃, 0.1 mM

非必需氨基酸,1.0 mM丙酮酸钠的DMEM(高糖)培养基,置于5% CO₂/37°C条件细胞培养箱内进行传代培养,以对数生长期细胞作为实验研究用细胞。

2.1.2. 主要药物与试剂

猪苓甙体化合物(ZT-1、ZT-5.....ZT-6)由西北农林科技大学化学与药学院提供,纯度>98%,4°C冰箱保存,临用前先用DMSO配制成储备液,再用RPMI 1640或DMEM培养基进行稀释。RPMI-1640培养基、DMEM(高糖)培养基、含0.02% EDTA的胰酶和3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)(均为Hyclon公司产品),胎牛血清(杭州四季清生物工程材料有限公司),DMSO(生化纯,Gibco公司);MTT临用前用PBS配成5 mg/mL,其它试剂皆为国产分析纯,实验用水为Mili-Q自制超纯水。

2.1.3. 仪器

Forma 311细胞培养箱(Thermo Scientific公司),Epoch全波长酶标仪(BioTek,美国),ECLIPSE Ti-E活细胞工作站(Nikon,日本)。

2.2. 方法

2.2.1. 细胞复苏与培养

液氮罐中取出冻存细胞置于37°C水浴中快速解冻,并立即转到无菌玻璃离心管中。加入10% FBS以及100 μg/mL青霉素、100 μg/mL链霉素的培养基悬浮细胞,室温1000 rpm离心3分钟,弃上清。用1.5 mL培养基再次悬浮细胞后转入细胞培养瓶,置于5% CO₂的培养箱37°C培养24 h,观察细胞生长情况,然后加入新的含10% FBS培养基继续培养。

2.2.2. 肿瘤细胞增殖抑制实验

收集对数期细胞,分别将HepG2细胞(2.0×10^4 个/孔)、Hela细胞(1.2×10^4 个/孔)、786-O细胞(2.0×10^4 个/孔)和HKC细胞(1.0×10^4 个/孔),接种于96孔培养板中,在含5% CO₂的37°C培养箱中培养24 h后,HepG2细胞、Hela细胞和HKC细胞的对照组加入RPMI-1640完全培养基,786-O细胞的

对照组加入DMEM完全培养基, 100 μ L/孔, 各细胞的实验组分别加入不同浓度的猪苓甾体化合物, 每个浓度设6个平行孔, 其中, HepG2细胞培养液中猪苓甾体化合物的终浓度为240, 120, 60, 30, 15 μ g/mL; Hela细胞、786-O细胞和HKC细胞培养液中猪苓甾体化合物的终浓度为400, 200, 100, 50, 25 μ g/mL。继续温育培养24h, Ti-E倒置显微镜观察细胞形态并拍照后, 各孔分别加入20 μ L MTT, 37°C温育4h, 弃去培养上清, 加入150 μ L DMSO, 室温下将平板置于摇床低速振荡约10min, 酶标仪在490nm波长处测定吸光度 (OD) 值, 计算细胞抑制率以及半数抑制浓度IC₅₀值。

$$\text{细胞抑制率(\%)} = (1 - \text{实验组吸光度值} / \text{对照组吸光度值}) \times 100\%$$

2.3. 统计学分析

本研究所有数据均由SPSS 20.0统计学软件分析处理, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异性比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 作为统计学差异显著性标志。

3. 结果

3.1. 猪苓甾体化合物

本研究使用的甾体化合物均来自猪苓菌核乙醇物系统分离纯化所得, 经过含量、熔点、紫外吸收和核磁检等数据检测分析确认其信息 (见表1)。

表1 猪苓甾体化合物理化信息。

名称	化学名	性状	分子式	结构式
ZT-1	麦角甾醇	淡黄色针状结晶 (石油醚)	C ₂₈ H ₄₄ O	
ZT-2	麦角甾过氧化物	白色结晶 (石油醚)	C ₂₈ H ₄₄ O ₃	
ZT-3	麦角甾-7,22-二烯-3-酮	白色结晶 (甲醇)	C ₂₈ H ₄₄ O	
ZT-4	麦角甾-4,6,8(14), 22-四烯-3-酮	白色固体 (石油醚)	C ₂₈ H ₄₀ O	
ZT-5	猪苓甾酮A、B的混合物	无色针晶 (甲醇)		
ZT-6	麦角甾-7,22-二烯-3,5,6-三醇	白色粉末 (氯仿)	C ₂₈ H ₄₆ O ₃	

