

• 实验研究 Experimental research •

天冬多糖的提取及其对人肝癌 SMMC-7721 细胞生长影响的研究

张闽光, 陈 刚, 刘 力

【摘要】 目的 探讨天冬多糖提取方法的可靠性及天冬多糖对体外培养的人肝癌 SMMC-7721 细胞株生长的影响。方法 冷水浸提、乙醇沉淀法提取天冬粗多糖,再用链菌蛋白酶 E 及 Sevag 法脱蛋白,最后用纤维素及琼脂糖凝胶层析柱纯化提取纯品天冬脱蛋白多糖,并对其进行鉴定及分子量检测。用噻唑蓝法检测不同浓度纯品天冬脱蛋白多糖对于体外培养的人肝癌 SMMC-7721 细胞株生长的影响,绘制量效曲线及生长曲线。结果 使用本实验方法所得的提取物为纯品天冬脱蛋白多糖,分子量为 5 000 ~ 400 000 u。此分子量范围的天冬多糖对人肝癌 SMMC-7721 细胞株生长具有双向调节作用:浓度较小时($\leq 800 \mu\text{g/ml}$)具有一定的促进作用,而当浓度较大时($\geq 900 \mu\text{g/ml}$)则表现出一定的抑制作用,随着时间的延长和浓度的增加,其抑制作用更为明显($P < 0.05$)。结论 本实验所用纯品天冬脱蛋白多糖的提取、分离、纯化方法可靠。在体外培养情况下,天冬脱蛋白多糖在较低浓度时可促进 SMMC-7721 人肝癌细胞的生长,而在高浓度情况下,可以抑制其生长,且存在着量效、时效关系。

【关键词】 肝癌细胞; 中药; 天冬; 植物多糖; 体外实验

中图分类号:R735.7 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2011)-06-0465-05

The extraction of asparagus polysaccharide and its effect on the growth of human hepatic cancer SMMC-7721 cells in vitro ZHANG Min-guang, CHEN Gang, LIU Li. Department of Radiology, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China

Corresponding author: ZHANG Min-guang, E-Mail: mgzhang09@hotmail.com

【Abstract】 Objective To investigate the technical reliability of extracting polysaccharide from asparagus cochinchinensis and to discuss the effect of asparagus polysaccharide on the growth of a human hepatic carcinoma cell line, SMMC-7721 cells, in vitro. Methods The asparagus cochinchinensis was soaked in cold water and the crude asparagus polysaccharide was extracted with ethanol precipitation. Then, the crude asparagus polysaccharide was deproteinized with the method of pronase E and Sevag. Finally, the deproteinized asparagus polysaccharide was purified with the cellulose and sepharose chromatographic column, which was further identified and its molecular weight was determined. The effect of asparagus polysaccharide in different dose on the growth of the hepatic carcinoma SMMC-7721 cells was estimated with MTT assay in vitro, and the dose response curve as well as the growth curve was drawn. Results The extracted substance obtained by authors' method was further purified and deproteinized, and asparagus polysaccharide was thus gained. Its molecular weight ranged from 5 000 to 400 000 u. It had a twofold regulative effect on the growth of the hepatic carcinoma SMMC-7721 cells. When its concentration was lower, below $800 \mu\text{g/ml}$, the asparagus polysaccharide had the effect of promoting the vegetation of the hepatic carcinoma SMMC-7721 cells. However, when its concentration was higher, over $900 \mu\text{g/ml}$, the asparagus

polysaccharide showed certain inhibitory effect on the vegetation of SMMC-7721 cells, besides, with the time passing by and the concentration increasing, the inhibitory effect became more effective ($P < 0.05$). Conclusion The results of this experiment indicate that authors' method to

基金项目:上海市卫生局科研课题资助项目(2007075);上海市教育委员会科研项目资助(07cz042);国家自然科学基金基金资助项目(30973823)

作者单位:200074 上海中医药大学附属市中医医院放射科(张闽光、陈 刚);上海中医药大学附属曙光医院制剂室(刘 力)

通信作者:张闽光 E-mail: mgzhang09@hotmail.com

extract, separate and purify the asparagus polysaccharide is technically reliable. *In vitro*, low concentration of asparagus polysaccharide can promote, while high concentration of asparagus polysaccharide can suppress, the vegetation of the SMMC-7721 cells, and the effectiveness is related to both the time and dosage. (J Intervent Radiol, 2011, 20: 465-469)

