

·基础研究·

圆齿野鸦椿醇提物抗肝癌作用研究[△]黄维^{1,2*}, 邹小兴^{2,3}, 丁卉^{2,3}, 梁文贤^{2,3}, 倪林^{2,4}, 邹双全^{2,3*}

(1. 福建农林大学生命科学学院, 福建 福州 350002;
 2. 自然生物资源保育利用福建省高校工程研究中心, 福建 福州 350002;
 3. 福建农林大学林学院, 福建 福州 350002;
 4. 福建农林大学植物保护学院, 福建 福州 350002)

[摘要] 目的: 探讨圆齿野鸦椿醇提物的抗肝癌活性。方法: 制备圆齿野鸦椿果皮、枝条、叶片和种子的乙醇提取物, 采用MTT法体外检测这4种醇提物对人肝癌细胞HepG2、SMMC-7721和BEL-7404的增殖抑制作用, 流式细胞法检测上述4种醇提物体外诱导HepG2细胞凋亡的情况, 采用小鼠肝癌H22移植瘤模型进行体内抑瘤实验, 探讨圆齿野鸦椿各部位醇提物的抗肝癌效果。结果: 圆齿野鸦椿果皮、枝条、叶片和种子的乙醇提取物处理细胞48 h后, 发现果皮醇提物对HepG2、SMMC-7721和BEL-7404肝癌细胞的抑制效果最好, 其半数抑制浓度IC₅₀可分别达到108.34、106.94、114.79 μg·mL⁻¹。采用质量浓度为200 μg·mL⁻¹的圆齿野鸦椿果皮、枝条、叶片和种子醇提物, 处理HepG2细胞48 h, 均可诱导HepG2细胞凋亡, 其中以果皮醇提物的效果最好。体内实验以圆齿野鸦椿果皮、枝条、叶片和种子醇提物200 mg·kg⁻¹对H22移植瘤小鼠灌胃给药14 d, 其抑瘤率可分别达到47.8%、44.9%、42.5%和40.6%。结论: 圆齿野鸦椿的乙醇提取物具有良好的抗肝癌作用。

[关键词] 圆齿野鸦椿; 乙醇提取物; 抗肝癌

Research on Anti-hepatoma Effect of *Euscaphis konishii* Hayata Ethanol ExtractsHUANG Wei^{1,2*}, ZOU Xiao-xing^{2,3}, DING Hui^{2,3}, LIANG Wen-xian^{2,3}, NI Lin^{2,4}, ZOU Shuang-quan^{2,3*}

(1. College of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;
 2. Engineering Research Institute of Conservation, Utilization of Natural Bioresources, Fujian
 Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;
 3. College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;
 4. College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

[Abstract] **Objective:** To study the anti-hepatoma effect of the ethanol extracts of *Euscaphis konishii* Hayata. **Methods:** The *E. konishii* pericarps, leaves, branches and seeds were extracted by ethanol. The anti-proliferation activities *in vitro* were detected by MTT assay against human liver cancer cells HepG2, SMMC-7721 and BEL-7404. Flow cytometry was used to detect the HepG2 cell apoptosis. Mice bearing H22 murine hepatoma xenograft model was established to evaluate the anti-tumor activity *in vivo*. **Results:** After 48 h treatment of HepG2, SMMC-7721 and BEL-7404 cells with the ethanol extracts of *E. konishii* pericarps, leaves, branches and seeds, MTT assay showed that the pericarps extract demonstrated the best anti-hepatoma effect *in vitro*, with the half inhibitory concentration(IC₅₀) of 108.34, 106.94 and 114.79 μg·mL⁻¹. The results of flow cytometry showed that all the four extracts could obviously induce HepG2 cell apoptosis, and the pericarps extract had the best effect. H22 murine hepatoma xenograft test was carried out with 200 mg·kg⁻¹ of the pericarps, leaves, branches and seeds extract for 14 d by gavage administration, with the anti-tumor rate of 47.8%, 44.9%, 42.5% and 40.6%, respectively. **Conclusion:** The ethanol extract of *E. konishii* has obvious anti-hepatoma activity.