3.2. 猪苓甙体化合物对肿瘤细胞增殖的抑制作用

采用MTT法测定猪苓甙体化合物对人肝癌细胞HepG2、人子宫颈癌细胞Hela、人肾透明细胞癌细胞786-O和人近端肾小管上皮细胞HKC增殖的抑制作用。不同化合物在不同的浓度作用细胞后呈现不同程度的细胞增殖抑制作用，随着化合物浓度增加抑制率逐渐增加，并且呈浓度依赖关系。不同猪苓甙体化合物作用细胞24h后的IC50值差异明显（图1）。不同化合物对于同一细胞

的增殖抑制作用亦各不相同，其中化合物ZT-3和ZT-5的细胞毒活性相对较强，尤其是化合物ZT-5对HepG2细胞、Hela细胞和786-O细胞的IC50值仅为14.36 μg/mL、21.90μg/mL和46.56 μg/mL，远低于其他化合物，有统计学差异（ $P<0.05$ ）；此外，猪苓甙体化合物对HepG2细胞和Hela细胞的细胞毒活性高于786-O细胞，而对正常细胞HKC的细胞毒活性则较小，呈现出明显的细胞选择性，有统计学差异（ $P<0.001$ ）。

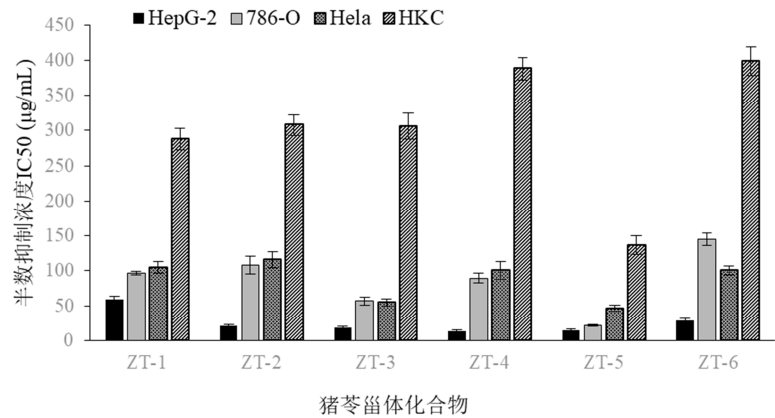


图1 不同猪苓甙体化合物对肿瘤细胞增殖的抑制作用。

3.3. 猪苓甙体化合物对肿瘤细胞形态学影响

光镜下观察猪苓甙体化合物（以ZT-5为例）对不同细胞的形态学影响，浓度100 μg/mL的化合物ZT-5处理24小时，可以看到正常细胞HKC的形态学变化不大，而癌细胞HepG2、Hela和786-O发生明显改变：细胞体积缩小，胞

质嗜碱性，核染色质固缩致密或者核染色质断裂，形成大小不等的胞内核小体。部分细胞核膜消失，核染色质聚集在细胞中央，胞质略嗜碱性，显现分裂期的形态学表现。随着作用时间的延长，核浓缩靠边的细胞增多，并出现核裂解形成凋亡小体，见图2。