【Key words】 hepatic carcinoma cell; Chinese traditional medicine; asparagus cochinchinensis; plant polysaccharides; *in vitro*

天冬又名天门冬、大当门根,始载于《本经》,为百合科、多年生藤本植物天门冬 *Asparagus cochinchinensis* (Lout.) Merr. 的块根。自古就被列为益寿延年之上品,久服轻身益气延年^[1]。天冬性寒,味甘苦。具有滋阴、润燥、清肺、降火之功用^[2]。临床上长期用于治疗乳腺癌、恶性淋巴瘤、白血病、肺癌等^[3]。此外,有实验报道认为天冬类药材含有多糖和寡糖成分,其多糖成分具有一定的体内抗肿瘤活性^[4-5]。目前,有关于天冬多糖体外抑制肿瘤方面的文献报道较少。本实验通过提取天冬多糖,并测定其对人肝癌 SMMC-7721 细胞株生长的影响,探讨天冬多糖体外对肿瘤的作用效应,为进一步研究天冬胶的抗肿瘤作用机制提供实验依据^[6-7]。

1 材料与方法

1.1 天冬多糖的提取^[5,8-9]

1.1.1 天冬粗多糖的提取 取中药天冬饮片(上海药房股份有限公司,批号 070102,产地广西)加蒸馏水浸泡、打浆机破碎。冷水浸泡 48 h 纱布过滤。残渣重复提取 1 次,合并 2 次提取液减压浓缩。75%乙醇沉淀,离心去上清液。依次用 95%乙醇、无水乙醇和乙醚洗涤沉淀物。真空干燥得天冬粗多糖。

1.1.2 天冬粗多糖脱蛋白 将天冬粗多糖溶于蒸馏水,超声波振荡 30 min,离心去不溶于水的物质。加入链菌蛋白酶 E,置 39℃恒温水浴 96 h。离心去沉淀,上清液用 Sevag 法继续脱蛋白,得上层脱蛋白多糖溶液。加丙酮直至白色絮状沉淀不再析出,离心收集沉淀,真空干燥,得脱蛋白多糖。

1.1.3 天冬脱蛋白多糖纯化 脱蛋白多糖溶于蒸馏水,分批上 DEAE-52 纤维素柱用 0.1 N NaOH 洗脱(a 萘酚-硫酸法检测)收集多糖部分,HCl 中和至 pH 值 7.0。减压浓缩后分批上琼脂糖凝胶(6%)柱脱盐,蒸馏水洗脱(AgNO₃, a 萘酚-硫酸法检测)。收集含糖部分减压浓缩,分别以 30%、80%乙醇沉淀,真空冷冻干燥得纯品天冬脱蛋白多糖。

1.2 天冬多糖的鉴定

1.2.1 提取物中含单糖情况鉴定 分别配制

0.01 g/mg 天冬粗多糖、30%、80%纯品醇沉天冬脱蛋白多糖、标准葡萄糖、标准果糖、标准甘露糖、标准半乳糖溶液、标准蔗糖溶液。以标准糖作为对照。用薄层层析法鉴定提取物中含单糖情况^[10-11]。

1.2.2 提取物中含蛋白情况鉴定

1.2.2.1 化学反应法鉴定提取物中含蛋白情况:取试管 12 只,1~6 号试管各配 2 ml 30%醇沉纯品天冬脱蛋白多糖溶液;7~10 号各配 2 ml 葡萄糖;11、12 号试管各配 2 ml 蛋清稀释溶液。试管 1、2、11、12 各滴加 0.2%茚三酮溶液;试管 3、4、7、8 各滴加 15% a-萘酚乙醇溶液和浓硫酸;试管 5、6、9、10 各滴加 6%苯酚水溶液和浓硫酸,分别观察颜色变化。

