

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.16.006

黄桷树叶总黄酮提取物对 A549 细胞的保护作用研究*

汪洋¹, 胡魁², 陈玲¹, 苏燕³, 马佳卉⁴, 肖虹⁵, 白群华^{5△}

(1. 重庆医科大学实验教学中心, 重庆 401331; 2. 广东省工伤康复医院职业健康检查科, 广州 510970;
3. 重庆医科大学公共卫生与管理学院, 重庆 400016; 4. 重庆医科大学 10 级预防医学, 重庆 400016;
5. 重庆医科大学公共卫生与管理学院卫生检验教研室, 重庆 400016)

[摘要] **目的** 探索黄桷树叶总黄酮的提取和初步了解提取物是否具有细胞损伤的保护作用, 为黄桷树叶药用价值的研究提供依据。**方法** 采用乙醇浸提法, 提取黄桷树叶中的总黄酮, 以芦丁为标准计算提取效率。以鱼藤酮诱导 A549 人肺腺癌细胞损伤为模型, 研究提取物对细胞活力、细胞形态、活性氧的产生、凋亡率的影响作用。**结果** 对黄桷树叶中的总黄酮, 60% 的乙醇的提取效率为 5.02%; 提取物 32 mg/L 可明显抑制 100 μg/L 鱼藤酮诱导的细胞活力的降低、细胞形态的改变、活性氧的产生和凋亡。**结论** 乙醇浸提法能用于提取黄桷树叶中的总黄酮; 提取物具有保护鱼藤酮诱导的 A549 细胞损伤的作用; 黄桷树叶具有进一步研究开发其药用价值的潜力。

[关键词] 黄桷树叶; 总黄酮提取物; A549 人肺腺癌细胞; 活性氧; 细胞凋亡

[中图分类号] R961 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2017)16-2178-05

Protective effects of total flavonoids extraction from ficus lacor leaves on A549 cells*

Wang Yang¹, Hu Kui², Chen Ling¹, Su Yan³, Ma Jiahui⁴, Xiao Hong⁴, Bai Qunhua^{4△}

(1. Experimental Teaching Center, Chongqing Medical University, Chongqing 401331, China; 2. Department of Occupational Health Examination, Guangdong Provincial Hospital of Occupational Injury Rehabilitation, Guangzhou, Guangdong 510970, China; 3. Postgraduate Student of Master, Grade 2014, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 4. Teand Researching Section of Health Inspection, Preventive Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 5. Teand Researching Section of Health Inspection, School of Public Health and Management, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the extraction method of total flavonoids from the leaves of ficus lacor and the protective effects of extraction on the cellular damage to provide a basis for the research on the pharmaceutical value of ficus lacor leaves. **Methods** The ethanol extraction method was adopted to extract the total flavonoids in the leaves of ficus lacor and the extraction efficiency was calculated with rutin as the standard. The rotenone induced human lung adenocarcinoma cellular damage served as the model, then the influences of the extraction on the cellular viability, cellular morphology, production of reactive oxygen species (ROS) and apoptosis were researched. **Results** The extraction efficiency of total flavonoids in the leaves of ficus lacor by 60% ethanol was 5.02%; the extraction at the concentration of 32 mg/L could significantly inhibit the decrease of cell viability, cellular shape change, ROS production and apoptosis of A549 cells induced by 100 μg/L rotenone. **Conclusion** The ethanol extraction method can be used to extract the total flavonoids in the leaves of ficus lacor and the extraction has the protective effects on the A549 cellular damage induced by rotenone, the leaves of ficus lacor have the potential for further researching its pharmaceutical value.

[Key words] leaf of Ficus Lacor; total flavonoids extraction; A549 human lung adenocarcinoma cell; reactive oxygen species; cell apoptosis

黄桷树(又名黄葛树、马尾榕)属高大落叶乔木, 为桑科榕属植物, 原产我国华南和西南地区, 尤以重庆、四川、湖北等地最多。《全国中草药汇编》和《中华本草》中有记载黄桷树的根、叶均可入药。但现代对黄桷树的药用价值研究不多, 尚无对其药效进行系统科学的研究报道^[1-3]。黄酮类化合物是榕属植物的重要药用成分^[1]。现代研究表明, 黄酮类化合物具有抗自由基、抗衰老、抗癌及降压、降血脂、抗心律失常、抗骨质疏松等多种药理作用, 并且黄酮类化合物多安全、无毒, 使其在医药、食品领域具有广阔的应用前景^[4]。为了研究黄桷树叶黄酮类化