[Keywords] *Euscaphis konishii* Hayata, ethanol extract, anti-hepatoma

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20170912003

[△] [基金项目] 国家农业科技成果转化资金项目(2010GB2C00216); 福建省自然科学基金(13181082); 福建农林大学科技创新专项基金项目(CXZX2016072, CXZX2016073, CXZX2016074)

* [通信作者] 黄维, 讲师, 研究方向: 中药学; E-mail: huangwei@fafu.edu.cn; 邹双全, 研究员, 研究方向: 药用观赏植物; E-mail: zou@fafu.edu.cn

圆齿野鸦椿 *Euscaphis konishii* Hayata 为省沽油科 (Staphyleaceae) 野鸦椿属 (*Euscaphis*) 常绿小乔木^[1-2]。在民间, 圆齿野鸦椿的根、根皮、花、果实均可作药用, 具有温中理气、抗炎镇痛、清热解毒、消肿散结等功效, 常用来治疗胃痛、寒疝、泻痢、脱肛、子宫下垂、睾丸肿痛、跌打损伤等疾病^[2-4]。目前, 国内外对圆齿野鸦椿的研究主要集中在组织培养、种子发芽、栽培技术等方面^[5-7], 而圆齿野鸦椿化学成分及其药理药效活性等研究尚属空白, 相关的报道也仅是对同属植物野鸦椿的提取物在消炎、抗癌等方面的初步研究^[8-10]。本研究通过制备圆齿野鸦椿不同部位的乙醇提取物, 采用四甲基偶氮唑盐比色法 (MTT 法) 和流式细胞术检测肝癌细胞凋亡的体外实验、小鼠肝癌 H22 移植瘤体内抑瘤实验, 探讨圆齿野鸦椿不同部位提取物的抗肝癌效果, 该研究可为今后对圆齿野鸦椿的深入研究奠定基础。

1 材料

1.1 植物

圆齿野鸦椿于 2016 年 10 月采自福建省邵武市天成岩, 经福建农林大学邹双全教授鉴定为省沽油科野鸦椿属圆齿野鸦椿 *Euscaphis konishii* Hayata。圆齿野鸦椿果实晒干后分离果皮和种子; 取顶端去叶枝条, 长度为 40~50 cm; 取顶端枝条上当年生叶片。

1.2 试剂

5-氟尿嘧啶 (5-Fu) 质量分数 >99% (sigma 公司)。胎牛血清、RPMI1640 培养液、DMEM 培养液、0.25% 胰蛋白酶和 0.01 mol·L⁻¹ PBS 溶液 (Hyclone 公司); 四甲基偶氮唑盐 MTT (Amresco 公司), Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒 (KGA106, 江苏凯基生物技术股份有限公司); 二甲基亚砜 (DMSO) 及其余试剂均为分析纯。

1.3 仪器

RE-52A 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂), 倒置显微镜 (日本 Olympus), 二氧化碳培养箱 (美国 Thermo Forma), TGL-16G 台式离心机 (上海安亭科学仪器厂), 超净工作台 (苏州博莱尔净化设备有限公司), 酶标仪 (美国 BioTek), FACSC autoTM II 型流式细胞仪 (美国 BD)。

1.4 细胞株

HepG2、SMMC-7721 和 BEL-7404 肝癌细胞, 小鼠 H22 肝癌细胞株, 均购自上海细胞微生物研究所。

1.5 动物

普通级昆明种小鼠, 体重 18~22 g, 均为雄性小鼠, 由福建医科大学实验动物中心提供, 动物生产许可证号: SCXK(闽)2016-0007。

2 方法

2.1 圆齿野鸦椿醇提物的制备

取干燥的圆齿野鸦椿果皮、枝条、叶片和种子, 切碎, 50 ℃烘干, 粉碎得到粉末。加 50 L 体积分数为 70% 的乙醇加热至 80 ℃回流提取 2 次, 每次提取 2 h, 合并提取液, 回收乙醇并减压浓缩至无醇味, 干燥, 得圆齿野鸦椿果皮、枝条、叶片和种子的醇提物。

