

# Effects of Ethyl Coumarin-3-Carboxyl L-Theanine on the Growth of Human Hepatocellular Carcinoma Cells

Yan Zhang<sup>1\*</sup>, Baoling Deng<sup>2\*</sup>, Xiaoyu Shi<sup>1</sup>, Xinyue Shao<sup>1</sup>, Guoying Zhang<sup>1#</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Molecular Pharmacology, School of Pharmacy, Yantai University, Collaborative Innovation Center of Advanced Drug Delivery System and Biotech Drugs in Universities of Shandong, Key Laboratory of Molecular Pharmacology and Drug Evaluation (Yantai University), Ministry of Education, Yantai University, Yantai Shandong

<sup>2</sup>Lianyungang Higher Vocational and Technical School of Traditional Chinese Medicine, Lianyungang Jiangsu  
Email: 1462924469@qq.com, #zhang\_zhang6173@aliyun.com

Received: Jul. 20<sup>th</sup>, 2019; accepted: Aug. 8<sup>th</sup>, 2019; published: Aug. 15<sup>th</sup>, 2019

## Abstract

Human hepatocellular carcinoma (HHC) is one of the most common cancers in the world. The purpose of this study is to investigate the effect of ethyl coumarin-3-carboxyl L-theanine (TEC) synthesized chemically by the theanine from natural tea on the growth of human HHC cell lines. The method of 3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazoliumbromide (MTT) was used to evaluate the effects of TEC at different concentrations on the growth of HHC SMMC7721 and HepG2 cell lines. The experimental results demonstrated that TEC at 16 to 250  $\mu\text{M}$  significantly suppressed the growth of both SMMC7721 ( $P < 0.01$ ) and HepG2 ( $P < 0.05$ ) cells at dose- and time-dependent ways after the cells were treated with TEC for 48 and 72h, respectively. The inhibitory effect of TEC on SMMC7721 was much stronger than that of HepG2. Our present results suggest that TEC can significantly repress HHC cell growth and it is worthwhile to further study its anticancer activity.

## Keywords

TEC, Human Hepatocellular Carcinoma, Growth Inhibition

# 茶乙香酰胺对人肝癌细胞生长的影响

张燕<sup>1\*</sup>, 邓宝玲<sup>2\*</sup>, 石晓玉<sup>1</sup>, 邵欣悦<sup>1</sup>, 张国营<sup>1#</sup>

<sup>1</sup>烟台大学药学院分子药理学实验室, 烟台大学新型制剂与生物技术药物研究山东省高校协同创新中心、分子药理和药物评价教育部重点实验室(烟台大学), 山东 烟台

\*共第一作者。

#通讯作者。

<sup>2</sup>连云港中医药高等职业技术学校, 江苏 连云港  
Email: 1462924469@qq.com, #zhang\_zhang6173@aliyun.com

收稿日期: 2019年7月20日; 录用日期: 2019年8月8日; 发布日期: 2019年8月15日

## 摘要

肝癌是最常见的恶性肿瘤之一, 本文的目的是探究天然的茶叶活性成分茶氨酸化学合成获得的衍生物茶乙香酰胺(ethyl coumarin-3-carboxyl L-theanine, TEC)对人肝癌细胞生长活性的影响。使用化学合成方法由茶氨酸合成茶乙香酰胺, 通过细胞生长活性评价方法3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)检测分析不同浓度的TEC作用人肝癌SMMC7721和HepG2细胞48和72小时后的生长活性。实验结果表明: TEC在16-250  $\mu\text{M}$ 浓度能够显著性地抑制SMMC7721 ( $P < 0.01$ )和HepG2细胞( $p < 0.05$ )的生长, 呈现浓度-剂量及时效依赖性作用, 并且, TEC对SMMC7721细胞的抑制作用比对HepG2细胞更强。我们目前的结果显示: 茶乙香酰胺能够显著性抑制人肝癌SMMC7721细胞和HepG2细胞的生长, 值得进一步研究其抗癌活性。