合物存在的情况, 本文利用乙醇浸提法提取了黄桷树叶黄酮类化合物。鱼藤酮是常用的杀虫剂, 是线粒体复合酶 1 阻断剂, 可对 A549 人肺腺癌细胞(A549 细胞)造成氧化损伤^[5-6]。为了研究所取得黄桷树叶提取物的药效, 作者初步测定了所得黄桷树叶提取物对鱼藤酮所致 A549 细胞氧化损伤的保护作用。本研究结果表明, 乙醇浸提法可用于提取黄桷树叶黄酮类化合物, 且所得提取物对鱼藤酮导致的 A549 细胞的活性氧(ROS)的产生和凋亡具有抑制作用, 可能具有抗细胞氧化损伤的药理作用, 值得进一步研究开发。现将研究结果报道如下。

* 基金项目: 重庆市科委前沿与应用基础研究计划项目基金(cstc2014jcyjA10019); 重庆医科大学大学生科学研究与创新项目基金(201306); 重庆市创新创业计划项目(201310631007)。 作者简介: 汪洋(1970—), 博士, 副教授, 主要从事遗传毒理研究。 △ 通信作者, E-mail: 1253811562@qq.com。

1 材料与方 法

1.1.1 材料 黄桷树叶,5 月初采于重庆医科大学校内;A549 细胞来源于重庆医科大学基础医学院细胞与分子生物教研室;DMEM 高糖培养基和胎牛血清购自美国 GIBCO 公司;胞内活性氧(ROS)荧光探针 2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐(2',7'-DCFH-DA)购于碧云天生物技术研究所;细胞凋亡检测试剂盒购于南京凯基科技发展有限公司;MTT、DMSO 购自 sigma 公司;其他试剂全部为分析纯,购于商业试剂公司。

1.2 方 法

1.2.1 黄桷树叶黄酮化合物的提取 将新采集的黄桷树叶洗净、晾干、剪碎后,于真空冷冻干燥机-20℃以下干燥 3 h,再打成粉,置于广口瓶中,干燥保存备用。称取黄桷树叶粉末 25.0 g 4 份,分别以 500 mL 的 50%、60%、70%、80%乙醇于磁力加热搅拌器上 60℃提取 3 h。所得提取液先用 3 层纱布粗过滤,再用三氯甲烷与粗滤液以 1:3 的比例萃取 2 次,去掉下层绿色液体,得上层黄色液体。然后再调节萃取液的 pH 为 5.0,加硅藻土,搅拌并沉降后,于 3 500 r/min,离心 1 h,取上清液为提取液。提取液于真空冷冻干燥机中,先于常温下抽真空挥去乙醇和三氯甲烷,再于-50℃,20 Pa 以下抽真空除去水分,约 10 h,得到棕黄色固体产物。

1.2.2 提取物总黄酮的测定 将提取物用甲醇溶解后,以芦丁为标准,采用亚硝酸钠-硝酸铝显色法对总黄酮进行定量^[7],即在中性或弱碱性及亚硝酸钠存在条件下,黄酮类化合物可与铝盐生成螯合物,在 510 波长有稳定特征吸收峰,通过比色而定量提取液中的总黄酮水平。芦丁标准曲线的绘制:芦丁以甲醇溶解,配制为 100 mg/L 标准溶液;分别吸取芦丁标准溶液 0.00、0.80、1.60、2.40、3.20、4.00、4.80 mL 于 10.00 mL 容量瓶中,加入 5%亚硝酸钠溶液 0.5 mL,静置 6 min,再加 10%硝酸铝 0.5 mL,静置 6 min;再加 4%氢氧化钠 4.00 mL,甲醇定容后,静置 10 min,于 510 nm 测吸光度。

1.2.3 A549 细胞鱼藤酮损伤模型的建立 A549 细胞在含 100 mL/L 的胎牛血清及 100 mg/L 青霉素、100 mg/L 链霉素的完全 IMDM 培养基中,在 37℃,50 mL/L 的 CO₂ 孵箱中常规培养,当细胞达到对数生长期时传代。A549 细胞以每孔 3 000 个接种于 96 孔培养板中,培养 16 h 贴壁后,进行药物处理。鱼藤酮与黄桷树叶提取物以 DMSO 溶解后,用 IMDM 培养基稀释成相应浓度处理细胞,根据 MTT 实验结果选择最佳的鱼藤酮和黄桷树叶提取物的干预浓度。

