

# 小檗碱对阿霉素诱导心肌细胞损伤的保护作用研究

郝刚<sup>1</sup>, 俞蕴莉<sup>2\*</sup>

(1. 苏州市食品药品检验所, 江苏 苏州 215104; 2. 苏州大学附属第二医院, 江苏 苏州 215004)

**[摘要]** 目的: 基于细胞水平研究小檗碱(berberine, Ber)对阿霉素(doxorubicin, DOX)所致心肌损伤的保护作用并探讨其抗氧化机制。方法: 大鼠心肌细胞 H9c2 给药组分为: 空白组, 2  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  DOX 组, 0.1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber 组, 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber 组, 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber 组, 2  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  DOX + 0.1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber 组, 2  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  DOX + 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber 组, 2  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  DOX + 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber 组。各组给药不同时间后测定细胞体积及蛋白含量, RT-PCR 法测定细胞心钠素(ANP), 脑钠素(BNP)表达水平。以半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)活性为指标评价心肌细胞凋亡水平。DCFH 荧光探针法测定细胞 ROS 水平, 同时测定细胞内丙二醛(MDA)生成量, 评价心肌细胞氧化损伤水平。结果: 与空白组比较, 各给药组心肌细胞体积增大, 细胞内蛋白含量增加, ANP, BNP 的 mRNA 水平上调, 细胞内 Caspase-3 活性增强, 导致细胞凋亡, 降低细胞内 ROS 水平, 均具有明显的统计学差异( $P < 0.01$ )。结论: 小檗碱通过抗氧化作用降低阿霉素诱导的心肌细胞损伤。小檗碱与阿霉素合用后, 浓度依赖的抑制阿霉素诱导的心肌肥大, 并有效降低细胞内 ROS 水平, 清除脂质过氧化物, 逆转阿霉素诱导的心肌细胞凋亡。

**[关键词]** 小檗碱; 阿霉素; 心肌毒性

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)24-0114-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015240114

## Protective Effect of Berberine on Doxorubicin-induced Myocardial Cell Injury HAO Gang<sup>1</sup>, YU Yun-li<sup>2\*</sup>

(1. Suzhou Institute for Food and Drug Control, Suzhou 215104, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the potential protective effects of Berberine (Ber) on doxorubicin (DOX)-induced myocardial cell injury and the underlying anti-oxidation mechanisms. **Method:** Rats with H9c2 cells were divided into: blank group, 2  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  DOX group, 0.1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber group, 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber group, 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber group, 2  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  DOX + 0.1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber group, 2  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  DOX + 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber group, 2  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  DOX + 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber group. Cell size and protein content were determined in various groups after different treatment time points. Expression of atrial natriuretic peptide (ANP) and brain natriuretic peptide (BNP) mRNA was detected by real-time PCR. Caspase-3 activity was used as the indicator to evaluate myocardial apoptosis level. DCFH fluorescent probe method was used to detect cellular ROS level, and at the same time determine malonaldehyde (MDA) in the cells, and evaluate oxidative damage level of myocardial cells.

**Result:** Compared with blank group, the myocardial cell size and protein content in cells were increased in various treatment groups, with increase in ANP, BNP mRNA levels and enhancement of Caspase-3 activity, leading to cell apoptosis, decrease in intracellular ROS level, and has statistically significant differences ( $P < 0.01$ ).

**Conclusion:** Ber protected H9c2 cells against the cardiotoxicity of DOX, and the reduction of oxygen free radicals in cardiac myocytes may be the underlying mechanism mediating the protective effect of Ber. Berberine reduces DOX-induced myocardial cell injury by antioxidant effect. Combination of Berberine and doxorubicin can inhibit DOX-induced myocardial hypertrophy, effectively reduce intracellular ROS level, remove lipid peroxides, and reverse DOX-induced myocardial cell apoptosis.

