

姜黄素与甘草次酸联用对肝癌 HepG-2 细胞增殖的抑制作用

常明向, 吴梅梅, 李瀚旻*

湖北中医药大学附属医院, 湖北 武汉 430061

摘要: **目的** 研究姜黄素与甘草次酸单独、联合用药对肝癌细胞 HepG-2 增殖的抑制作用, 探讨姜黄与甘草配伍的合理性和科学性。**方法** 不同浓度姜黄素 (10.00、5.00、2.50、1.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、甘草次酸 (20.0、10.0、5.0、2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 及两者对应浓度联合应用处理肝癌 HepG-2 细胞不同时间后 (8、16、24 h), 采用 CCK-8 法检测细胞增殖抑制率; 姜黄素 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、甘草次酸 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及两者联合应用处理 HepG-2 细胞 24 h 后, 用流式细胞仪检测细胞凋亡及细胞周期变化情况。**结果** 姜黄素、甘草次酸及联合用药对 HepG-2 细胞增殖均具有抑制作用, 呈剂量相关性和时间相关性, 且两药联合呈现相加或增强的作用; 姜黄素、甘草次酸均能诱导 HepG-2 细胞凋亡, 联合用药后诱导凋亡作用更强; 姜黄素、甘草次酸及联合用药对 HepG-2 细胞均具有 G2 期阻滞作用。**结论** 联合用药具有比单用姜黄素或甘草次酸更强的抑制 HepG-2 细胞增殖、诱导细胞凋亡作用, 姜黄与甘草配伍具有合理性和科学性。

关键词: 姜黄素; 甘草次酸; 联合用药; 抗肿瘤; 凋亡; 细胞周期

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 6376(2017)01 - 0042 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.01.007

Inhibition on proliferation of hepatoma HepG-2 cell treated with Curcumin combined with Glycyrrhetic acid

CHANG Ming-xiang, WU Mei-mei, LI Hang-min

Affiliated hospital of Hubei University of Chinese medicine, Wuhan 430061, China

Abstract: Objective To study the inhibitory effect of Curcumin combined with Glycyrrhetic acid on proliferation of HepG-2 cell, and probe the reasonability and scientificity of curcuma combined with glycyrrhiza. **Methods** The CCK-8 method was used to test the proliferation inhibition rate of HepG-2 cells after treated with Curcumin (10.00, 5.00, 2.50, and 1.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Glycyrrhetic acid (20.0, 10.0, 5.0, and 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and Curcumin combined with Glycyrrhetic acid in corresponding concentration for different time (8, 16, or 24 h). Flow cytometry was used to detect the cell apoptosis and the cell cycle of HepG-2 cells after treated with Curcumin (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Glycyrrhetic acid (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and Curcumin combined with Glycyrrhetic acid in corresponding concentration for 24 h. **Results** Curcumin, Glycyrrhetic acid and drug combination obviously inhibited the proliferation of HepG-2 cells in a time- and concentration-dependent manner, the effects of combination group was more stronger and showed additive effect or synergistic effect. The apoptosis rate of HepG-2 cells was significantly increased after treated with three groups of drug, combination group showed additive effect; Curcumin, Glycyrrhetic acid and the drug combination showed significant G2 arrest. **Conclusion** Curcumin combined with Glycyrrhetic acid has positive effect on inhabiting the proliferation and promoting apoptosis of HepG-2 cell. Curcuma combined with glycyrrhiza possess reasonability and scientificity.

Key words: Curcumin, Glycyrrhetic acid, drug combination, anti-tumor activity; apoptosis; cell cycle

肝癌是世界上最常见的第五大恶性肿瘤, 第三大常见的癌症致死原因, 在我国已上升为恶性肿瘤的第 2 位, 每年 13 万人死于肝癌, 占全球肝癌死亡

总数的 42%^[1]。由于大部分病例发现时已是晚期, 失去手术时机, 目前采用放化疗治疗的疗效欠佳, 且毒副反应较大, 中医药一直是肝癌综合防治的重

收稿日期: 2016-08-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81274147)