1.2.4 四甲基偶氮唑蓝(MTT 法) A549 细胞以每孔 3 000 个接种于 96 孔培养板中,培养 16 h 贴壁后,进行药物处理。黄桷树叶提取物和鱼藤酮单独或共同作用于细胞 48 h,然后吸掉培养液,换为含 5 g/L MTT 的完全培养液 100 μL,37℃继续孵育 4 h,小心吸去上清液,加 150 μL 的 DMSO,振荡 10 min,在酶标仪上用 490 nm 波长测定吸光度(A)值,以空白对照组为标准计算细胞活力。公式为:细胞存活率(%)=药物处理组吸光度值/空白对照组吸光度值×100%。

1.2.5 细胞形态的观察 A549 细胞以每孔 3 000 个接种于 96 孔培养板中,培养 16 h 贴壁后,进行药物处理。黄桷树叶提取物和鱼藤酮单独或共同作用于细胞 48 h,然后,用 40 g/L 多聚甲醛固定 10 min,倒置显微镜观察细胞形态。

1.2.6 细胞内 ROS 测定 A549 细胞接种于 6 孔培养板,细胞数 6×10⁶ 个/孔。药物处理到预定时间后,去除培养液,以

PBS(pH 7.4)洗 2 次,每孔加入 1 mL 的 ROS 荧光探针 DCFH-DA (20 μmol/L),37℃孵育 1 h,以 PBS(pH 7.4)洗 3 次,收集细胞用流式细胞仪分析细胞的荧光强度量。

1.2.7 流式细胞仪测定细胞凋亡 A549 细胞接种 6 孔板,细胞数 6×10⁶ 个/孔。药物处理到预定时间后,收集细胞,按细胞凋亡测定试剂盒说明书操作处理细胞,用流式细胞仪双标法分析细胞的荧光强度。

1.3 统计学处理 每批试验至少重复 3 次,采用 SPSS17.0 软件分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间差异用 Student's *t* 检验分析,计数资料用率表示,多组间比较用 χ^2 分析法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 黄桷树叶黄酮类化合物的乙醇浸提 提取物中总黄酮的含量以芦丁为标准品,以标准曲线定量。芦丁标准曲线的配制按“材料方法”中的描述,其回归方程: $A = 1.2254C + 0.04546$; $r = 0.9996$,如图 1。

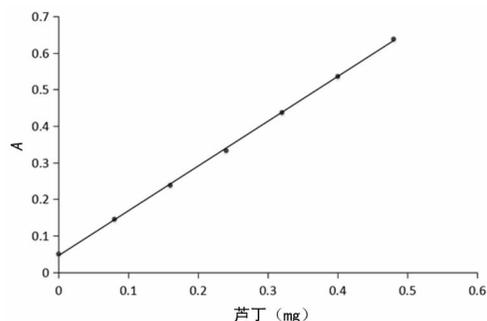


图 1 芦丁浓度-吸光度标准曲线

25 g 黄桷树叶粉末分别经 50%、60%、70%、80%乙醇溶液提取后,经萃取、絮凝、离心后,分别得到约 400 mL 提取液,定容至 500 mL 后,各取 1 mL,加 9 mL 甲醇稀释后,取 1 mL 以芦丁定量提取物总黄酮,并计算总黄酮的提取效率,见表 1。

表 1 不同浓度乙醇对黄桷树叶黄酮的提取效率

乙醇浓度	A	提取液黄酮浓度 (mg/L)	粗黄酮量 (mg)	黄酮得率 (%)
50%	0.326	228	1 140	4.56
60%	0.354	251	1 255	5.02
70%	0.324	226	1 132	4.53
80%	0.314	218	1 090	4.36

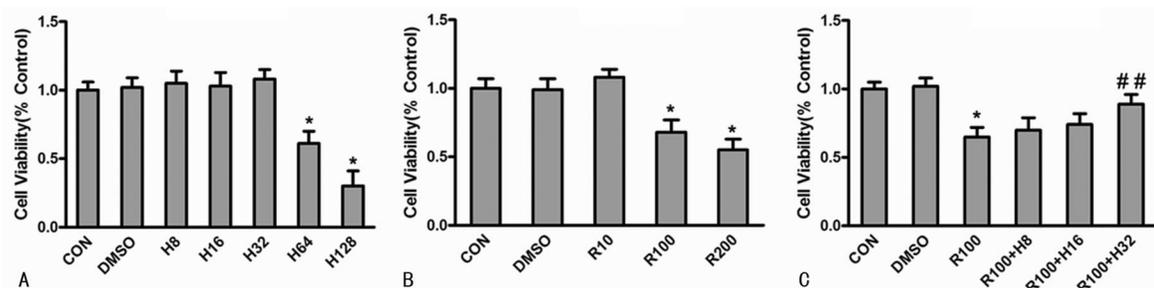
由以上结果得知,60%的乙醇的提取效率最高,为 5.02%。然后将 60%乙醇提取的提取液经真空冷冻干燥,最终得到 2.61 g 固体提取物,此提取物的总黄酮的百分含量为 43.4%,用于以下药效活性的初步测定。