## 关键词

茶乙香酰胺, 肝癌细胞, 抗肿瘤

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

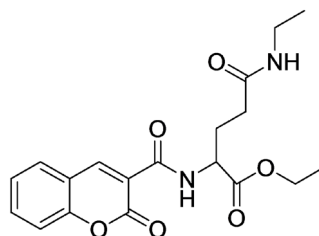


Open Access

## 1. 引言

肝癌是预后较差的恶性肿瘤, 发病率及病死率极高。迄今为止, 肝癌的发生发展机制尚未完全明确。多学科综合治疗是治疗肝癌的主要手段[1]。在我国, 肝癌是发病率最高的恶性肿瘤之一, 居恶性肿瘤致死率第二位[2]。肝癌具有发病隐匿、发展迅速、转移及侵袭能力强、恶性度高的特点, 严重危害着人类的生命健康。目前治疗肝癌的方法较多, 根据不同的分期, 选择的手术方式也不相同, 以多学科联合治疗为主的个体化治疗策略在肝癌治疗中正逐渐的推广开来, 使肝癌的5年生存率得到了提高, 但肝癌复发和转移仍是目前亟待解决的难题[3]-[8]。因此以抑制肝脏肿瘤生长为切入点, 研究高效、低毒的新型抗肿瘤药物以及新的治疗方案是临床上迫切需要解决的问题。

茶叶在中国是最常见的饮品之一, 茶氨酸是茶叶中普遍存在的氨基酸成分, 茶氨酸口味鲜甜[9], 不仅可以作为食品添加剂[10], 其生理作用也逐渐成为研究重点。近年来, 随着茶氨酸(N-乙基  $\gamma$ -谷氨酰胺)合成技术的逐渐成熟, 其药理作用也逐渐明确, 大量研究表明, 茶叶能够减肥抗氧化、降血脂、降压、保护血管、抗辐射、抗病毒、抗肿瘤、提高机体免疫力等, 在抑制肿瘤细胞发生和生长的同时, 还可降低化疗药物的毒副作用[11]-[17]。但茶氨酸本身结构及生理特点使其抗肿瘤作用较弱。本实验室对其化学结构进行了改造优化, 合成了茶氨酸衍生物茶乙香酰胺(TEC), 其化学结构式(如图 1), 显著提高了它对肺癌细胞生长的抑制作用[18]。为了研发新型抗肝癌药物、了解 TEC 对人肝癌细胞的影响, 本实验探究了 TEC 对于人肝癌 SMMC7721 细胞和 HpeG2 细胞的生长的抑制作用。



**Figure 1.** The Chemical structure of ethyl coumarin-3-carboxyl-L-theanine (TEC)  
**图 1.** 茶乙香酰胺的化学结构

## 2. 材料与方法

### 2.1. 主要试剂及仪器

人肝癌 SMMC7721 细胞系和 HepG2 细胞系购自中国科学院上海研究所；DMEM 高糖培养基、胎牛血清(FBS)、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  链霉素、100 U/mL 青霉素购自美国 Hyclone 公司；胰蛋白酶(trypsin)购自 Amersco 公司；0.4%台盼蓝、3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)购自 Sigma 公司；TEC 由本实验室依据之前已经发表的方法[18]制备提供。

### 2.2. 仪器

3111 型二氧化碳培养箱(Thermo 公司)；TE2000-U 型倒置荧光显微镜(Nikon 公司)；全自动酶标仪(BIO-RAD 公司)；离心机(Eppendorf 公司)。

### 2.3. 细胞培养

取 SMMC7721 细胞和 HepG2 细胞复苏后，将其置于含有 10%的 FBS，1%的青链霉素的 DMEM 高糖培养液中，于 37 $^{\circ}\text{C}$ ，5%  $\text{CO}_2$  的培养箱中培养。待细胞覆盖至全皿 70%-80%且生长状态良好时可进行传代处理。