作者简介: 常明向 (1966—), 男, 博士, 主任药师, 主要从事中药新剂型研究。Tel: (027)88929180 E-mail: changmingx@163.com

*通信作者: 李瀚旻 (1956—), 男, 博士, 主任医师, 教授, 主要从事肝病基础及临床研究。Tel: (027)88929180 E-mail: Lihanmin68.com

要研究方向, 近些年进展较快。地五养肝胶囊(鄂药制字 Z20113160)是基于“补肾生髓成肝”肝癌三级预防方案的主要中药制剂^[2], 前期研究表明, 地五养肝胶囊对神经-内分泌-免疫-肝再生调控网络具有多组分、多途径、多环节和多靶点的整合调节作用, 其疗效机制涉及下丘脑-垂体-肝轴、神经-内分泌-免疫网络、骨髓干细胞转化为肝脏细胞、肝内微环境等多个途径与环节, 可能通过影响与肝再生微环境、肝癌发生发展密切相关的 Wnt、MAPK、TGF- β 、Jak-STAT、Toll 样受体等多个的信号通路基因表达发挥作用^[3-6]。姜黄素及甘草次酸是地五养肝胶囊的主要有效成分, 本研究采用细胞药理学实验方法观察姜黄素与甘草次酸联用抑制肝癌细胞 HepG-2 的增殖、诱导其凋亡的作用, 探讨姜黄与甘草配伍的合理性和科学性。

1 材料

1.1 药品及试剂

姜黄素(杭州天草科技有限公司, 批号 20130625, 质量分数>98%); 甘草次酸(湖北远大药业, 批号 20130217, 质量分数>98%); 1640 培养基、青霉素-链霉素双抗(北京海克隆生物化学制品有限公司); 四季青无支原体胎牛血清(浙江天杭生物科技股份有限公司); 胰酶(美国 Gibco 公司, 批号 25200-056); CCK-8 试剂盒(日本同仁化学研究所, 批号 CK04); Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒(上海贝博生物技术有限公司, 批号 BB-4101-1); 细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒(碧云天生物技术公司, 批号 C1052)。

1.2 主要仪器

HF90 细胞培养箱(力康生物医疗科技控股有限公司); 5424 离心机(艾本德中国有限公司); Cytotflex 流式细胞仪(中国贝克曼库尔特商贸有限公司); F50 酶标仪(上海帝肯贸易有限公司)。

1.3 细胞株

人肝癌细胞株 HepG-2, 购自于武汉大学典藏中心, 冻存保种。

2 方法

2.1 CCK-8 检测细胞增殖抑制

取对数期生长的 HepG-2 细胞, 胰酶消化后调整为 5×10^4 /mL, 96 孔板每孔加入 100 μ L 细胞悬液(5 000 个细胞, 含血清), 培养过夜。用 1640 培养基(不含血清)将药物倍比稀释至一系列浓度: 姜黄素为 10.00、5.00、2.50、1.25 μ g/mL; 甘草次酸

为 20.0、10.0、5.0、2.5 μ g/mL; 姜黄素+甘草次酸为 (10.00+20.0)、(5.00+10.0)、(2.50+5.0)、(1.25+2.5) μ g/mL, 对照组为不加药处理的正常细胞。吸弃 96 孔板中的细胞培养基, 迅速加入 100 μ L 含有药物的培养基; 每个药物浓度设置 5 个复孔。加药处理 8、16、24 h 后, 吸弃培养基; 加入含有 10% CCK-8 的 1640 培养基, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min 后, 检测 450 nm 吸光度(A)值, 计算肿瘤细胞的增殖抑制率。

$$\text{增殖抑制率} = 1 - A_{\text{实验}}/A_{\text{对照}}$$

采用金氏公式计算药物联用效果^[7]: $q = E_{a+b}/(E_a + E_b - E_a \times E_b)$ (q : 增效指数; E_{a+b} : 实测合并效应; E_a 、 E_b 分别为 A、B 单用之效应), $0.85 < q < 1.15$ 为相加(+); $1.15 < q < 20$ 为增强(++); $0.55 < q < 0.85$ 为拮抗。