2.2 黄桷树叶提取物与鱼藤酮对 A549 细胞活力与形态的影响 为了建立有效的实验模型,首先分析黄桷树叶提取物和鱼藤酮在实验条件下对细胞活力的直接影响,以排除提取物的细胞毒性对模型的干扰作用,以及初步确定鱼藤酮对 A549 细胞活力的损伤作用,并分析了提取物对鱼藤酮的细胞活力损伤是否具有保护作用。细胞活力的测定采用 MTT 法。A549 细胞损伤时,在形态上也有明显的变化,表现为空泡增多和细胞收缩、变圆、不贴壁。因此,提取物和鱼藤酮在实验条件下对细胞损伤的影响还可通过细胞形态的变化进行初步判断。见

图 2、3。

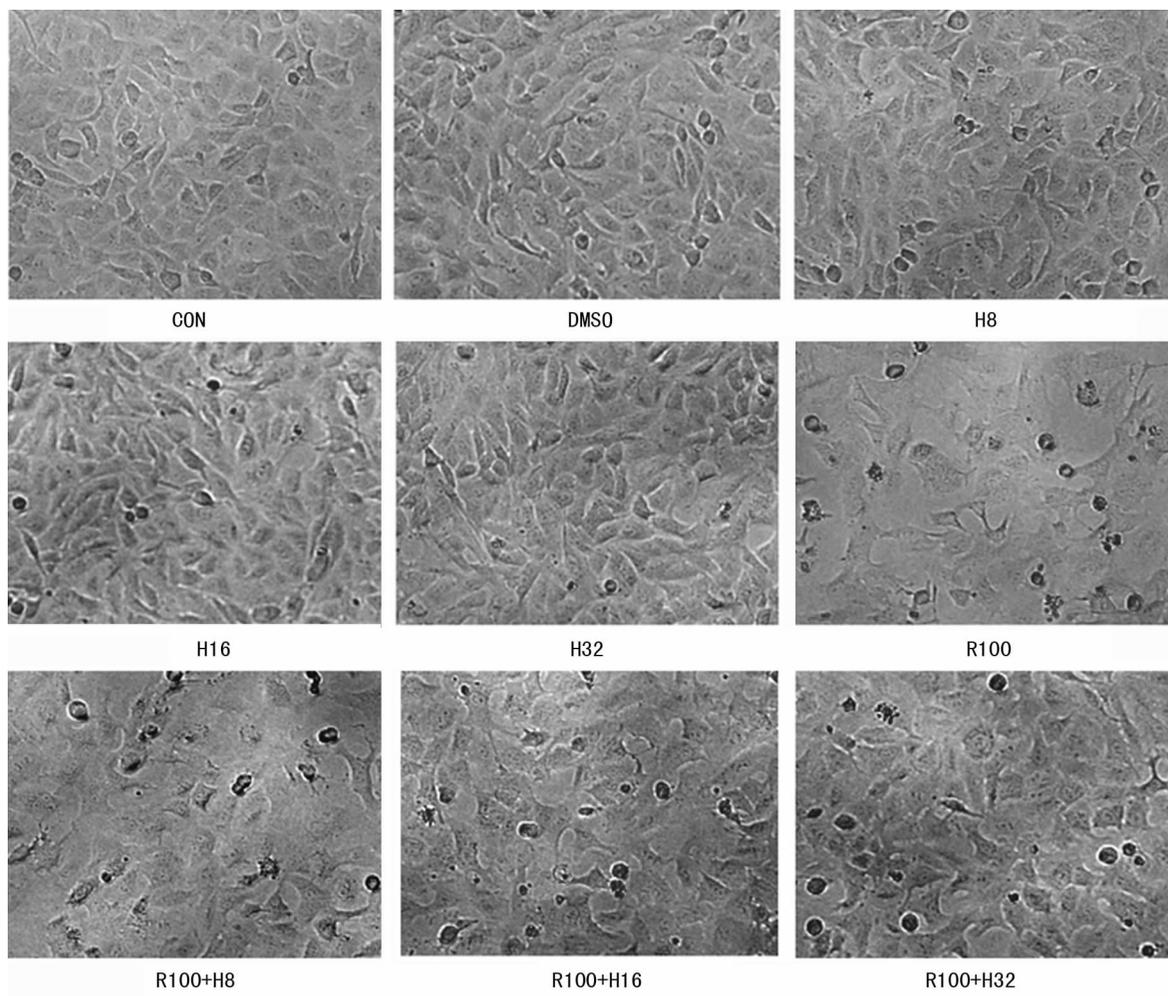
2.2.1 提取物对 A549 细胞活力的影响 固体提取物以 DMSO 溶解,以 8、16、32、64、128 mg/L 不同浓度处理 A549 细胞 48 h,其中 8、16、32 mg/L 浓度处理的细胞活力与 DMSO 对照组及空白对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$),而 64、128