### 2.4. MTT 法检测 TEC 对人肝癌 SMMC7721 细胞和 HepG2 细胞生长的影响

参照本实验室之前[19] [20] [21]报道的方法，用胰蛋白酶(0.25%)处理对数期的肝癌细胞，调整细胞浓度为  $2 \times 10^4/\text{mL}$ ，接种在 96 孔板中，每组分三个复孔，在 37 $^{\circ}\text{C}$  二氧化碳培养箱培养 24 h 后分别以溶媒对照，加入等体积浓度为 16、64、125、250  $\mu\text{M}$  的 TEC。于培养箱中培养 48 h 和 72 h 后分别取出，每孔各加入 10  $\mu\text{L}$ ，5 mg/mL MTT 溶液，37 $^{\circ}\text{C}$  孵育 4 h。吸去上清液，每孔加入 150  $\mu\text{L}$  DMSO 溶解甲臜，于摇床(20RPM, 25 $^{\circ}\text{C}$ )振摇 15 min 后，用酶标仪选取最适波长 570 nm (630 nm 参考波长校准)测定各孔的吸光度(A)，记录并计算出细胞相对生长率，以溶媒对照组为 100%，计算各实验组的相对生长率来评价其对肝癌细胞生长的影响。

$$\text{细胞相对生长率} = (A_{\text{药物组}} / A_{\text{溶媒组}} \times 100\%)$$

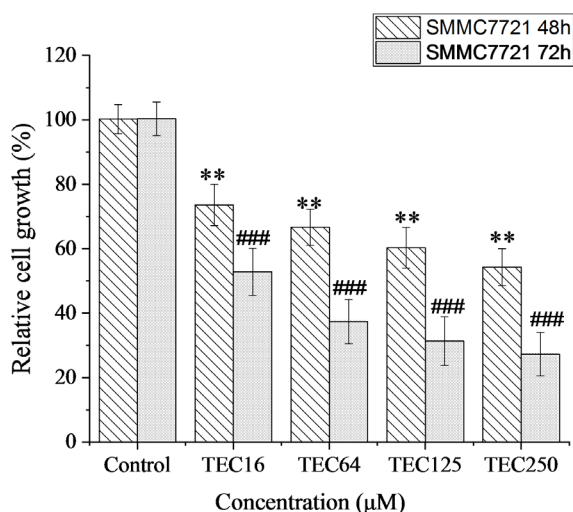
### 2.5. 统计学处理

实验结果采用 SPSS17.0 软件分析处理，以  $\bar{X} \pm SD$  表示计算结果，采用  $t$  检验，计算是否具有显著性差异。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3. 实验结果

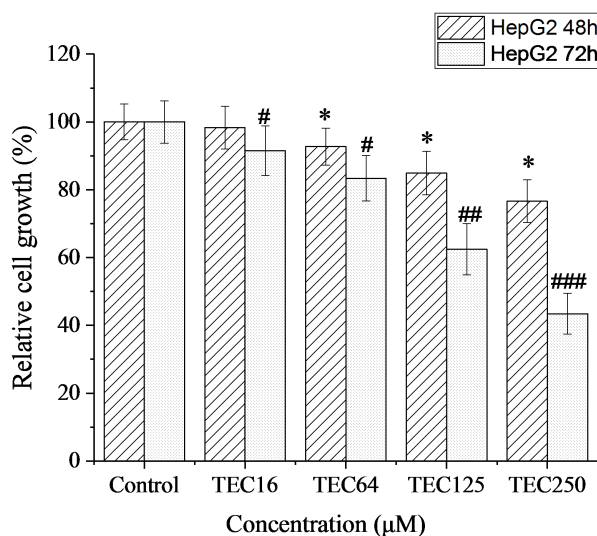
本实验用 MTT 法检测不同浓度 TEC 对人肝癌 SMMC7721 细胞(如图 2)、HepG2 细胞(如图 3)生长的

影响,其结果表明:随着药物浓度的增加和作用时间的延长其抑制作用显著增强,具有时间剂量依赖性。各实验组对人肝癌 SMMC7721 细胞的生长均具有显著抑制作用;实验组与溶媒对照组相比,TEC 对人肝癌 HepG2 细胞的生长有较弱的抑制作用。16  $\mu\text{M}$  的 TEC 与 SMMC7721 细胞分别作用 48 h 和 72 h 后,对其生长的抑制率分别为 26.47%、47.19%,250  $\mu\text{M}$  的 TEC 与 SMMC7721 细胞分别作用 48 h 和 72 h 的抑制作用分别为 45.72%、72.76%,16  $\mu\text{M}$  的 TEC 与 HepG2 细胞分别作用 48 h 后,对其生长的抑制作用不显著,浓度达到 64  $\mu\text{M}$ 、125  $\mu\text{M}$ 、250  $\mu\text{M}$  作用 48 h 后抑制作用显著,其 72 h 后的抑制作用增加更显著,分别为 7.27%、37.58%、56.56%。