**[Key words]** berberine; doxorubicin; cardiotoxicity

**[收稿日期]** 20150202(014)

**[基金项目]** 江苏省中医药局科技项目(LZ13159)

**[第一作者]** 郝刚, 博士, 主管药师, 从事食品药品安全监控研究, Tel:0512-67079940, E-mail:haogang531@163.com

**[通讯作者]** \*俞蕴莉, 博士, 副主任药师, 从事临床药理学, 药物代谢动力学研究, Tel:0512-67783687, E-mail:haoyl0902@163.com

小檗碱(berberine, Ber)又名黄连素,是一种异喹啉类生物碱,其作为中药黄连的主要成分,广泛用于胃肠炎、细菌性痢疾等疾病的治疗。研究表明,小檗碱除了具有广谱的抗菌作用外,还具有免疫调节,治疗糖尿病,抗高血脂,治疗心血管疾病,防治癌症等多种功效<sup>[1]</sup>。目前,小檗碱应用于心血管疾病的治疗已经成为国内外研究热点之一。我国药理学家张昌绍于 20 世纪 50 年代首次报道了小檗碱可调节心脏的收缩功能<sup>[2]</sup>,此后国内外研究者相继发现,小檗碱还具有抗心律失常,改善心肌能量代谢,稳定心肌电活动,降低血管外周阻力,抗心力衰竭等多种作用<sup>[3-6]</sup>。近年来研究发现,小檗碱与蒽醌类抗肿瘤药物阿霉素(doxorubicin, DOX)合用后,可有效降低阿霉素所致的心肌毒性,但其具体机制尚需深入研究<sup>[7-10]</sup>。本实验采用 H9c2 大鼠心肌细胞模型,基于离体水平考察小檗碱对阿霉素所致心肌毒性的保护作用,并探讨其可能机制。

## 1 材料

**1.1 细胞株** H9c2 细胞购自美国标准生物制品收藏中心。

**1.2 药物及试剂** 小檗碱(纯度 98%,南京青泽医药科技有限公司,批号 110713-201110),注射用阿霉素(浙江海正药业股份有限公司,批号 000212),DCFH-DA(美国 Sigma 公司),DMEM 高糖培养基,心钠素(ANP),脑钠素(BNP)引物(美国 Invitrogen 公司),微量丙二醛(MDA)测试盒,半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)活性测试盒,考马斯亮蓝(上海瑞奇生物科技有限公司)。

**1.3 仪器** Milli-Q 型超纯水器(美国 Millipore 公司),Biofuge Stratos 型高速低温离心机(美国 Thermo Fisher 公司),GENIE® VORTEX-2 型涡旋混合装置(美国 Scientific Industries 公司),XW-80C 型旋涡混合仪(上海医科大学仪器厂),Powerwave 200 型酶标仪(美国 Bio-Tek Instruments 公司),Safire 2 型高通量测读仪(瑞士 Tecan 公司),COIC XDS-1B 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司),灭菌式二氧化碳培养箱(美国 Thermo Forma 公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞培养与分组** H9c2 细胞,37℃,5% CO<sub>2</sub> 环境中培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中,2~3 d 更换培养基。实验前以 1×10<sup>6</sup>/孔的密度将细胞接种于 6 孔细胞培养板中,待细胞贴壁生长 48 h 后开始给药。给药分组为空白组,2 μmol·L<sup>-1</sup> DOX 组,0.1 μmol·L<sup>-1</sup> Ber 组,1 μmol·L<sup>-1</sup> Ber 组,

10 μmol·L<sup>-1</sup> Ber 组,2 μmol·L<sup>-1</sup> DOX + 0.1 μmol·L<sup>-1</sup> Ber 组,2 μmol·L<sup>-1</sup> DOX + 1 μmol·L<sup>-1</sup> Ber 组,2 μmol·L<sup>-1</sup> DOX + 10 μmol·L<sup>-1</sup> Ber 组。各给药组阿霉素与小檗碱均用培养基溶解,给药前过滤除菌。

**2.2 细胞形态变化及蛋白含量测定** 给药 6 h 后除去培养基,无菌 PBS 溶液清洗 2~3 遍,光学显微镜下观察各组细胞形态。各给药组随机选择 10 个不同视野,每个视野下随机选择 10 个细胞,利用显微镜 QWin V3 软件测量细胞直径(r),并计算细胞体积  $V = 4/3 \times \pi \times r^3$ 。收集细胞,1 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,计数板测定细胞数量,加入 20 μL 细胞裂解液,冰上静置 30 min,1 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,收集上清液,BCA 法测定蛋白含量。