mg/L 浓度处理可明显导致细胞活力的降低,细胞活力分别降为对照组的 0.61 ± 0.15 ($P<0.05$)和 0.30 ± 0.12 ($P<0.05$),见图 2A。说明在实验条件下,提取物浓度在 8~32 mg/L 范围对 A549 细胞无明显的细胞毒活性,以下试验均在此药物浓度范围内进行。



CON:空白对照;DMSO:DMSO 对照;H8~H128:提取物 8~128 mg/L 处理;R10~R200:鱼藤酮 10~200 $\mu\text{g/L}$ 处理;*: $P<0.05$,与空白对照比较;##: $P<0.05$,与鱼藤酮(100 $\mu\text{g/L}$)处理比较。

图 2 提取物与鱼藤酮处理对细胞活力的影响



CON:空白对照;DMSO:DMSO 对照;H8~H32:提取物 8~32 mg/L 处理;R100:鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$ 处理。

图 3 提取物与鱼藤酮处理对细胞形态的影响

2.2.2 鱼藤酮对 A549 细胞活力的影响 鱼藤酮以 DMSO 溶解,以 10、100、200 $\mu\text{g/L}$ 不同浓度作用于 A549 细胞。结果显示,10 $\mu\text{g/L}$ 浓度处理 48 h 后,细胞活力与 DMSO 对照组及空白对照组相比,差异无统计学意义($P>0.05$),而 100、200 $\mu\text{g/L}$ 浓度处理 48 h 可明显导致细胞活力的降低,细胞活力分

别降为空白对照组的 (0.68 ± 0.14) 倍 ($P<0.05$)和 (0.55 ± 0.13) 倍 ($P<0.05$)(图 2B)。由于 200 $\mu\text{g/L}$ 浓度的鱼藤酮使细胞活力降低较为严重,以下试验均以 100 $\mu\text{g/L}$ 的鱼藤酮建立 A549 损伤模型,以利于观察提取物的保护作用。

2.2.3 提取物对鱼藤酮导致的 A549 细胞活力损伤的影响

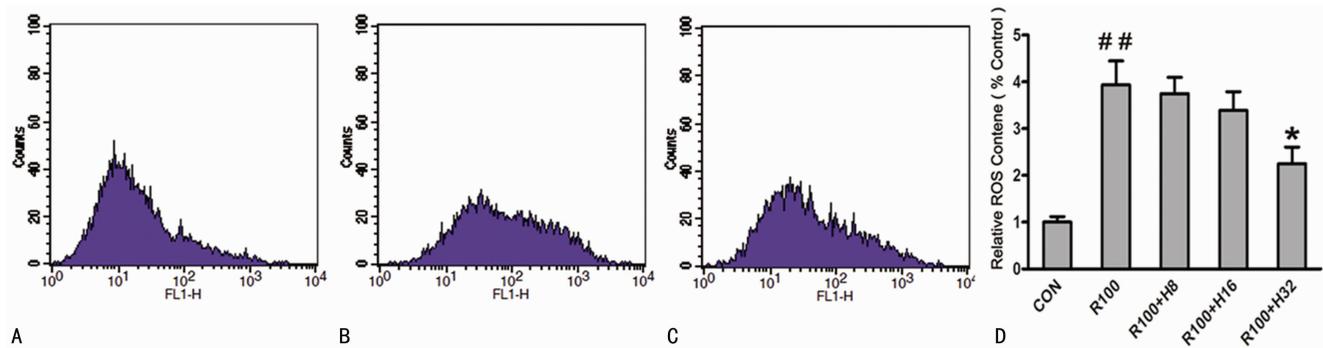
为了观察提取物对鱼藤酮导致的 A549 细胞活力的损伤是否具有保护作用,以鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$ 单独或同时与提取物 8~32 mg/L 作用 48 h 后,测定细胞活力。实验结果显示(图 2C),鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$ 单独作用时,细胞活力降低至空白对照的(0.65 \pm 0.09)倍($P<0.05$);当同时与提取物 8、16 mg/L 作用时,则细胞活力与鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$ 单独作用时无明显差异;而同时与提取物 32 mg/L 作用时,则细胞活力增加,为空白对照的(0.88 \pm 0.12)倍($P<0.05$)。结果提示,提取物 32 mg/L 对鱼藤酮导致的 A549 细胞活力损伤具有保护作用。