**Figure 2.** Effect of TEC on the growth of SMMC7721 cells. \* for 48 h, compared with control,  $\bar{X} \pm SD$ ,  $n=3$ ,  $**P < 0.01$ ; # for 72 hours, compared with control,  $n=3$ ,  $###P < 0.001$

**图 2.** TEC 对 SMMC7721 细胞生长的影响。\*代表 48 h 时,与溶媒对照组比有显著性差异,  $\bar{X} \pm SD$ ,  $n=3$ ,  $**P < 0.01$ ; #代表 72 h 时,与溶媒对照组比有显著性差异,  $\bar{X} \pm SD$ ,  $n=3$ ,  $###P < 0.001$



**Figure 3.** Effect of TEC on the growth of HepG2 cells. \* for 48 h, compared with control,  $\bar{X} \pm SD$ ,  $n=3$ ,  $*P < 0.05$ ; # for 72 hours, compared with control,  $n=3$ ,  $#P < 0.05$ ,  $##P < 0.01$ ,  $###P < 0.001$

**图 3.** TEC 对 HepG2 细胞生长的影响。\*代表 48 h 时,与溶媒对照组比有显著性差异,  $\bar{X} \pm SD$ ,  $n=3$ ,  $*P < 0.05$ ; #代表 72 h 时,与溶媒对照组比有显著性差异,  $\bar{X} \pm SD$ ,  $n=3$ ,  $#P < 0.05$ ,  $##P < 0.01$ ,  $###P < 0.001$

## 4. 讨论

肝细胞癌是世界上最常见的恶性肿瘤。死亡率居全国恶性肿瘤死亡率的第 2 位, 发病率居恶性肿瘤的第 3 位[22]。目前肝癌诊断主要以 AFP、超声检查、X 线计算机断层成像(CT)、磁共振成像及肝穿刺活检为主要指标, 与肝癌的高危因素结合起来对肝癌进行诊断[23] [24] [25] [26]。早期筛查肝癌高危人群是提高肝癌患者疗效的关键措施, 有利于肝癌的早期发现、诊断及治疗。AFP 作为监测肝癌的主要指标, 高危人群进行早期筛查肝癌的主要手段是 AFP 和超声检查, 建议至少间隔 6 个月进行 1 次检查。肝癌的综合治疗主要包括手术、介入治疗、放化疗等, 尽管肝癌在诊断和治疗方面取得了一些进展, 但由于它不易被早期诊断并且病情进程快, 预后较差, 仍然是全球癌症死亡的重要原因, 5 年生存率仍然很低[27] [28] [29]。中国亦是肝癌的高发地区, 发病人数较多且呈上升趋势, 防治形势相当严峻[30]。寻找高效低毒的抗肝癌药物显得尤为重要。中药治疗肿瘤具有悠久的历史, 具有低毒副作用、价格低廉等优点。目前已有较多的肿瘤研究学者从中草药中寻找高效低毒的抗肿瘤药物, 已有大量的研究显示多种中草药对肿瘤生长有抑制作用。随着现代技术的进步及中医药的快速发展, 许多中药的疗效逐渐被全世界认可, 比如复方丹参滴丸、康莱特注射液等中药制剂。中草药因在治疗肿瘤方面的临床使用效果明显, 并可延长患者的生存时间、改善生存质量而受到许多医学工作者的关注, 但是其具体药效作用机制还有待进一步深入探究。传统中医药是从整体上系统地调控机体, 可多靶点、多方位和多层面抑制肿瘤生长, 这是它治疗疾病的优势[31]-[39]。