2.2 细胞培养

HepG2、SMMC-7721 和 BEL-7404 肝癌细胞培养条件为含有胎牛血清 (体积分数为 0.1)、青霉素 (1×10^5 IU·L⁻¹) 和链霉素 (100 mg·L⁻¹) 的 RPMI 1640 培养液, 37 ℃、5% CO₂ 饱和湿度培养箱中培养, 取对数生长期细胞用于实验。

2.3 MTT 法测定药物的半数抑制浓度

在 96 孔培养板上接种细胞, 每孔接种量为 5×10^3 个细胞, 每孔 180 μL, 实验组分别加入不同浓度的药物, 对照组不加药, 另设空白孔组 (只加培养基, 无细胞), 每组设 3 个平行孔, 37 ℃ 培养至所需的时间, 加入 5 g·L⁻¹ 的 MTT 溶液 20 μL/孔, 继续培养 4 h 后, 弃去上清液, 加入 150 μL DMSO 溶解, 培养箱孵育 20 min 后, 用酶标仪 (Thermo 公司) 在 570 nm 波长下测吸光度值 (A)。根据公式(1)计算细胞生长抑制率。

$$\text{细胞生长抑制率} (\%) = \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{实验}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})} \times 100\% \quad (1)$$

以同一药物的不同浓度对细胞生长抑制率作图, 可得到剂量反应曲线, 根据线性回归方程求出该药的半数抑制浓度 IC₅₀, 即细胞存活率减少 50% 时的药物浓度。

2.4 流式细胞术测定细胞凋亡

取对数生长期的 HepG2 细胞, 用 200 μg·mL⁻¹

果皮、叶片、枝条和种子的乙醇提取物处理细胞48 h后，调整密度为 $1\sim5\times10^5\text{ mL}^{-1}$ 细胞悬液，用PBS洗2遍，再将细胞重悬于Binding Buffer悬浮细胞。设置阴性对照和两个单染对照。阴性对照为对照组细胞不加染料，两个单染对照为阳性药物处理过的细胞只加入5 μL Annexin V-FITC或5 μL PI。测试组细胞加入Annexin V-FITC混匀后，再加入5 μL PI混匀，室温、避光、反应5~15 min。在1 h内，进行流式细胞仪的检测。流式细胞仪采集的荧光强度用自带的软件进行数据处理。

2.5 小鼠肝癌H22移植瘤模型的建立

接种H22瘤种腹腔传代6~8 d后，腹部隆起明显，将腹水瘤小鼠以脱颈法处死，无菌条件下从腹腔抽出瘤液，用0.9%氯化钠注射液稀释至 $1\times10^7\text{ 个}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，采用该浓度肿瘤细胞悬液对实验小鼠右腋进行皮下接种，接种量为0.2 mL/只，构建小鼠肝癌H22移植瘤模型。

2.6 动物分组和给药

接种24 h后，将小鼠随机分为6组，每组10只。模型组灌胃给予0.9%氯化钠注射液，阳性组给予5-Fu 20 mg·kg⁻¹，给药组分别给予圆齿野鸦椿果皮、枝条、叶片和种子的醇提物200 mg·kg⁻¹，用0.9%氯化钠注射液配成混悬液进行给药，每天1次，连续给药14 d。