2.2 Annexin V/PI 双染法检测细胞凋亡

取对数期生长的 HepG-2 细胞, 胰酶消化后调整为 5×10^5 /mL, 6 孔板每孔加入 2 mL 细胞悬液(1×10^6 个细胞, 含血清), 培养过夜; 用 1640 培养基(不含血清)将药物稀释至一定的浓度: 姜黄素 5 μ g/mL; 甘草次酸 10 μ g/mL, 姜黄素+甘草次酸为 (5+10) μ g/mL, 对照组为不加药处理的正常细胞。吸弃培养基, 加入新鲜配制的含有相应药物的培养基; 培养 24 h 后, 吸取各组细胞的培养上清至 1.5 mL 离心管中, 3 000 r/min 离心 5 min 收集上清中的细胞; 各孔吸弃上清后, 加入 0.5 mL 胰酶, 消化为单细胞后加入 0.5 mL 完全培养基终止消化; 吹打分散细胞后, 转移细胞悬液至含上清细胞的 1.5 mL 离心管中, 3 000 r/min 离心 5 min 收集细胞。吸弃上清液, 加入 1 mL 预冷的磷酸缓冲液(PBS)重悬细胞, 3 000 r/min 离心 5 min, 去上清; 重复 1 次; 用 400 μ L Annexin V 结合液悬浮细胞, 加入 5 μ L Annexin V-FITC 染色液, 混匀后 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 15 min; 加入 10 μ L PI 染色液, 混匀后 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 5 min; 流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

2.3 流式细胞仪测定细胞周期

细胞培养、种板、分组给药、收集、PBS 清洗操作均同“2.2”项。PBS 清洗 2 次后, 离心得到细胞沉淀, 加入 250 μ L 预冷的 PBS 重悬, 然后缓慢加入 750 μ L 预冷的无水乙醇, 4 $^{\circ}$ C 固定 2 h; 3 000 r/min 离心 5 min, 去上清液, 然后加入 1 mL 预冷的 PBS 重悬细胞, 之后 3 000 r/min 离心 5 min 收集细胞; 吸弃 PBS, 加入 500 μ L 碘化丙啶染色

液, 37 °C 避光孵育 30 min; 流式细胞仪检测细胞周期。

2.4 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 CCK-8 检测细胞增殖抑制结果

姜黄素、甘草次酸及其联合应用相应浓度组对

HepG-2 细胞的增殖抑制作用结果如表 1、2 所示。随姜黄素、甘草次酸及联合用药浓度的增加, 细胞增殖抑制作用增强, 呈剂量相关性; 随着时间的延长, 姜黄素、甘草次酸及其联合用药相应浓度组对 HepG-2 细胞的增殖抑制作用增强, 呈时间相关性。由 q 值结果可知, 联合用药组较相应浓度的姜黄素或甘草次酸组对 HepG-2 细胞的增殖抑制作用均呈现相加或增强作用。

表 1 姜黄素、甘草次酸及姜黄素+甘草次酸不同培养时间对 HepG-2 细胞增殖抑制率 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Growth inhibition rate of Curcumin, Glycyrrhetic acid and Curcumin combining with Glycyrrhetic acid on hepatoma HepG-2 cell in different culture time ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	增殖抑制率/%		
		8 h	16 h	24 h
姜黄素	10.00	29.28 ± 1.46	45.96 ± 2.66	50.60 ± 3.59
	5.00	6.39 ± 0.32	12.39 ± 1.57	23.79 ± 2.14
	2.50	3.02 ± 0.39	5.74 ± 0.97	8.76 ± 0.82
	1.25	1.38 ± 0.21	2.28 ± 0.49	5.60 ± 0.68
甘草次酸	20.0	27.27 ± 2.42	78.61 ± 3.81	83.09 ± 5.12
	10.0	15.16 ± 1.87	40.71 ± 2.65	54.89 ± 3.47
	5.0	6.78 ± 0.83	25.18 ± 3.40	27.92 ± 2.59
	2.5	4.00 ± 0.91	17.92 ± 1.90	21.65 ± 2.40
姜黄素+甘草次酸	10.00+20.0	45.27 ± 1.78 ^{*#}	82.08 ± 5.6 [*]	87.02 ± 2.73 [*]
	5.00+10.0	24.03 ± 1.24 ^{*#}	63.30 ± 4.42 ^{*#}	72.28 ± 4.50 ^{*#}
	2.50+5.0	16.23 ± 1.15 ^{*#}	43.16 ± 4.50 ^{*#}	37.73 ± 3.11 ^{*#}
	1.25+2.5	7.47 ± 1.03 ^{*#}	23.10 ± 0.66 ^{*#}	23.45 ± 2.78 [*]