1.2.2.2 琼脂糖凝胶电泳法鉴定提取物中含蛋白质情况^[12]:用 50 × TAE 溶液,配制 1%琼脂糖凝胶,融化至 60℃左右,加入 10 mg/ml 的溴乙锭溶液 5 μl,倒入电泳模板,插入梳子,室温放置 45 min,放入电泳槽中。加样 PCR Marker:1 μl Marker + 5 μl Loading Buffer 混匀于塑料膜上,加入梳孔中。取 30%、80%醇沉天冬多糖样品及粗糖样品各 5 μl + 1 μl Loading Buffer 混匀依次加入孔中。将 50 × TAE 倒入电泳槽内没过胶面 2 mm。接上 120 V、50 mA 电源,40 min。取凝胶模板置于玻璃板上,300 nm 波长紫外灯下检测观察,拍照。

1.2.3 高效液相色谱法检测提取物分子量^[13]:使用 Agilent(HP1100 型)高效液相色谱仪。取 30%醇沉纯品天冬脱蛋白多糖样品以纯水溶解,配成 2 mg/ml 溶液,微量进样器进样 25 μl,以纯水为流动相,流速 0.8 ml/min,柱温 40℃,检测器为示差折光检测器与紫外检测器(VWD、波长 254 nm)联用,凝胶色谱法(GPC)专用软件分析。

1.3 噻唑蓝(MTT)法研究天冬脱蛋白多糖对于人肝癌 SMMC-7721 细胞生长的影响^[14-15]。

1.3.1 天冬多糖剂量范围的探索 人肝癌 SMMC-7721 细胞株(上海中医药大学细胞实验中心提供)解冻复苏后,培养皿传代培养。取对数生长期细胞培养皿,用 0.25%胰蛋白酶溶液 0.5 ml 消化 10 min,用含 10%小牛血清的 RPMI 1640 培养液配

成单个细胞悬液(镜下见细胞团小于 5%),锥虫蓝染色计数,稀释成约 $10^3 \sim 10^4$ 个/ml。96 孔板培养细胞接种,设空白孔、生理盐水对照孔、天冬多糖剂量探索孔。24 h 后加入用 ^{60}Co 照射灭菌处理后的天冬多糖,使终浓度分别为 6.25、12.5、25、50、100、200、300、400、500、600、700、800、1 000、1 500、1 800 和 2 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$,每浓度设 3 个复孔。 CO_2 孵箱中 37°C 培养 48 h,加入浓度为 5 mg/ml 的 MTT,每孔 20 μl ,放回 5% CO_2 培养箱 37°C 孵育 3 ~ 4 h。吸去上清液,每孔加入二甲亚砜 150 μl ,微型振荡器振荡 10 min,使结晶完全混匀溶解,快速翻转法倒出上清液,用自动酶标仪(490 nm 参照)检测 A 值,以空白孔 A 值调零。按下式计算细胞存活率,并绘制浓度-存活率曲线图。

细胞存活率(%) = [(加药组 A 平均值 - 空白孔 A 平均值)/(生理盐水对照组 A 平均值 - 空白孔 A 平均值)] \times 100%。

细胞抑制率(%) = 1 - 细胞存活率。

1.3.2 天冬多糖对 SMMC-7721 细胞生长抑制实验

取对数生长期 SMMC-7721 细胞培养皿一块,细胞处理同上。细胞接种 96 孔培养板 4 块,设空白、生理盐水对照组、天冬多糖组、顺铂组。24 h 后,参考探索剂量有效范围设五个浓度,加入天冬多糖,使终浓度分别为:900、1 200、1 500、1 800、2 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$;加入顺铂(中国山东齐鲁制药生产),使终浓度分别为 3、6.25、12.5、25、50 $\mu\text{g}/\text{ml}$,每浓度设 5 个复孔。 CO_2 孵箱中 37°C 培养。分别于 24、48、72 和 96 h 取出。后续处理同上。计算出细胞抑制率,并绘制调零后 A 值-时间曲线图(生长曲线)^[16]、时间-抑制率曲线图。

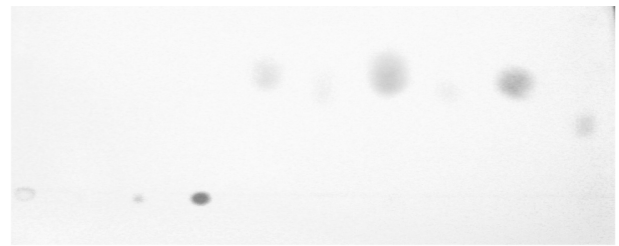
1.4 统计学分析

采用统计 SPSS 12.0 统计软件分析,数据统计采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间均数比较用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 薄层层析法结果