2.2.4 提取物及鱼藤酮对 A549 细胞形态的影响 提取物(8~32 mg/L)及鱼藤酮(100 $\mu\text{g/L}$)单独或同时处理 A549 细胞 48 h,对其形态的影响见图 3。结果显示,与对照相比,提取物单独作用时,浓度在 8、16、32 mg/L 时,对 A549 细胞形态无明显影响;而鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$ 单独作用时可明显导致细胞收缩变圆数量增多,细胞数量减少。当 100 $\mu\text{g/L}$ 鱼藤酮同时加用提取物处理细胞时,提取物 8、16 mg/L 的浓度对鱼藤酮导致的细胞形态的变化无明显影响,而 32 mg/L 的浓度可明显减少细胞的收缩变圆,并使细胞的数量增多。结果提示,提取物 32 mg/L 对鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$ 导致的 A549 细胞形态的损伤具有保护作用。

2.3 提取物对鱼藤酮导致 A549 细胞 ROS 产生的影响 鱼藤酮阻断细胞线粒体复合酶 I 的电子传递,可导致大量 ROS 的产生,从而造成 A549 细胞活力的降低和形态的变化。为了测定提取物是否可以通过抑制 ROS 的产生而起保护鱼藤酮的

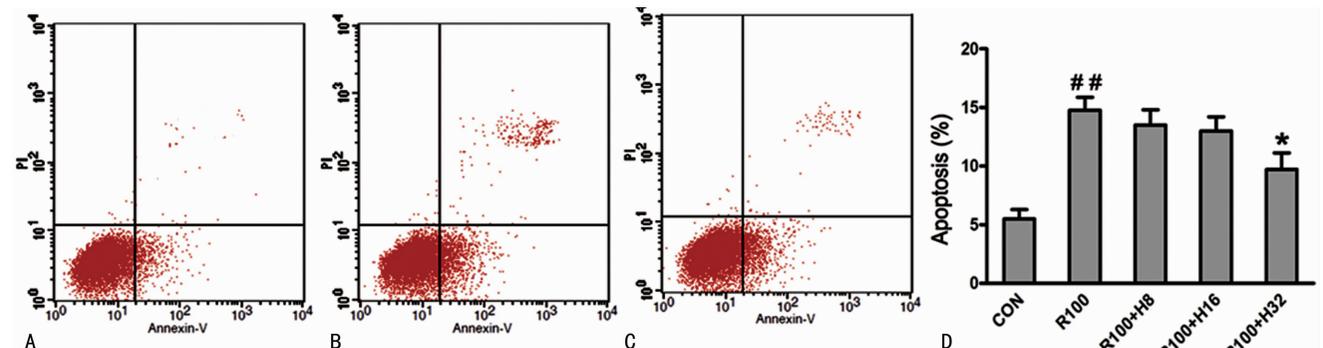
细胞损伤作用,本研究利用 ROS 荧光探针和流式细胞仪计数,测定了提取物(8~32 mg/L 浓度)对鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$ 导致的 A549 细胞内 ROS 的产生的影响。实验结果显示(图 4),鱼藤酮作用 48 h 可导致细胞内 ROS 浓度增加至空白对照的(3.9 \pm 0.5)倍($P<0.01$);鱼藤酮分别和 8、16 mg/L 的提取物同时处理细胞时,ROS 的产生量与鱼藤酮单独作用时无明显差异;而当同时使用 32 mg/L 提取物时,则 ROS 的产生量较鱼藤酮单独作用明显降低,为空白对照的(2.3 \pm 0.4)倍($P<0.05$)。结果说明,提取物对鱼藤酮诱导的 A549 细胞内 ROS 的产生具有抑制作用。