与姜黄素同剂量组比较: ^{*} $P < 0.01$; 与甘草次酸同剂量组比较: [#] $P < 0.01$
^{*} $P < 0.01$ vs Curcumin at same dose group; [#] $P < 0.01$ vs Glycyrrhetic acid at same dose group

表 2 姜黄素+甘草次酸不同培养时间的 q 值

Table 2 q value of Curcumin combining with Glycyrrhetic acid in different culture time

组别	剂量/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	q 值		
		8 h	16 h	24 h
姜黄素+甘草次酸	10.00+20.0	0.93 (+)	0.93 (+)	0.95 (+)
	5.00+10.0	1.10 (+)	1.31 (++)	1.10 (+)
	2.50+5.0	1.69 (++)	1.46 (++)	1.10 (+)
	1.25+2.5	1.41 (++)	1.17 (++)	0.90 (+)

3.2 细胞凋亡作用结果

姜黄素、甘草次酸、姜黄素与甘草次酸联合用药对 HepG-2 细胞的凋亡作用见图 1、表 3。图 1 中, 左下角 Q1-LL 象限表示正常细胞, 右下角 Q1-LR 象限表示早期凋亡细胞, 右上角 Q1-UR 象限表示晚期凋亡细胞, 左上角 Q1-UL 表示死亡细胞。姜黄素、甘草次酸、姜黄素+甘草次酸组与对照组比较, 早期、晚期及总凋亡率均明显增强 ($P < 0.01$)。姜黄素与甘草次酸联合用药组较单药组早期、晚期及总

凋亡率均明显增强 ($P < 0.01$)。

3.3 药物对 HepG-2 细胞周期的影响

细胞周期包括间期和分裂期 (M 期) 两个阶段。间期又分为 DNA 合成前期 (G1 期)、DNA 合成期 (S 期)、DNA 合成后期 (G2 期)。姜黄素、甘草次酸、姜黄素与甘草次酸联合用药作用 HepG-2 细胞 24 h 后, 对 HepG-2 细胞周期的作用见图 2、表 4。与对照组比较, 姜黄素、甘草次酸、姜黄素+甘草次酸组对 HepG-2 细胞 G1 期占比明显下降 ($P <$

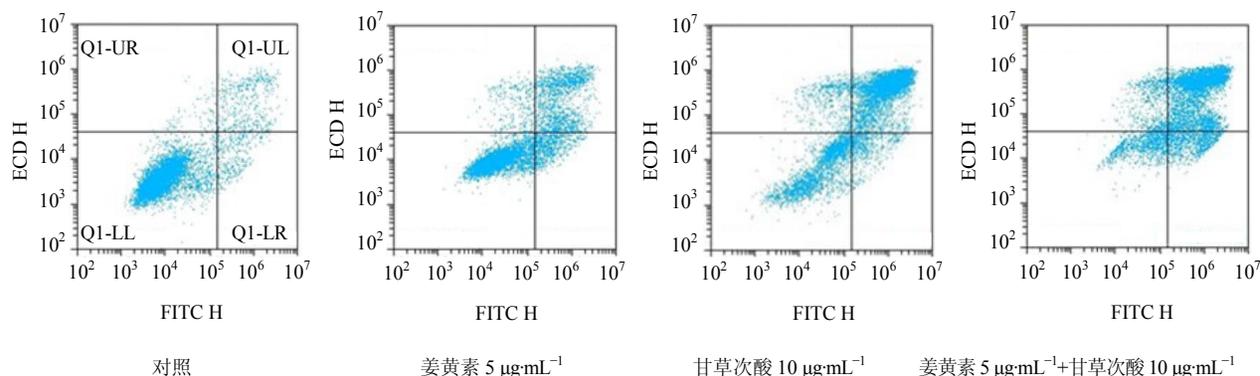


图1 姜黄素、甘草次酸、姜黄素与甘草次酸联合用药对 HepG-2 细胞凋亡的作用

Fig. 1 Cell apoptosis of Curcumin, Glycyrrhetic acid and Curcumin combining with Glycyrrhetic acid on hepatoma HepG-2 cell