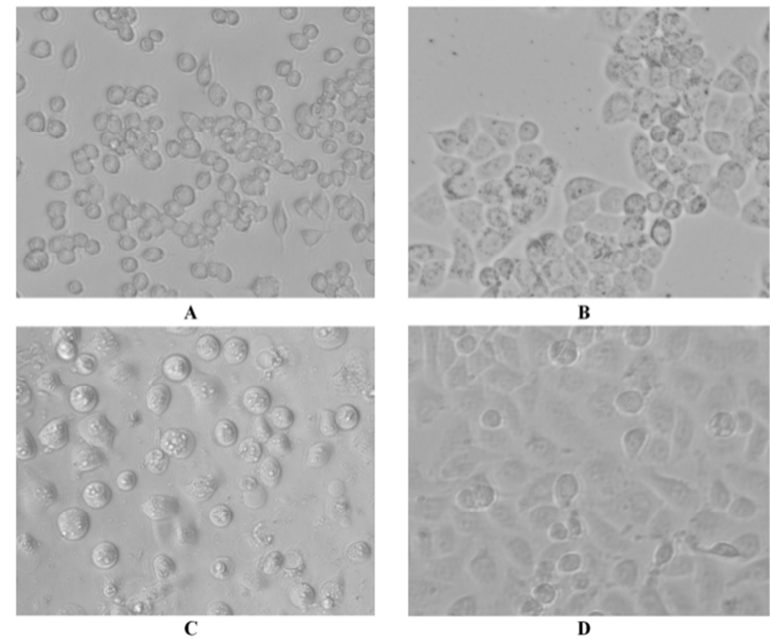


图2 猪苓甙体化合物ZT-5对肿瘤细胞形态的影响（200×）。

注：浓度为100μg/mL的猪苓提取物ZT-5处理24 h后对人肝癌细胞HepG2(A)、人子宫颈癌细胞Hela(B)、人肾透明细胞癌细胞786-O(C)和人近端肾小管上皮细胞HKC(D)的影响。

光镜下观察不同浓度的甾体化合物（以ZT-6为例）对肿瘤细胞（以人宫颈癌细胞Hela为例）的形态学影响，以浓度分别为50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 、200 $\mu\text{g/mL}$ 和400 $\mu\text{g/mL}$ 的化合物ZT-6对人宫颈癌细胞Hela作用24h后，不同程