2.7 组织样品的收集与处理

末次给药24 h后称小鼠体质量，颈椎脱臼处死动物，剥离瘤块，剖取胸腺、脾脏，用滤纸吸干后称重并记录。分别按公式(2)(3)(4)计算各组的肿瘤抑瘤率、胸腺指数和脾脏指数。

$$\text{抑瘤率} = \frac{\text{给药组平均瘤质量}}{\text{模型组平均瘤质量}} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{胸腺指数} [\text{mg} \cdot (10 \text{ g})^{-1}] = \frac{\text{胸腺质量} (\text{mg})}{(\text{结束体质量} - \text{瘤体质量}) (\text{g})} \times 10 \quad (3)$$

$$\text{脾脏指数} [\text{mg} \cdot (10 \text{ g})^{-1}] = \frac{\text{脾脏质量} (\text{mg})}{(\text{结束体质量} - \text{瘤体质量}) (\text{g})} \times 10 \quad (4)$$

2.8 统计学处理

采用SPSS22.0软件进行统计学分析，实验结果以($\bar{x}\pm s$)表示，多组间比较采用完全随机设计方差分析(ANOVA)，组间比较采用LSD-t检验， $P <$

0.05表示差异有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 圆齿野鸦椿各部位的醇提物的制备

圆齿野鸦椿果皮、叶片、枝条和种子经过烘干粉碎后，各取10 kg样品采用70%乙醇回流提取2次，提取液过滤后，减压浓缩分别得到圆齿野鸦椿果皮、叶片、枝条和种子的醇提物2.65、2.37、2.42、2.25 kg。

3.2 圆齿野鸦椿各部位的醇提物对肝癌细胞增殖的抑制

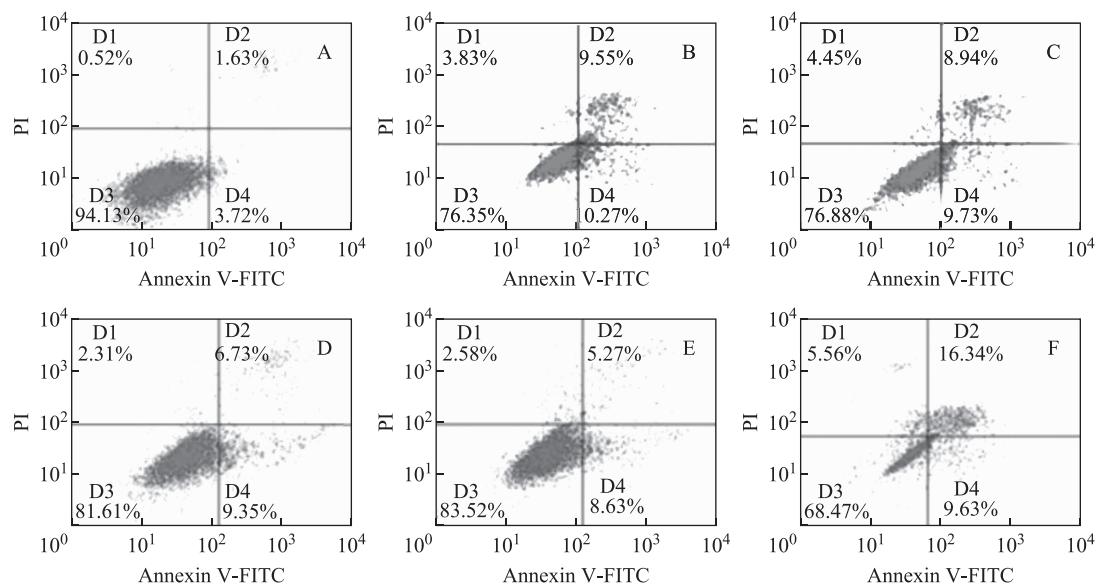
取上述圆齿野鸦椿果皮、叶片、枝条和种子醇提物，以DMSO配制，分别处理HepG2、SMMC-7721和BEL-7404肝癌细胞48 h，用MTT法检测上述醇提物对肝癌细胞增殖的影响，以同一药物的不同浓度对细胞生长抑制率做图，得到剂量反应曲线，根据线性回归方程求出该药的半数抑制浓度IC₅₀，即细胞存活率减少50%时的药物浓度。果皮醇提物、枝条醇提物、叶片醇提物和种子醇提物对HepG2、SMMC-7721和BEL-7404的IC₅₀见表1。结果表明，圆齿野鸦椿各提取物对肝癌细胞HepG2、SMMC-7721和BEL-7404均有明显的增殖抑制作用，其中果皮提取物的抑制作用最为明显。