表3 姜黄素、甘草次酸及姜黄素+甘草次酸组对 HepG-2 细胞凋亡作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Cell apoptosis of Curcumin, Glycyrrhetic acid, and Curcumin combining with Glycyrrhetic acid on hepatoma HepG-2 cell ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	早期凋亡率/%	晚期凋亡率/%	合计/%
对照	—	3.84 ± 0.15	5.21 ± 0.30	9.11 ± 0.25
姜黄素	5	$9.65 \pm 0.51^*$	$18.98 \pm 0.96^*$	$29.36 \pm 0.81^*$
甘草次酸	10	$7.39 \pm 0.27^*$	$55.16 \pm 2.42^*$	$61.78 \pm 2.15^*$
姜黄素+甘草次酸	5+10	$13.49 \pm 0.83^{*#}$	$67.82 \pm 3.13^{*#}$	$82.05 \pm 3.54^{*#}$

与对照组比较: * $P < 0.01$; 与姜黄素、甘草次酸组比较: # $P < 0.01$

* $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.01$ vs Curcumin group and Glycyrrhetic acid group

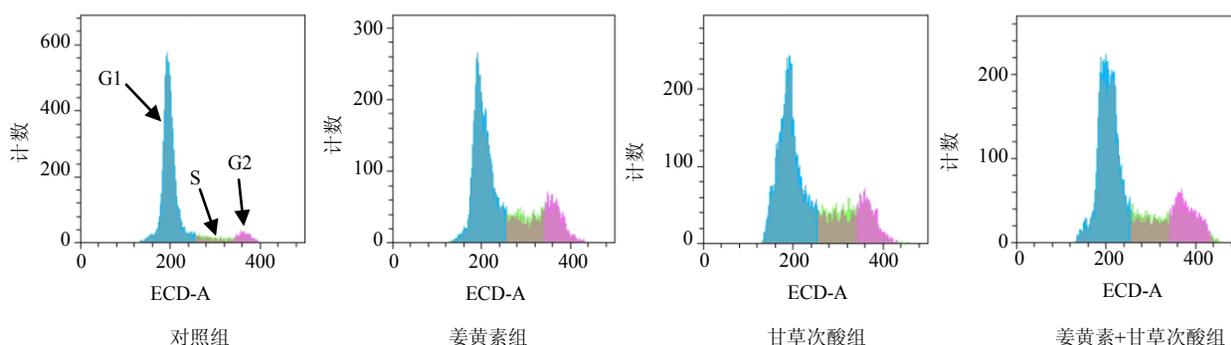


图2 姜黄素、甘草次酸、姜黄素与甘草次酸联合用药对 HepG-2 细胞周期的影响

Fig. 2 Influence of cell cycle of Curcumin, Glycyrrhetic acid and Curcumin combining with Glycyrrhetic acid on hepatoma HepG-2 cell

0.01), G2 期占比明显升高 ($P < 0.01$)。与单药组比较, 联合用药组 G1 期占比没有差异, G2 期占比明显升高 ($P < 0.05$)。说明姜黄素、甘草次酸、姜黄素与甘草次酸联合用药均具有 G2 期阻滞作用, 此外, 3 组药物作用细胞后, G1 期峰形也均出现了明显的变化, 变宽和钝。