目前在分子、基因层面探索中, 中药抗肝癌药效作用机制已经成为时下研究的热点, 但是中药复方的治病机制复杂多样决定了其独特的研究思路。天然茶叶是常见的中药成分, 茶氨酸作为茶叶中特征性活性成分, 是一种人体非必需的氨基酸, 有多种药理活性, 且安全无毒副作用, 已经成为无量的食品添加剂用于食品工业, 其药理活性也具有广阔的开发潜力。但是, 鉴于茶氨酸的抗肿瘤药理作用较弱, 前期本实验室对其化学结构进行改造修饰得到了茶乙香酰胺, 初步研究其对肺癌细胞生长的影响, 发现其对多种肺癌细胞有较强的抑制作用, TEC 能够显著抑制肺癌细胞生长、迁移并诱导癌细胞凋亡, TEC 药物分子作用机制可能与下调肺癌细胞中血管内皮生长因子受体 VEGFR1、磷酸化蛋白激酶 B (phosphorylated protein kinase B, p AKT)、核转录因子 NF- $\kappa$ B、抗凋亡蛋白(BCL2, apoptosis regulator, BCL2)、细胞周期蛋白(cyclin D1, CCND1)表达和上调促凋亡蛋白(BCL2 associated X, apoptosis regulator, BAX)有关, TEC 抑制人肺癌细胞生长和迁移作用可能涉及到 VEGFR/AKT/NF- $\kappa$ B 这一信号通路。本实验研究证实了茶乙香酰胺对人肝癌细胞的生长有显著的抑制作用, 是否与 VEGFR/AKT/NF- $\kappa$ B 通路有关值得进一步深入研究。

本实验通过 MTT 比色法测定其对肝癌 SMMC7721、HepG2 细胞生长的影响。MTT 是一种黄色染料, 可被活细胞线粒体内的琥珀酸脱氢酶还原为不溶性的紫色甲臞(Formazan)并沉积于细胞中, 而死细胞并没有此作用。二甲基亚砜(DMSO)可以溶解甲臞, 用酶标仪测定其吸收值, 就可间接反映出活细胞的相对数量。本实验研究结果显示 TEC 对肝癌 SMMC7721 和 HepG2 细胞的生长均具有抑制作用, 对 SMMC7721 细胞尤为显著, 且呈现良好的有剂量-时间依赖性, 为下一步的研究提供了一定的基础依据。茶氨酸的来源广泛, 价格低廉, 通过对其结构进行改造, 提高抗肿瘤的活性, 如果能将其开发成广谱的抗肿瘤药物将会具有广泛的应用前景。

## 基金项目

山东省自然科学基金资助项目(ZR2019MH076)。

## 参考文献

- [1] 陈世发, 赵礼金. 肝癌发生发展机制的研究进展及其治疗现状[J]. 中国普通外科杂志, 2018, 27(7): 910-923.