**2.3 ANP, BNP mRNA 检测** 细胞给药 6 h 后加入 1 mL Trizol 试剂裂解细胞,裂解液经三氯甲烷抽提,异丙醇沉淀后用 DEPC 水回收总 RNA,RT-PCR 测定 ANP 及 BNP 的 mRNA。ANP 上游引物:5'-GGAGCCTGCGAAGGTCAA-3', ANP 下游引物:5'-TATCTTCGGTACCGGAAGCTGT-3', BNP 上游引物:5'-CAGAAGCTGCTGGAGCTGATAAG-3', BNP 下游引物:5'-TGTAGGGCCTTGTCCTTTG-3', β-actin 上游引物:5'-TCAGGTCATCACTATCGGCAAT-3', β-actin 下游引物:5'-AAAGAAAGGGTGTAAAA CGCA-3'。

**2.4 细胞凋亡水平检测** 细胞给药 12 h 后除去培养基,PBS 清洗 1~2 遍,按 Caspase-3 活性测定试剂盒操作说明进行实验,λ = 405 nm 下测定各给药组吸光度 A,计算 A(给药组)/A(空白组),评价 Caspase-3 活性。

**2.5 ROS 水平测定** 细胞给药 6 h 后除去培养基,PBS 清洗 1~2 遍,加入 200 μL DCFH-DA,37℃ 避光孵育 30 min,清洗细胞后加入 200 μL PBS,激发波长 488 nm,发射波长 525 nm 条件下测定 A。

**2.6 MDA 含量测定** 细胞给药 12 h 后除去培养基,PBS 清洗 1~2 遍,加入 200 μL 裂解液,冰上裂解 30 min。按 MDA 测试盒操作说明,λ = 532 nm 处测定 A 值并计算 MDA 含量。

**2.7 统计学分析** 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计量资料均用  $\bar{x} \pm s$  表示,根据数据处理的不同方法,选用方差分析或 t 检验进行组间差异分析,以 P < 0.05 为差异具有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对 DOX 诱导的心肌细胞肥大的影响** 与空白组比较,DOX 组心肌细胞体积及蛋白含量明显增加

( $P < 0.01$ ), Ber 在 0.1, 1, 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  3 个浓度下对心肌细胞体积及蛋白含量无明显影响。与 DOX 组比较, Ber 可浓度依赖的抑制 DOX 诱导的心肌细胞体积增大及蛋白含量增加, 其中 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber + DOX 给药组与 DOX 单用组比, 细胞体积降低了 26% ( $P < 0.05$ ), 蛋白含量降低了 22% ( $P < 0.05$ ); 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber + DOX 给药组与 DOX 单用组比, 细胞体积降低了 42% ( $P < 0.01$ ), 蛋白含量降低了 38% ( $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 小檗碱对心肌细胞体积与蛋白含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 100$ )

Table 1 Effects of Ber on myocardial cell volume and protein content ( $\bar{x} \pm s, n = 100$ )

组别	浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	细胞体积 / $\times 10^3 \mu\text{m}^3$	蛋白含量 / $\mu\text{g}/10^5$ 细胞
空白	-	2.82 $\pm$ 0.29	2.17 $\pm$ 0.12
Ber	0.1	2.67 $\pm$ 0.11	1.98 $\pm$ 0.15
	1	2.89 $\pm$ 0.19	2.02 $\pm$ 0.23
	10	2.76 $\pm$ 0.33	2.35 $\pm$ 0.16
DOX	2	6.48 $\pm$ 0.54 <sup>1)</sup>	5.84 $\pm$ 0.66 <sup>1)</sup>
DOX + Ber	2 + 0.1	6.29 $\pm$ 0.83	5.69 $\pm$ 0.41
	2 + 1	4.81 $\pm$ 0.55 <sup>2)</sup>	4.57 $\pm$ 0.28 <sup>2)</sup>
	2 + 10	3.76 $\pm$ 0.18 <sup>3)</sup>	3.65 $\pm$ 0.11 <sup>3)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与 DOX 组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup>  $P < 0.01$  (图 1~4 同)。

### 3.2 对 DOX 诱导的 ANP, NBP 基因表达的影响

与空白组比较, DOX 组 ANP, NBP mRNA 表达明显升高 ( $P < 0.01$ ), Ber 在 0.1, 1, 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  3 个浓度下对 ANP, BNP 的 mRNA 水平无影响。与 DOX 组比较, 可浓度依赖的抑制 DOX 诱导的 ANP, BNP 基因表达上调; 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber + DOX 给药组与 DOX 单用组比, BNP mRNA 水平下降了 47% ( $P < 0.01$ ); 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber + DOX 给药组与 DOX 单用组比, ANP mRNA 水平下降了 50% ( $P < 0.01$ ), BNP mRNA 水平下降了 75% ( $P < 0.01$ )。见图 1。