4 讨论

姜黄、甘草均是常用药食同源中药, 生物学效

应广泛, 毒副反应较低, 且均具有一定的抗肿瘤作用, 研究姜黄配伍甘草的合理性及科学性具有重要的临床价值。

姜黄素是姜黄的主要活性成分。姜黄素类化合物具有良好的抗氧化、抗肿瘤、抗艾滋病毒、抗炎、抗氧化、降血脂、抗动脉粥样硬化等多种生物活性^[8], 且毒性很低, 被广泛应用于食品添加剂、食品色素和医药领域中。姜黄素对多种肿瘤细胞的产生、

表4 姜黄素、甘草次酸及姜黄素+甘草次酸组对 HepG-2 细胞周期的作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 4 Effect on cell cycle of Curcumin, Glycyrrhetic acid and Curcumin combining with Glycyrrhetic acid on hepatoma HepG-2 cell ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	G1 期/%	G2 期/%
对照	—	87.51 \pm 4.15	6.21 \pm 0.29
姜黄素	5	64.38 \pm 2.51*	15.97 \pm 1.56*
甘草次酸	10	66.77 \pm 2.90*	14.43 \pm 1.74*
姜黄素+甘草次酸	5+10	65.12 \pm 2.83*	19.12 \pm 1.96*#

与对照组比较: * $P < 0.01$; 与姜黄素、甘草次酸组比较: # $P < 0.01$

* $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.01$ vs Curcumin group and Glycyrrhetic acid group

增殖、转移均具有抑制作用,如肝癌、结肠癌、乳腺癌等。因大量试验证明姜黄素具有明确的抗肿瘤活性,且抗癌谱较广,毒副作用小,美国国立肿瘤所已将其列为第三代癌化学预防药^[9]。

甘草次酸是甘草的主要有效成分之一,是一种齐墩果烷型五环三萜化合物。近年来研究发现,甘草次酸对于肝癌、肺癌、宫颈癌、胃癌、结肠癌及白血病等具有广泛的抑制作用,并且对于正常体细胞的毒性较小^[10]。研究还发现其具有较高的肝组织分布特征和肝细胞靶向性,使其不仅可作为药物载体,也可与药物产生协同作用。

姜黄与甘草配伍的合理性及科学性一直缺乏深入地研究,本研究采用细胞药理学方法,运用姜黄的主要有效成分(姜黄素)与甘草的主要有效成分(甘草次酸)对比观察二者合用增强抑制肝癌细胞 HepG-2 的增殖和诱导其凋亡的作用。

细胞培养初期采用含血清培养基,加药培养时用不含血清的培养基,因为在进行实验时发现甘草次酸采用含血清培养基稀释后没有观察到细胞增殖抑制作用,分析其原因可能是甘草次酸与血清蛋白结合而不能发挥细胞增殖抑制作用。研究表明甘草次酸的人血浆蛋白结合率为 98.4%,其结合率不受药物浓度的影响,因血浆蛋白浓度变化而改变^[11]。因而,在用甘草次酸进行细胞实验时,宜采用不含血清的培养基。

周京辉等^[12]采用 MTT 法,研究姜黄素、甘草次酸以及姜黄素和甘草次酸联合用药分别与人肝癌细胞株 HepG-2、人乳腺癌细胞株 MCF-7、人肺癌细胞株 A549 细胞作用 24 h,结果表明姜黄素和甘草次酸联合用药在 3 种癌细胞的增殖抑制方面表现出协同作用。在本研究条件下,姜黄素、甘草次酸及联合用药对 HepG-2 细胞增殖抑制作用呈剂量相

关性和时间相关性,剂量越大,抑制作用越强;相同浓度,药物作用时间越长,抑制作用越强。姜黄素联合甘草次酸对 HepG-2 细胞的增殖抑制作用呈现相加或增强的作用,说明姜黄素与甘草次酸联合应用可增强抗肝癌 HepG-2 细胞的作用。