表1 圆齿野鸦椿各部位醇提物对HepG2、SMMC-7721和BEL-7404细胞的IC₅₀($\bar{x}\pm s$, n=3)

组别	HepG2	SMMC-7721	BEL-7404
果皮醇提物	108.34 ± 17.68	106.94 ± 15.71	114.79 ± 15.36
枝条醇提物	113.79 ± 16.45	122.49 ± 16.98	135.50 ± 18.38
叶片醇提物	124.38 ± 18.54	131.57 ± 19.33	146.25 ± 20.97
种子醇提物	134.70 ± 19.71	145.34 ± 17.57	150.63 ± 22.55

3.3 圆齿野鸦椿各部位醇提物对HepG2细胞凋亡诱导作用

200 μg·mL⁻¹圆齿野鸦椿果皮、枝条、叶片和种子的乙醇提取物处理HepG2细胞48 h，以20 μg·mL⁻¹5-Fu为阳性对照，用流式细胞仪检测，果皮、枝条、叶片和种子醇提物诱导的HepG2细胞早期凋亡率分别为10.27%、9.73%、9.35%、8.63%，晚期凋亡率分别为9.55%、8.94%、6.73%、5.27%，与空白对照组相比，均可显著引起HepG2细胞凋亡($P < 0.05$ ，见图1和表2)，而果皮提取的凋亡诱导效果最好。



注: A. 空白组; B. $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 果皮醇提物; C. $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 枝条醇提物; D. $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 叶片醇提物; E. $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 种子醇提物; F. $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 5-Fu; D1 象限代表坏死细胞; D2 象限代表晚期凋亡细胞; D3 象限代表正常细胞; D4 象限代表早期凋亡细胞。

图1 圆齿野鸦椿各部位醇提物对HepG2细胞凋亡的影响

表2 $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 圆齿野鸦椿各部位醇提物对HepG2细胞凋亡诱导作用($\bar{x} \pm s$, n=3)

组别	早期凋亡(%)	晚期凋亡(%)	坏死(%)
空白组	3.72 ± 0.25	1.63 ± 0.12	0.52 ± 0.08
果皮醇提物	$10.27 \pm 2.02^{***}$	$9.55 \pm 0.72^{***}$	$3.83 \pm 0.32^*$
枝条醇提物	$9.73 \pm 1.18^{***}$	$8.94 \pm 0.68^{***}$	$4.45 \pm 0.48^*$
叶片醇提物	$9.35 \pm 1.44^{**}$	$6.73 \pm 1.24^*$	$2.31 \pm 0.14^*$
种子醇提物	$8.63 \pm 0.86^{**}$	$5.27 \pm 1.06^*$	$2.58 \pm 0.46^*$
5-Fu	$9.63 \pm 1.26^{***}$	$16.34 \pm 2.16^{***}$	$5.56 \pm 0.76^{**}$