采用本实验方法获得的天冬粗多糖、30%、80% 纯品醇沉天冬脱蛋白多糖不含单糖成分(图 1)。



粗多糖 30% 80% 阿拉伯糖 葡萄糖 甘露糖 半乳糖 糖果糖 蔗糖
(纯品天冬脱蛋白多糖)

图 1 薄层层析法排除单糖结果

2.2 化学反应法和琼脂糖凝胶电泳法结果

粗多糖样品含有蛋白质约 400 bp 大小,采用本实验方法获得的天冬脱蛋白多糖,不含蛋白质、肽类、胺类和氨基酸成分(见表 1、图 2)。

2.3 高效液相色谱法检测结果

用纤维素及琼脂糖凝胶层析柱纯化,可以获得纯度较高、已脱蛋白的天冬多糖。高效液相色谱检测分子量结果表明:30%醇沉纯品天冬脱蛋白多糖呈近似对称单一主峰,主峰面积占 85%以上,分子量在 5 000 ~ 400 000 u,见表 2、图 3、4。

2.4 不同浓度天冬多糖对 SMMC-7721 的生长影响(作用 48 h、MTT 法检测)

剂量范围的探索结果表明:5 000 ~ 400 000 u 分子量范围的纯品天冬脱蛋白多糖对于人肝癌 SMMC-7721 细胞株的生长具有双向调节作用。浓度较小时($\leq 800 \text{ mg}/\text{L}$)对于 SMMC-7721 细胞的生长具有一定的促进作用,而当浓度较大时($\geq 900 \text{ mg}/\text{L}$)则表现出具有一定的抑制作用,见表 3、图 5。

2.5 天冬多糖对 SMMC-7721 细胞生长抑制试验(作用 24、48、72、96 h、MTT 法检测)

结果表明:在过高浓度情况下,纯品天冬脱蛋白多糖对于 SMMC-7721 细胞的抑制作用,存在着量效关系,而且随着作用时间的延长,抑制作用愈明显,即存在时效关系,见表 4。

3 讨论

表 1 化学反应法脱蛋白天冬多糖定性检测结果

检测试剂 试管溶液 试管编号	0.2% 茚三酮				15% α -萘酚-硫酸				6% 苯酚-硫酸			
	天冬溶液		蛋清溶液		天冬溶液		葡萄糖溶液		天冬溶液		葡萄糖溶液	
颜色反应	1	2	11	12	3	4	7	8	5	6	9	10
	无	无	蓝	蓝	紫环	紫环	紫环	紫环	桔黄	桔黄	桔红	桔红
结论	不含蛋白质、肽、胺或氨基酸		含蛋白质、肽、胺或氨基酸		仅含糖类							

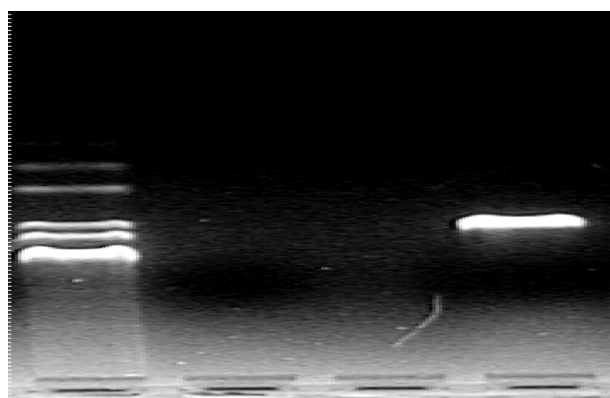


图 2 琼脂糖凝胶电泳法鉴定多糖蛋白质
(纯品天冬脱蛋白多糖) (400bp)
显示 30% 和 80% 样品电泳无蛋白条带

图 2 琼脂糖凝胶电泳法鉴定多糖蛋白质

表 2 30% 醇沉天冬脱蛋白多糖以水为流动相标准保留时间

分子量/ μ	IgM	Rt/min
5 900	3.770 852	24.283
11 800	4.071 882	23.3
22 800	4.357 935	22.223
47 300	4.674 861	20.667
112 000	5.049 218	18.973
212 000	5.326 336	17.646
404 000	5.606 381	16.378
788 000	5.896 526	15.494