度的出现细胞萎缩、细胞质膜和核被膜破裂，细胞胞质凝缩、细胞骨架和核纤层解体，形成大小不等的胞内核小体，并呈现出明显的剂量依赖性，见图3。

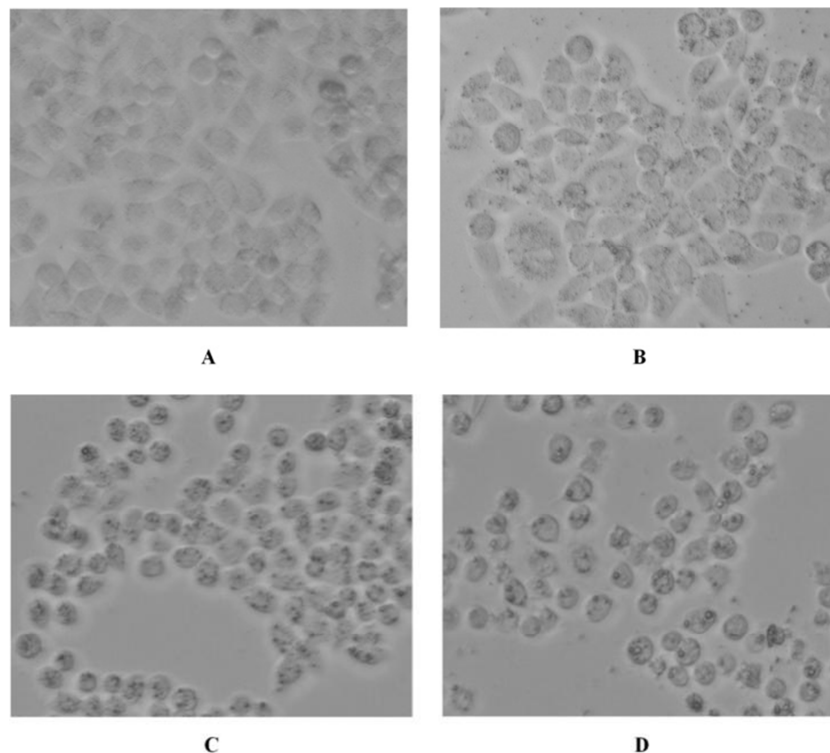


图3 甾体化合物ZT-6对Hela细胞增殖的抑制作用（200 \times ）。

注：浓度分别为50 $\mu\text{g/mL}$ （A）、100 $\mu\text{g/mL}$ （B）、200 $\mu\text{g/mL}$ （C）和400 $\mu\text{g/mL}$ （D）的甾体化合物ZT-6处理24小时对人宫颈癌细胞Hela的影响。

4. 讨论

MTT法检测药物抑制细胞增殖实验是以活细胞代谢物还原剂MTT(噻唑蓝)为基础，其原理是活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能使外源性MTT还原为水不溶性的蓝紫色结晶甲臜（Formazan）并沉积在细胞中，而死细胞无此功能[12]。二甲基亚砜（DMSO）能溶解细胞中的甲臜，用酶标仪测定490nm处的光密度OD值，可间接反映活细胞数量。在一定细胞数范围内，MTT结晶形成的量与细胞数成正比。该方法稳定性和准确性较好、灵敏度高，已广泛用于抗肿瘤药物筛选、细胞毒性试验以及肿瘤放射敏感性测定等[13]。

猪苓具有很好的利尿渗湿作用[14]，对肾功能衰退等疾病具有很好的药理活性[15]，猪苓提取物对肾结石大鼠实验表明猪苓具有明显的利尿、抑制尿结石形成和肾功能保护作用，可用于利尿、防治尿结石及肾功能衰竭[16]。因此，本研究选择正常人近端肾小管上皮细胞HKC来研究药物的选择性，采用MTT法检测前期分离提纯的猪苓甾体化合物（表1）在不同浓度下与HepG2细胞、Hela细胞、786-O细胞和HKC细胞分别作用24h后对细胞增殖的抑制作用，进行猪苓甾体化合物抗肿瘤作用的体外研究，可以解决目前临床单味中药种类众多，准确寻找有效抗肿瘤药

物的重点和难点问题[17,18]，为传统中药的体外抗肿瘤研究提供进一步的实验和理论依据。

研究结果发现，猪苓甾体化合物普遍对肝癌细胞和宫颈癌细胞比较敏感，化合物ZT-3和ZT-5不仅对肝癌细胞HepG2敏感，对宫颈癌细胞Hela和肾癌细胞786-O也有较强作用，而对于正常肾细胞HKC则作用不大（图1），说明甾体化合物的抗肿瘤细胞增殖作用具有选择性。这与报道的猪苓中Ergosta-4,6,8(14),22-tetren-3-one对人肝癌细胞Hep3B、人直肠癌细胞HT-29具有选择性细胞毒性，而对人肝癌细胞Hep G2中等细胞毒活性[11]，对人宫颈癌细胞Hela 229和胃癌细胞AGS的细胞毒性则较弱，但对正常的人体细胞影响较小；以及猪苓中提取的Polyporusterone B对白血病细胞L-1210可通过不同剂量不同程度地抑制细胞生长[19]等研究结果基本一致。

同时，研究表明相同浓度的甾体化合物ZT-5作用不同细胞24h，癌细胞HepG2、Hela和786-O发生明显改变，细胞体积缩小，核染色质固缩致密或者核染色质断裂，形成大小不等的胞内核小体，部分细胞核膜消失，核染色质在细胞中央聚集，呈现细胞分裂期形态学表现，而正常细胞HKC的形态学则变化不大（图2），说明化合物的抗肿瘤作用有明显的细胞选择性；而不同浓度的甾体化合物ZT-6作用Hela细胞24h后导致出现不同程度的细胞萎缩、细胞