2.4 提取物对鱼藤酮导致 A549 细胞凋亡的影响 当细胞发生严重损伤时,即可发生凋亡。细胞内 ROS 大量产生导致的氧化损伤是发生凋亡的重要原因。因此,提取物可能通过抑制细胞中 ROS 的产生而抑制鱼藤酮导致的细胞凋亡。为了验证提取物是否对鱼藤酮导致的 A549 细胞凋亡具有影响,本研究分别用鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$ 或同时加用黄酮提取物 8~32 mg/L 处理细胞 48 h,用流式细胞仪检测细胞的凋亡情况。实验结果显示(图 5),与空白对照组相比,鱼藤酮处理 48 h 可导致细胞的凋亡率由(5.4 \pm 0.9)%增加至(14.7 \pm 1.1)%($P<0.01$);而鱼藤酮同时加提取物处理时,加 8、16 mg/L 提取物对凋亡无明显影响,而加 32 mg/L 的鱼藤酮可导致凋亡率降低至(10.72 \pm 1.4)%($P<0.05$)。结果提示,提取物对鱼藤酮诱导的 A549 细胞凋亡具有抑制作用。



A:空白对照;B:鱼藤酮(100 $\mu\text{g/L}$)处理;C:鱼藤酮(100 $\mu\text{g/L}$)与提取物(32 mg/L)处理;D:总趋势图,细胞内 ROS 平均荧光强度(空白对照组的倍数);#: $P<0.01$,与空白对照;*: $P<0.05$,与鱼藤酮处理比较;CON:空白对照;R100:鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$;R100+H8:鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$ + 提取物 8 mg/L;R100+H16:鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$ + 提取物 16 mg/L;R100+H32:鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$ + 提取物 32 mg/L。

图 4 提取物对鱼藤酮诱导 A549 细胞内 ROS 产生的影响



A:空白对照;B:鱼藤酮(100 $\mu\text{g/L}$)处理;C:鱼藤酮(100 $\mu\text{g/L}$)与提取物(32 mg/L)处理;D:总趋势图。#: $P<0.01$,空白对照比较;*: $P<0.05$,与鱼藤酮处理比较;CON:空白对照;R100:鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$;R100+H8:鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$ + 提取物 8 mg/L;R100+H16:鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$ + 提取物 16 mg/L;R100+H32:鱼藤酮 100 $\mu\text{g/L}$ + 提取物 32 mg/L。

图 5 提取物对鱼藤酮诱导 A549 细胞凋亡的影响

3 讨 论

在本文的初步研究当中,证实黄桷树叶含有较多的黄酮类成分,60%乙醇的提取效率达到 5.02%,提取方法可进一步研究和改进。黄酮类化合物种类繁多,理化性质也存在着较大的差异^[4]。其中黄酮苷元一般难溶或不溶于水,易溶于甲醇、乙醇、乙酸乙酯、乙醚等有机溶剂,易溶于稀碱液。黄酮类化合物的羟基糖苷化后,水溶性相应加大,而在有机溶剂中的溶解度相应减少。黄酮苷一般易溶于水、甲醇、乙醇、乙酸乙酯、吡啶等溶剂,难溶于乙醚、三氯甲烷、苯等有机溶剂。黄酮类化合物因分子中多有酚羟基而呈酸性,故可溶于碱性水溶液、吡啶、甲酰胺及二甲基甲酰胺中。本次实验仅提取黄桷树叶中粗黄酮,采用三氯甲烷进行萃取,虽然能够除去其油性杂质但同时却使部分可溶于有机溶剂中的黄酮苷元进入有机相而损失。本文所得到的仅为易溶于水的无机相黄酮苷。故黄酮类成分可能有较大损失。在进一步的研究当中,可以将乙醇浸提液浓缩后,依次采用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇等萃取,每个萃取部分所得到的萃取物再进行分离纯化,使黄酮类成分的损失减少^[8]。另外,乙醇浸提的条件也需要进一步优化。文献显示,乙醇的浓度是影响黄酮类浸提效率的重要因素^[9-10],故本文比较了 50%、60%、70%、80%的乙醇提取效率,发现 60%的乙醇提取效率是最优的。但是,提取的温度、时间、超声的频率、时间也可对提取效率有一定的影响^[8,11],故需在进一步的研究中优化。