注: 与空白组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

3.4 圆齿野鸦椿各部位醇提物对小鼠肝癌 H22 移植瘤体内抑瘤效果的研究

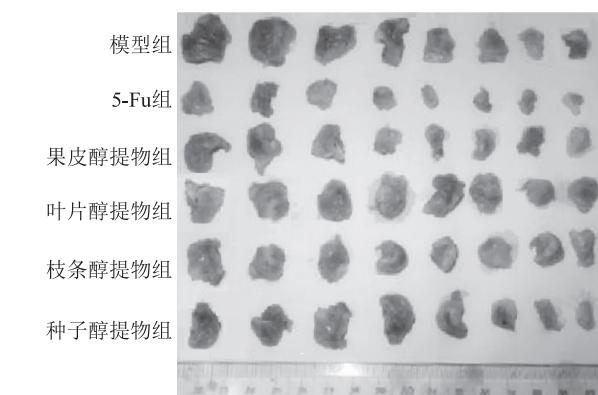
用小鼠肝癌 H22 移植瘤模型来考察圆齿野鸦椿果皮、枝条、叶片和种子的乙醇提取物的体内抗肿瘤活性。取圆齿野鸦椿各部分提取物 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 对肝癌 H22 移植瘤小鼠连续灌胃给药 14 d, 以 5-Fu $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 为阳性对照, 以 0.9% 氯化钠注射液给模型组, 于第 15 d 称体重, 颈椎脱臼处死动物, 剥离瘤块, 计算圆齿野鸦椿各部分醇提物的抑瘤率。

表3、图2结果显示, 圆齿野鸦椿果皮、枝条、叶片和种子的乙醇提取物 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 连续灌胃给药 14 d, 对肝癌 H22 移植瘤小鼠瘤块增殖的抑制率可分别达到 47.8% 、 44.9% 、 42.5% 和 40.6% , 显示了良好的体内抗肝癌活性。

表3 圆齿野鸦椿各部位醇提物对小鼠肝癌 H22 移植瘤的抑制作用($\bar{x} \pm s$, n=10)

剂量组	给药浓度/ $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$	小鼠体质量/g		瘤质量/g	抑瘤率(%)
		起始	结束		
模型组		20.6 ± 0.7	36.6 ± 3.8	2.07 ± 0.27	
果皮醇提物	200	20.6 ± 0.7	33.5 ± 2.5	1.08 ± 0.25	47.8^{**}
枝条醇提物	200	20.5 ± 0.6	33.6 ± 2.3	1.14 ± 0.27	44.9^{**}
叶片醇提物	200	20.4 ± 0.7	33.6 ± 2.5	1.19 ± 0.26	42.5^{**}
种子醇提物	200	20.7 ± 0.6	33.9 ± 2.4	1.23 ± 0.23	40.6^{**}
5-Fu	20	20.8 ± 0.5	32.0 ± 2.8	0.82 ± 0.17	60.1^{**}

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。



注: 模型组以 0.9% 氯化钠注射液腹腔给药; 5-Fu 阳性对照组以 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔给药; 果皮、叶片、枝条和种子醇提物以 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃给药。

图2 圆齿野鸦椿各部位醇提物对小鼠肝癌 H22 移植瘤生长的作用效果

3.5 圆齿野鸦椿各部位醇提物对H22小鼠免疫器官的影响

5-Fu组小鼠胸腺指数和脾脏指数均明显小于正常组和模型组($P < 0.01$)，而圆齿野鸦椿果皮、枝条、叶片和种子醇提物给药组小鼠的胸腺指数与正常组和模型组相比，有明显的提高($P < 0.05$)，而对脾脏指数无影响($P > 0.05$ ，见表4)，说明圆齿野鸦椿各部分醇提物对荷瘤小鼠具有一定的免疫增强作用。

表4 圆齿野鸦椿各部位醇提物对H22小鼠免疫器官的影响($\bar{x} \pm s$, n=10)

剂量组	给药浓度 /mL·kg ⁻¹	胸腺指数 /mg·(10 g) ⁻¹	脾脏指数 /mg·(10 g) ⁻¹
正常组		22.67 ± 3.71	63.35 ± 18.16
模型组		23.25 ± 4.32	66.37 ± 20.34
果皮醇提物	200	35.45 ± 4.26 **	73.36 ± 14.60
枝条醇提物	200	34.67 ± 6.38 **	71.24 ± 13.95
叶片醇提物	200	34.86 ± 5.76 **	68.67 ± 14.46
种子醇提物	200	33.89 ± 5.93 **	65.26 ± 15.57
5-Fu	20	11.78 ± 3.57 ***	32.26 ± 9.69 ***