质膜和核被膜破裂,细胞胞质凝缩、细胞骨架和核纤层解体,形成大小不等的胞内核小体,并呈现出明显的剂量依赖性(图3)。这和报道的甾体类化合物猪苓酮A可以显著降低雌激素受体(ER)阴性乳腺癌细胞的活力,而对ER阳性的乳腺癌细胞活力没有明显影响,且呈现明显的剂量依赖及时间依赖效应[3],两者有明显的相似性。有报道证实,猪苓可能通过抑制肿瘤细胞增殖,诱导AKT调控的细胞凋亡来抑制人乳腺癌,这可能为未来的乳腺癌抑制提供一种治疗策略[1]。细胞凋亡是多细胞机体维持内环境稳定的重要自我调节机制,诱导细胞凋亡已成为肿瘤治疗的重要点,也成为评估抗癌药物作用能力的重要指标[20]。

5. 结论

猪苓甾体化合物抗肿瘤细胞增殖作用的研究结果显示,不同甾体化合物对不同肿瘤细胞增殖的抑制作用不尽相同,基本呈现出浓度依赖关系,猪苓甾体化合物对肿瘤细胞HepG2和Hela的细胞毒活性相对较高,具有明显的细胞选择性。本研究拓展了猪苓药物的治疗潜力,为其在现代医学中的临床应用提供有益的支持,而进一步对甾体化合物诱导肿瘤细胞凋亡机制以及阻滞细胞传导通路和信使等相关研究,将对猪苓的临床应用具有重要的指导意义。

基金项目

陕西省人民医院科技人才支持计划项目(2021BJ-29);
陕西省重点研发计划项目(2017SF-091)