恶性肿瘤细胞具有快速、无限增殖能力,抑制肿瘤细胞的增殖、促进凋亡已成为目前抗肿瘤治疗的热点之一。细胞凋亡是在基因调控下细胞的自我消亡过程。研究^[13]表明,肿瘤的发生不仅与细胞增殖有关,而且与细胞的抗凋亡密切相关。对 HepG-2 细胞的凋亡诱导作用表明,姜黄素、甘草次酸、姜黄素+甘草次酸组与对照组比较,早期、晚期及总凋亡率均明显增强,且联合用药组较单药组早期、晚期及总凋亡率也均明显增强。对 HepG-2 细胞周期的影响表明,姜黄素、甘草次酸、姜黄素与甘草次酸联合用药组均具有 G2 期阻滞作用。文献^[14-15]也报道了姜黄素对 HepG-2 细胞 G2 期阻滞作用,但甘草次酸对 HepG-2 细胞 G2 期阻滞作用尚未见报道。

临床化疗药物使用表明,单一抗肿瘤药物应用往往达不到好的效果,为此临床常采用多药联合治疗。合理的多药联用往往可以达到增强疗效,减轻毒副作用的。本实验研究结果显示,姜黄素与甘草次酸均为中药活性成分,毒副作用小,均具有良好的抗 HepG-2 肿瘤细胞株的作用,而且,两者联合用药增强了对人肝癌 HepG-2 细胞的增殖抑制和诱导凋亡的作用,这一研究结果为两者临床联合应用提供了依据,同时也间接验证了姜黄与甘草配伍的合理性及科学性。

参考文献

- [1] Chen J G, Zhang S W. Liver cancer epidemic in China: past, present and future [J]. Semin Cancer Biol, 2011, 21(1): 59-69.

- [2] 李瀚旻. 基于“补肾生髓成肝”的肝癌三级预防方案的构建与应用 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2015, 25(6): 369-372.
- [3] Shen X, Cheng S, Peng Y, et al. Attenuation of early liver fibrosis by herbal compound “Diwu Yanggan” through modulating the balance between epithelial-to-mesenchymal transition and mesenchymal-to-epithelial transition [J]. BMC Complement Altern Med, 2014, 14: 418.
- [4] Zhao B B, Li H M, Gao X, et al. The herbal compound “diwu yanggan” modulates liver regeneration by affecting the hepatic stem cell microenvironment in 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy rats [J]. Evid Based Complement Alternat Med, doi: 10.1155/2015/468303. Epub 2015 Jan 5.
- [5] 李瀚旻, 赵宾宾, 高翔, 等. “补肾生髓成肝”改善肝再生微环境防治肝癌的作用及机制 [J]. 湖北中医药大学学报, 2015, 17(1): 5-8.
- [6] Li H M. Microcirculation of liver cancer, microenvironment of liver regeneration, and the strategy of chinese medicine [J]. Chin J Integr Med, 2016, 22(3): 163-167.
- [7] 金正均. 合并用药中的相加 [J]. 中国药理学报, 1980, 1(2): 70-76.
- [8] 张峰, 陈敬清, 岑娟, 等. 具有高水解稳定性的姜黄素类似物的抗多药耐药肿瘤作用研究 [J]. 中草药, 2014, 45(12): 1736-1742.
- [9] 韦星船, 刘自力, 何雄, 等. 姜黄素类化合物抗肿瘤活性研究进展 [J]. 广州化工, 2010, 38(12): 48-51.
- [10] 高振北, 康潇, 许传莲, 等. 甘草次酸抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(22): 3213-3216.
- [11] 吴锡铭. 甘利欣一种新型抗肝炎剂的研究 [J]. 现代应用药学, 1995, 12(4): 52-53.
- [12] 周京辉, 魏晓翠, 曾志涛. 姜黄素与甘草次酸联合用药的体外抗肿瘤作用 [J]. 北方药学, 2011, 8(4): 7-9.
- [13] 曾繁余, 刘菁, 袁桂峰, 等. 姜黄素对 HepG-2 细胞增殖与凋亡的影响 [J]. 中国普通外科杂志, 2013, 22(4): 474-478.
- [14] 王牡, 阮余霞, 彭元, 等. 姜黄素对人肝癌 HepG2 细胞毒性的分析 [J]. 分析测试学报, 2011, 30(2): 121-127.
- [15] 方丽, 周进. 姜黄素对人肝癌细胞株 HepG2 凋亡和细胞周期的影响 [J]. 四川医学, 2009, 30(4): 458-459.