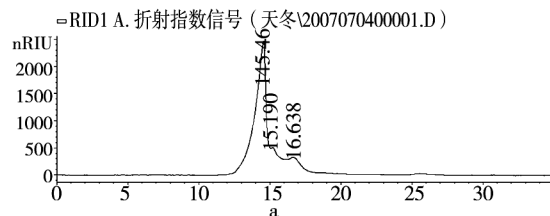


图 3 示差检测器显示 30% (a)、80% (b) 醇沉天冬脱蛋白多糖洗脱峰

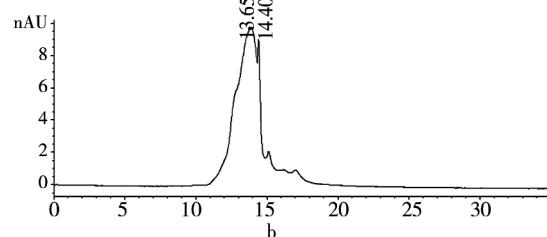


图 3 示差检测器显示 30% (a)、80% (b) 醇沉天冬脱蛋白多糖洗脱峰

天冬具有一定的抗肿瘤作用,这无论在临床上和实验研究中均得到证实和报道^[2-4, 17-18]。天冬含有一定的黏液质^[2],天冬提取物可以制成作为末梢型抗肿瘤栓塞剂的胶样制剂,且生物相容性好、低毒^[6-7, 19]。天冬抗肿瘤的有效成分是天冬多糖,从块根抑瘤有效部位可分离出天冬多糖 A、B、C、D。本实验提取天冬多糖方法可靠,可以获得纯度较高的纯品天冬脱蛋白多糖,分子量 5 000 ~ 400 000 u。

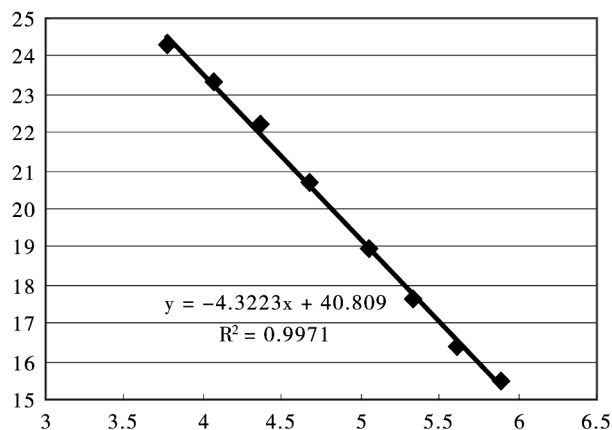


图 4 30% 醇沉天冬脱蛋白多糖以水为流动相标准曲线

表 3 48 h 天冬多糖对 SMMC-7721 的生长影响的剂量

组别	剂量(mg/L)	A 值	抑制率(%)	存活率(%)
天冬多糖	6.25	0.596 3 ± 0.003 51		1.001 98
	12.5	0.576 3 ± 0.004 73		1.015 85
	25	0.586 3 ± 0.008 33		1.035 66
	50	0.594 7 ± 0.007 37		1.053 5
	100	0.622 0 ± 0.004 58		1.106 99
	200	0.642 7 ± 0.004 73		1.148 6
	300	0.667 7 ± 0.005 13		1.198 14
	400	0.697 3 ± 0.004 04		1.255 6
	500	0.651 7 ± 0.006 03		1.166 44
	600	0.630 7 ± 0.008 50		1.124 83
	700	0.584 3 ± 0.008 62		1.031 7
	800	0.574 3 ± 0.005 69		1.011 89
	1 000	0.547 7 ± 0.007 02	0.039 63 *	0.960 37
	1 500	0.526 7 ± 0.008 62	0.081 24 *	0.918 76
空白	1 800	0.496 0 ± 0.007 94	0.142 66 *	0.857 34
	2 100	0.480 7 ± 0.013 58	0.172 38 *	0.827 62
同体积生理盐水		0.568 3 ± 0.007 84		