参考文献

- [1] Tan XL, Guo L, Wang GH. *Polyporus umbellatus* inhibited tumor cell proliferation and promoted tumor cell apoptosis by down-regulating AKT in breast cancer [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 83:526-535.
- [2] Zeng X, Li CX, Huang Y, et al. Effects of *Polyporus umbellatus* and *Polyporus Polysaccharide* on the phagocytosis function and costimulatory molecules expression of peritoneal macrophages in rat bladder cancer [J]. Chin J Immun, 2011, 27(5): 414-418. [曾星,李彩霞,黄羽,等.猪苓及猪苓多糖对膀胱癌模型大鼠腹腔巨噬细胞吞噬和表面免疫相关分子表达的影响[J].中国免疫学杂志,2011,27(5):414-418.]
- [3] Ye M, Liu ZQ, Wang LJ, et al. Apoptotic effects of polyporusterone A on estrogen receptor negative breast cancer cells via regulating Bcl-2/Bax pathway [J]. Chin Trad Herb Drugs, 2018, 49(22): 5334-5338. [叶敏,刘志强,王李俊,等.猪苓酮A通过调节Bcl-2/Bax信号通路诱导雌激素受体阴性的乳腺癌细胞凋亡研究[J].中草药,2018,49(22):5334-5338.]
- [4] Zhou WW, Lin WH, Guo SX. Two new polyporusterones isolated from the sclerotia of *Polyporus umbellatus* [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2007, 55(8): 1148-1150.
- [5] Sun Y, Yasukawa K. New anti-inflammatory ergostane-type ecdysteroids from the sclerotium of *Polyporus umbellatus* [J]. Bioorg Med Chem Lett. 2008, 18(11): 3417-3420.
- [6] He PF, Zhang AQ, Wang XL, et al. Structure elucidation and antioxidant activity of a novel polysaccharide from *Polyporus umbellatus* sclerotia [J]. Int J Biol Macromol, 2016, 82: 411-417.
- [7] Sun Y, Zhou X. Purification, initial characterization and immune activities of polysaccharides from the fungus, *Polyporus umbellatus* [J]. Food Science and Human Wellness, 2014, 3 (2): 73-78.
- [8] Liu XL, Xu Y, Zhang YQ, et al. Pharmacology of *polyporus* polysaccharide against alcoholic fatty liver in rats by lowering blood lipid [J]. Chin Trad Patent Med, 2013, 35(8): 1760-1764. [刘祥兰,徐颖,张钰泉,等.猪苓多糖降血脂抗大鼠酒精性脂肪肝的药理实验研究[J].中成药,2013,35(8):1760-1764.]
- [9] Park HG, Lee TH, Chang F, et al. Synthesis of ergosterol and 5,6-dihydroergosterol glycosides and their inhibitory activities on lipopolysaccharide-Induced nitric oxide production [J]. Bull Korean Chem Soc, 2013, 34 (5): 1339-1344.
- [10] Zhao YY, Chao X, Zhang Y, et al. Cytotoxic steroids from *Polyporus umbellatus* [J]. Planta Medica, 2010, 76 (15): 1755-1758.
- [11] Zhao YY. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and quality control of *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries: a review [J]. J Ethnopharmacol. 2013, 149 (1): 35-48.
- [12] Pi ZM. Immunology and immunological detection technology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2005. [皮至明,免疫学及免疫学检测技术[M].北京:高等教育出版社,2005.]
- [13] Kim TH, Kim JS, Kim ZH, et al. Khz (fusion product of *Ganoderma lucidum* and *Polyporus umbellatus* mycelia) induces apoptosis in human colon carcinoma HCT116 cells, accompanied by an increase in reactive oxygen species, activation of caspase 3, and increased intracellular Ca^{2+} [J]. J Med Food, 2015, 18 (3): 332-336.
- [14] Chen XM, Tian LX, Guo SX. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of sclerotia of *Polyporus umbellatus*[J]. Mycosystema, 2017, 36(1): 35-47. [陈晓梅,田丽霞,郭顺星.猪苓化学成分及药理活性研究进展[J].菌物学报,2017,36(1):35-47.]
- [15] Liu RJ, Zhang Y, Tian W, et al. Study on the hygroscopic effect of *polyporus umbellata* and its pharmacological activity[J]. Edible Fungi of China, 2019, 38 (1): 68-71. [刘瑞娟,张叶,田伟,刘亮.猪苓的利水渗湿作用及其药理活性研究[J].中国食用菌,2019,38(1):68-71.]
- [16] Liu HQ, Guo YQ, Xiao P, et al. Research and application of *Polyporus umbellata*[J]. Guangzhou chemical industry, 2010, 38(10): 40-41. [刘汉卿,郭勇全,肖萍,等.猪苓的研究与应用[J].广州化工,2010,38(10):40-41.]
- [17] Liang XN, Zhang XS, Teng HL. The anti-tumor effect Chinese medicine and its active ingredient [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2013, 24(1): 119-122. [梁欣娜,张兴桑,滕红丽.中药及其有效成分抗肿瘤作用研究[J].时珍国医国药,2013,24(1):119-122.]

- [18] Yang Y, Hu WF. MTT method for detecting the anti-tumor effect of compound dachoumu jiangzi soft capsule [J]. J of China Three Gorges Univ (Natural Sciences), 2017, 39 (6): 15-17. [杨燕,胡万福.MTT法检测复方大果木姜子软胶囊抗肿瘤作用[J].三峡大学学报(自然科学版), 2017, 39 (6): 15-17.]
- [19] Sekiya N, Hikami H, Nakai Y, et al. Inhibitory Effects of Triterpenes Isolated from Chuling on Free Radical-Induced Lysis of Red Blood Cells [J]. Biol Pharm Bull, 2005, 28 (5): 817-821.
- [20] Fan HJ, Liang Y, Jiang B, et al. Curcumin inhibits intracellular fatty acid synthase and induces apoptosis in human breast cancer MDA-MB-231 cells [J]. Oncol Rep, 2016, 35 (5): 2651-2656.

作者简介

张海洋（1975-），男，陕西宝鸡人，高级工程师，主要从事生物医药研究工作。

郭华（1977-），女，陕西西安人，主管检验师，主要从事临床检验等工作。