黄桷树为榕属植物,现有的研究表明,本属植物的化学成分多样,近年来从本属植物中共分离得到 47 个三萜化合物、14 个黄酮类化合物、4 个倍半萜、15 个香豆素、16 个生物碱以及木脂素、甾醇、脂肪烃、有机酸、高级脂肪酸酯、芳香化合物、氨基酸、维生素、糖等化合物^[1],但对其大部分的成分的药理活性的研究还不多。至今已从本属植物中分离到降糖、降血压、抗肿瘤、抗菌、抗疟的成分^[1],近来在本属植物中还分离到具有治疗腹泻、关节炎和抑制细胞凋亡的成分^[12-14]。但对黄桷树叶中的药效成分还未见研究报道。而本文的初步研究结果表明,黄桷树叶中含有较高浓度黄酮类,且得到的含黄酮的提取物具有抑制鱼藤酮诱导 A549 细胞 ROS 的产生和凋亡的作用。细胞中 ROS 的产生是导致细胞氧化损伤的重要因素;而细胞的氧化损伤和凋亡是细胞和组织在各种不良因素,如炎症细胞因子、缺血缺氧、线粒体损伤、能量障碍等作用下发生损伤和衰老的重要机制^[15]。因此,黄桷树叶中可能含有能保护细胞氧化损伤的有效成分,可能在抗衰老、抗炎性损伤等方面发挥药效作用,值得进一步研究开发。但本文所用的提取物为混合物,除黄酮类外,还含有多种其他成分。在进一步研究当中,应当结合多种分离纯化方法,得到高纯度的成分,再进行进一步的药理活性研究,以确认抗氧化损伤和抗凋亡的药效成分,并进行进一步的药效机制的研究,为开发黄桷树叶的药用价值打下基础。

参考文献

- [1] 陈胜发,刘彦超,龙凤来. 榕属植物化学成分研究进展[J]. 杨凌职业技术学院学报,2010,9(3):13-17.
- [2] 范明松,叶冠,黄成钢. 榕属植物化学成分和药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2005,17(4):497-504.
- [3] 张丽霞,管志斌. 西双版纳药用榕树资源[J]. 亚热带植物科学,2004,33(2):60-62.
- [4] 张培成. 黄酮化学[M]. 北京:化学工业出版社,2009:227.
- [5] Shi YL, Feng S, Chen W, et al. Mitochondrial inhibitor sensitizes non-small-cell lung carcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis by reactive oxygen species and Bcl-XL p53-mediated amplification mechanisms [J]. Cell Death Dis, 2014, 18(5): e1579.
- [6] Sakurai Y, Sakurai N, Taniguchi M, et al. Rautandiols A and B, pterocarpan and cytotoxic constituents from *Nerourautanenia mitis*[J]. J Nat Prod, 2006, 69(3): 397-399.
- [7] 鞠爱华,郭晓凤. 山野豌豆和人叶野豌豆中总黄酮的含量测定[J]. 中药材,1988,11(6):33-34.
- [8] 唐浩国. 黄酮类化合物研究[M]. 北京:科学出版社,2009:122.
- [9] 夏杏洲,张辉,魏传晚. 榕树叶中黄酮类化合物的提取条件研究[J]. 食品研究与开发,2002,23(5):35-37.
- [10] 王小红,曹阳,吴阳,等. 大叶榕须有效成分提取工艺研究[J]. 化学研究与应用,2010,22(12):1486-1491.
- [11] 张岩,曹国杰,张燕,等. 黄酮类化合物的提取以及检测方法的研究进展[J]. 食品研究与开发,2008,29(1):154-158.
- [12] Patil VV, Bhangale SC, Chaudhari KP, et al. Evaluation of the antidiarrheal activity of the plant extracts of *Ficus* species[J]. J Chin Integrat Med, 2012, 10(3): 347-352.
- [13] Sindhu RK, Arora S. Therapeutic effect of *Ficus lacor* aerial roots of various fractions on adjuvant-induced arthritic rats[J]. ISRN Pharmacol, 2013, 17(2013): 634106.
- [14] Choudhari AS, Suryavanshi SA, Kaul-Ghanekar R. The aqueous extract of *Ficus religiosa* induces cell cycle arrest in human cervical cancer cell lines SiHa (HPV-16 Positive) and apoptosis in HeLa (HPV-18 positive)[J]. PLoS One, 2013, 8(7): e70127.
- [15] Labunskyy VM, Gladyshev VN. Role of reactive oxygen species-mediated signaling in aging [J]. Antioxid Redox Signal, 2013, 19(12): 1362-1372.

(收稿日期:2017-01-16 修回日期:2017-03-20)