* 与空白组相比 $P < 0.05$

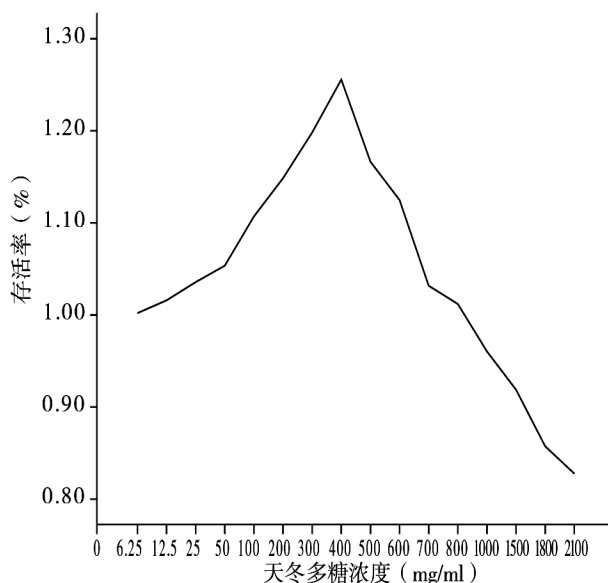


图 5 不同的浓度天冬多糖对 SMMC-7721 细胞存活率曲线
(加药 48 h 剂量探索)

表 4 天冬多糖对 SMMC-7721 生长抑制作用

组别	剂量(mg/L)	24 h		48 h		72 h		96 h	
		A($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)	A($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)	A($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)	A($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)
天冬多糖	900	0.631 0 ± 0.003 39	0.978	0.670 8 ± 0.023 78	1.173*	0.855 6 ± 0.027 04	1.52*	0.976 0 ± 0.004 58	2.188*
	120 0	0.620 8 ± 0.004 02	2.759*	0.635 4 ± 0.023 87	6.943	0.801 2 ± 0.037 56	8.296*	0.894 0 ± 0.004 90	9.19*
	150 0	0.614 8 ± 0.005 12	3.807*	0.630 4 ± 0.037 08	7.757	0.7456 ± 0.048 86	15.222*	0.816 6 ± 0.009 50	17.659*
	180 0	0.598 4 ± 0.008 65	6.671*	0.592 8 ± 0.030 11	13.885*	0.702 6 ± 0.024 43	20.578*	0.757 6 ± 0.012 46	24.114*
	210 0	0.586 2 ± 0.007 66	8.802*	0.569 4 ± 0.022 07	17.699*	0.656 2 ± 0.031 20	26.358*	0.701 8 ± 0.008 29	30.219*
顺铂	3	0.619 6 ± 0.007 54	2.969*	0.634 6 ± 0.024 40	7.073	0.733 4 ± 0.015 08	16.741*	0.722 4 ± 0.013 79	27.965*
	6.25	0.597 4 ± 0.005 94	6.846*	0.588 6 ± 0.018 46	14.57*	0.673 6 ± 0.024 91	24.19*	0.614 4 ± 0.0126 8	39.781*
	12.5	0.570 4 ± 0.012 76	11.561*	0.560 6 ± 0.022 19	19.133*	0.552 8 ± 0.015 45	39.238*	0.523 6 ± 0.010 53	49.716*
	25	0.521 8 ± 0.007 19	20.049*	0.495 4 ± 0.018 81	29.759*	0.494 4 ± 0.016 35	46.512*	0.446 4 ± 0.012 88	58.162*
	50	0.491 6 ± 0.008 93	25.323*	0.428 6 ± 0.023 19	40.645*	0.411 6 ± 0.012 05	56.823*	0.348 6 ± 0.010 16	68.862*
空白	生理盐水(同体积)	0.636 6 ± 0.010 05		0.678 0 ± 0.021 44		0.867 8 ± 0.020 64		0.978 0 ± 0.008 27	