- [2] 刘滢, 孙杰, 张婷, 等. 原发性肝癌免疫治疗的现状及未来[J]. 传染病信息, 2019, 32(1): 87-95.
- [3] 熊雨, 唐志宇, 曹文富. 原发性肝癌的中医治疗现状[J]. 内蒙古中医药, 2019, 38(3): 100-101.
- [4] 鞠明光, 戴朝六. 复发性肝癌的治疗现状[J]. 肝胆外科杂志, 2018, 26(5): 321-324.
- [5] van Amerongen, M.J., van der Stok, E.P., Fütterer, J.J., Jenniskens, S.F.M., Moelker, A., Verhoef, C., Grünhagen, D.J. and de Wilt, J.H.W. (2019) Results after Simultaneous Surgery and RFA Liver Ablation for Patients with Colorectal Carcinoma and Synchronous Liver Metastases. *European Journal of Surgical Oncology*. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2019.07.016>
- [6] 陈昉, 曾川, 张献全. 肝细胞肝癌的靶向及免疫治疗研究现状与进展[J]. 医学信息, 2019, 32(3): 45-48.
- [7] Li, S., Huang, P., Fang, Y., Wu, Y., Zhou, L., Luo, J., Wang, X. and Chen, Y. (2019) Ultrasonic Cavitation Ameliorates Antitumor Efficacy of Residual Cancer after Incomplete Radiofrequency Ablation in Rabbit VX2 Liver Tumor Model. *Translational Oncology*, **12**, 1113-1121. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2019.05.007>
- [8] 林威宏, 王家平. 原发性肝癌的介入治疗现状及展望[J]. 云南医药, 2018, 39(4): 361-364.
- [9] Ekborgott, K.H., Taylor, A. and Armstrong, D.W. (1997) Varietal Differences in the Total and Enantiomeric Composition of Theanine in Tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**, 353-363. <https://doi.org/10.1021/jf960432m>
- [10] 张莹, 杜晓, 王孝仕. 茶叶中茶氨酸研究进展及利用前景[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(11): 170-174.
- [11] 袁太守. 湖北五峰绿茶体内外抗肿瘤作用研究[J]. 中外医疗, 2009, 28(8): 84.
- [12] L-茶氨酸调节机体免疫功能机理的研究进展[J]. 湖南农业大学学报, 2016, 42(6): 663-669.
- [13] 高鹏, 胡立勇, 孟佩佩. 等. 茶氨酸抗肿瘤作用及其机制的研究进展[J]. 广东药学院学报, 2010, 26(5): 533-536.
- [14] Zhang, G., Miura, Y., Yagasaki, K., et al. (2002) Effects of Dietary Powdered Green Tea and Theanine on Tumor Growth and Endogenous Hyperlipidemia in Hepatoma-Bearing Rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **66**, 711-716. <https://doi.org/10.1271/bbb.66.711>
- [15] Sadzuka, Y., Sugiyama, T., Sonobe, T., et al. (2000) Improvement of Idarubicin Induced Antitumor Activity and Bone Marrow Suppression by Theanine, a Component of Tea. *Cancer Letters*, **158**, 119-124. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(00\)00491-2](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(00)00491-2)
- [16] Li, C., Tong, H., Yan, Q., et al. (2016) L-Theanine Improves Immunity by Altering TH2/TH1 Cytokine Balance, Brain Neurotransmitters, and Expression of Phospholipase C in Rat Hearts. *Medical Science Monitor*, **22**, 662-669. <https://doi.org/10.12659/MSM.897077>
- [17] 谭俊峰, 林智, 李颀. 茶氨酸复合制剂增强免疫力的功能研究[J]. 茶叶科学, 2012, 32(3): 224-228.
- [18] Zhang, G., Ye, X., Ji, D., et al. (2014) Inhibition of Lung Tumor Growth by Targeting EGFR/VEGFR-Akt/NF- $\kappa$ B Pathways with Novel Theanine Derivatives. *Oncotarget*, **5**, 8528-8543. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2336>
- [19] 郑晓慧, 朱荣芹, 刘真真, 等. 茶氟香酰胺对人肝癌细胞生长和迁移的抑制作用[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2018, 31(2): 136-144.
- [20] 张欣, 张伟伟, 张燕, 等. 茶溴香酰胺脂质体对黑色素瘤细胞生长和迁移的抑制作用[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2017, 32(3): 262-270.
- [21] 盖静, 刘真真, 朱荣芹, 等. 茶硝香酰胺对高转移性 Lewis 肺癌细胞侵袭和转移的抑制作用[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2018, 31(2): 145-152.
- [22] Wang, F.S., Fan, J.G., Zhang, Z., et al. (2014) The Global Burden of Liver Disease: The Major Impact of China. *Hepatology*, **60**, 2099-2108. <https://doi.org/10.1002/hep.27406>
- [23] Seo, W., Gao, Y., He, Y., et al. (2019) ALDH2 Deficiency Promotes Alcohol-Associated Liver Cancer by Activating Oncogenic Pathways via Oxidized DNA Enriched Extracellular Vesicles. *Journal of Hepatology*. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.06.018>
- [24] 付雪岩, 王雅玮, 王文青, 等. RNA 干扰沉默水通道蛋白 3 基因对人肝癌细胞 SMMC-7721 增殖和凋亡的影响[J/OL]. 中国医科大学学报, 1-5. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1227.R.20190712.1550.085.html>, 2019-07-19.
- [25] 陈芝强, 陈怡, 麦喆钡, 等. 基于网络药理学探讨二至丸治疗肝细胞癌的作用机制[J/OL]. 中国实验方剂学杂志, 1-15.
- [26] 何星星, 谢步善, 刘建国, 等. 高通量技术筛选抑制肝癌细胞生长的新型小分子化合物[J]. 南昌大学学报(医学版), 2019, 59(2): 1-4.
- [27] 李梦, 周云, 禹亚彬, 等. 长链非编码 RNA 肝癌高表达转录本促进人骨髓间充质干细胞向肝样细胞的分化[J]. 中国组织工程研究, 2019(29): 4656-4661.
- [28] Kou, Y., Yan, X., Liu, Q., et al. (2019) HBV Upregulates AP-1 Complex Subunit mu-1 Expression via the JNK Path-