注：与正常组相比，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

4 讨论

肝癌是病死率最高的恶性肿瘤之一，我国每年约有38.3万人死于肝癌，占全球肝癌死亡病例数的51%，严峻的形势对国人的健康和社会经济带来严峻的挑战。采用化学合成药物来治疗癌症，疗效显著，但是具有较高的毒副作用，容易产生耐药性，且停药后有“反跳”现象，治疗效果有限。中药作为天然产物，具有不良反应小、遗传毒性低等优点。因此，中药抗癌药物的研发一直受到关注。野鸦椿属植物野鸦椿在消炎和抗癌方面有显著的体外疗效^[13-16]，但目前尚未有圆齿野鸦椿抗肝癌的研究的报道。

本研究通过制备圆齿野鸦椿果皮、枝条、叶片和种子的乙醇提取物，通过MTT法检测这4种醇提物对3株人肝癌细胞HepG2、SMMC-7721和BEL-7404有不同程度的增殖抑制作用，其中果皮醇提物的抑制效果最强，对上述3株肝癌细胞作用48 h的半数抑制浓度分别为108.34、106.94、114.79 μg·mL⁻¹。我

们进一步观察了圆齿野鸦椿不同部位醇提物诱导HepG2细胞凋亡的效果，结果显示，当这4种醇提物浓度为200 μg·mL⁻¹处理HepG2细胞48 h后，均可显著引起HepG2细胞的凋亡，其中果皮醇提物的活性最好。在体内活性检测中，圆齿野鸦椿果皮、枝条、叶片和种子的乙醇提取物200 mg·kg⁻¹对小鼠肝癌H22移植瘤小鼠瘤块增殖的抑制率分别达到47.8%、44.9%、42.5%和40.6%，显示了良好的体内抗肝癌活性。同时，对H22移植瘤小鼠进行解剖时发现，圆齿野鸦椿醇提物处理的H22小鼠肿瘤浸润范围较小，瘤块较易剥离，而与传统的化疗药5-Fu相比，圆齿野鸦椿醇提物的抑制肿瘤生长作用虽有所不及，但对荷瘤小鼠的体重影响较小，各部位醇提物给药组的胸腺指数均高于正常组和模型组，且差异有统计学意义($P < 0.05$)，说明圆齿野鸦椿醇提物具有明显的抗肝癌活性，可以提高肿瘤小鼠的免疫功能，值得深入研究其抗肿瘤的成分或有效组分。

参考文献

- [1] 方文培. 中国植物志:第46卷[M]. 北京:科学出版社, 1981:23-24.
- [2] 福建植物志编写组. 福建植物志:第3卷[M]. 福州:福建科学技术出版社, 1985:296-297.
- [3] 福建中医研究所中药研究室. 福建民间中草药:第四集[M]. 福州:福建人民出版社, 1959:349.
- [4] 福建省医药研究所. 福建药物志:第一册[M]. 福州:福建人民出版社, 1979:294-295.
- [5] 覃嘉佳,龙云英. 圆齿野鸦椿扦插繁殖技术[J]. 林业科技开发, 2007, 21(3):71-73.
- [6] 梁文英. 圆齿野鸦椿播种育苗技术[J]. 福建林学院学报, 2010, 30(1):73-76.
- [7] 何碧珠,何官榕,邹双全. 圆齿野鸦椿叶片的植株再生及快速繁殖[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2010, 39(3):257-262.
- [8] 董玫,张秋霞,广田满. 野鸦椿酯类化合物抗炎症活性与结构的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(4): 290-293.
- [9] 左敏,倪志宇,许立,等. 野鸦椿对HeLa细胞的抗增殖作用及其机制的初步研究[J]. 癌变·畸变·突变, 2008, 22(5):350-353.
- [10] 李先辉,李春艳,贾薇,等. 野鸭椿提取物抗炎镇痛效应研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(8):2041-2042.

(收稿日期 2017-09-12)