* 与空白组相比 $P < 0.05$

本实验发现天冬多糖对于人肝癌 SMMC-7721 细胞株的生长具有双向调节作用, 在 $\leq 800 \mu\text{g/ml}$ 的低浓度情况下, 具有一定的促进 SMMC-7721 细胞生长的作用。考虑可能系天冬多糖在浓度较低的情况下, 作为一种营养成分, 可促使肿瘤细胞生长。而在 $\geq 900 \text{ mg/L}$ 高浓度情况下, 天冬多糖对于 SMMC-7721 细胞的抑制作用, 存在着量效关系, 且随着作用时间的延长, 抑制作用更加明显, 此点也有文献报道^[20]。由于天冬多糖在高浓度时以胶体状态存在, 这种抑制作用对于天冬胶的应用具有一定的意义。对于天冬多糖抑制肿瘤的机制, 尚有待进一步深入研究。

[参 考 文 献]

- [1] 李时珍·明. 本草纲目(校点本)[M]. 北京: 人民卫生出版社. 1982, 1281 - 1285.
- [2] 江苏新医学院. 中药大词典[M]. 上海: 上海科学技术出版社. 1986, 318 - 320.
- [3] 骆和生, 周岱翰. 常用抗肿瘤中草药[M]. 广州: 广东科技出版社. 1981, 199 - 200.
- [4] 罗俊, 龙庆德, 李诚秀, 等. 地冬及天冬对荷瘤小鼠的抑瘤作用[J]. 贵阳医学院学报. 2000, 25: 15 - 16.
- [5] 杜旭华, 郭允珍. 抗癌植物药的开发生研究-IV, 中药天冬的多糖类抗癌活性成分的提取与分离[J]. 沈阳药学院学报, 1990, 7: 197 - 201.
- [6] 张闽光, 黄学菁, 蒋海平, 等. 天冬胶作为血管栓塞剂毒性实验的初步报告[J]. 中国中西医结合影像学杂志, 2003, 1: 20 - 22.
- [7] 邢东炜, 张闽光, 刘力, 等. 荷瘤大鼠肝动脉注射天冬胶毒

副作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21: 239 - 241.

- [8] 张部昌, 吴东儒. 天门冬多糖的分离纯化及其部分理化性质[J]. 安徽大学学报(自然科学版), 1994, 18: 88 - 93.
- [9] 张部昌, 赵帆平, 袁华玲, 等. 天门冬糖蛋白的分离纯化及其糖肽键的研究[J]. 安徽大学学报(自然科学版), 1996, 20: 53 - 57.
- [10] 丁登峰, 向大雄, 刘韶, 等. 玉竹多糖的提取及其对链脲佐菌素诱导糖尿病大鼠血糖的影响[J]. 中南药学, 2005, 3: 222 - 224.
- [11] 杜旭. 天门冬的薄层层析法鉴定试验(摘译)[J]. 国外医学中医中药分册, 2004, 26: 121.
- [12] 郑震寰, 尹鸿萍, 张芳, 等. 螺旋藻多糖的琼脂糖凝胶电泳鉴别[J]. 中国生化药物杂志, 2003, 24: 34 - 35.
- [13] 刘长福, 刘涛, 刘秀梅. 高效液相色谱法测定香菇多糖的分子量[J]. 化学工程师, 2005, 7: 28 - 29.
- [14] 汪谦. 现代医学实验方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998, 125 - 155.
- [15] 辛华. 细胞生物学实验[M]. 北京: 科学出版社, 2004, 97 - 127.
- [16] 沈慧, 王万银, 秦海宏, 等. MTT 比色法绘制不同锌浓度下细胞生长曲线[J]. 广东微量元素科学, 2004, 11: 16 - 18.
- [17] 俞发荣, 连秀珍, 石军年. 天门冬提取物对 Hep 细胞毒性作用研究[J]. 甘肃科技, 2006, 22: 195 - 196.
- [18] Agrawal A, Sharma M, Rai SK, et al. The effect of the aqueous extract of the roots of *Asparagus racemosus* on hepatocarcinogenesis initiated by diethylnitrosamine[J]. Phytother Res, 2008, 22: 1175 - 1182.
- [19] 张闽光, 耿坚, 刘力, 等. 一种抗肿瘤血管栓塞剂及其制备方法[P]. 中国专利: ZL200410025494. 5 [2004-6-25].
- [20] 徐从立, 陈海生, 谭兴起, 等. 中药天冬的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17: 128 - 130.

(收稿日期: 2010-11-15)