way to Promote Proliferation of Liver Cancer Cells. *Oncology Letters*, **18**, 456-464.

<https://doi.org/10.3892/ol.2019.10291>

- [29] Gao, S., Yang, W.S., Zhang, W., *et al.* (2010) Analysis and Comparison of Population-Based Survival Rates of Patients with Primary Liver Cancer Worldwide. *Tumor*, **30**, 1027-1032.
- [30] 姜天奇, 张洪亮. 原发性肝癌的中西医治疗现状[J]. 医学信息, 2019(13): 35-38.
- [31] Li, X., Wei, J., Ahammed, G.J., *et al.* (2018) Brassinosteroids Attenuate Moderate High Temperature-Caused Decline in Tea Quality by Enhancing Theanine Biosynthesis in *Camellia sinensis* L. *Frontiers in Plant Science*, **9**, 1016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01016>
- [32] 杨洲. 茶氨酸保健作用研究进展[J]. 茶叶通讯. 2018, 45(2): 3-7.
- [33] 刘格. 协同索拉非尼抗肝癌活性物质的筛选及作用机制研究[D]: [博士学位论文]. 北京: 中国科学院大学(中国科学院海洋研究所), 2018.
- [34] 张伟伟, 张欣, 石晓玉, 等. 茶氯香酰胺脂质体对人肝癌细胞生长和迁移的抑制作用[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2019, 32(2): 151-158.
- [35] 陶兴魁, 张兴桃, 王海潮, 段红, 程瑾. 薄荷醇对肝癌 HepG2 细胞增殖、迁移及 IL-8, CXCL-12, VEGF 表达的影响[J/OL]. 中国实验方剂学杂志, 1-7.
- [36] 徐菲, 曾杨丽, 李娟, 蔡思, 唐玺, 王智, 肖利辉, 李顺祥. 中药复方防治肝癌作用机制研究进展[J/OL]. 中国实验方剂学杂志, 1-11. 2019-07-19.
- [37] 王昕雯, 朱国光. 大黄素对人肝癌 SMMC7721 细胞增殖的抑制作用[J]. 中国药房, 2016, 27(1): 58-60.
- [38] 乔洪旺, 何军, 郭林娜. 小剂量人参多糖对人肝癌 BEL-7402 细胞生长抑制与诱导分化作用初探[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(14): 1484-1487+1525.
- [39] 刘亮, 刘江惠, 陈乐彤, 等. 青蒿琥酯对肝癌细胞生长的抑制作用及其机制[J]. 解放军医学杂志, 2018, 43(7): 594-599.

#### 知网检索的两种方式:

1. 打开知网首页: <http://cnki.net/>, 点击页面中“外文资源总库 CNKI SCHOLAR”, 跳转至: <http://scholar.cnki.net/new>, 搜索框内直接输入文章标题, 即可查询;  
或点击“高级检索”, 下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2331-8287, 即可查询。
2. 通过知网首页 <http://cnki.net/>顶部“旧版入口”进入知网旧版: <http://www.cnki.net/old/>, 左侧选择“国际文献总库”进入, 搜索框直接输入文章标题, 即可查询。

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [hjmce@hanspub.org](mailto:hjmce@hanspub.org)