**3.3 对 DOX 诱导的细胞凋亡的影响** 与空白组比较, 活性增加至 4.85 倍, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), Ber 在 0.1, 1, 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  3 个浓度下对细胞 Caspase-3 活性无影响。与 DOX 组比较, 低、中、高 3 个浓度 Ber 组 Caspase-3 活性分别下降了 7.2%, 34.0% ( $P < 0.05$ ) 和 47.4% ( $P < 0.01$ ), 结果表明 Ber 可浓度依赖的降低 DOX 诱导的细胞凋亡水平。见图 2。

**3.4 对 DOX 诱导的细胞 ROS 水平的影响** 与空白组比较, DOX 组 ROS 水平明显升高 ( $P < 0.01$ ),

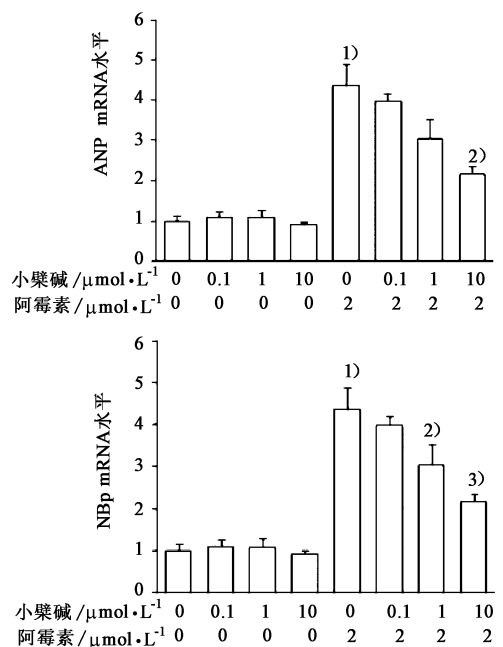


图 1 小檗碱对心肌细胞 ANP, BNP mRNA 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 1 Effects of Ber on ANP, BNP mRNA levels in myocardial cell ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

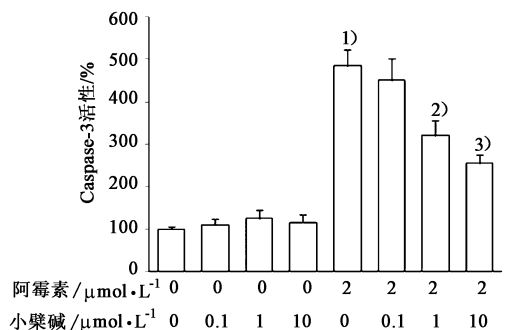


图 2 小檗碱对心肌细胞 Caspase-3 活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 100$ )

Fig. 2 Effects of Ber on Caspase-3 activity in myocardial cell ( $\bar{x} \pm s, n = 100$ )

Ber 在 0.1, 1, 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  3 个浓度下对 ROS 水平无影响。与 DOX 组比较, Ber 浓度依赖的降低 DOX 诱导的细胞 ROS 水平, 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber + DOX 给药组与 DOX 单用组比, ROS 水平下降了 29% ( $P < 0.05$ )。见图 3。

**3.5 对 DOX 诱导的细胞内 MDA 含量的影响** 与空白组比较, DOX 给药组 MDA 含量明显升高 ( $P < 0.01$ )。与 DOX 组比较, Ber 在 0.1, 1, 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  3 个浓度下对心肌细胞内 MDA 含量无影响, 而与 DOX 合用时可浓度依赖的降低 DOX 诱导的 MDA 含量, 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Ber + DOX 给药组细胞内 MDA 含量明显降低 ( $P < 0.05$ )。见图 4。

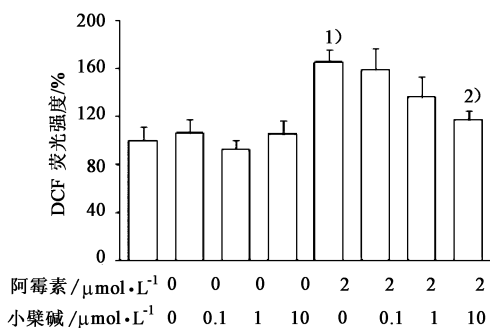


图 3 小檗碱对心肌细胞 ROS 水平变化的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 100$ )

Fig. 3 Effects of Ber on ROS levels in myocardial cell ( $\bar{x} \pm s, n = 100$ )

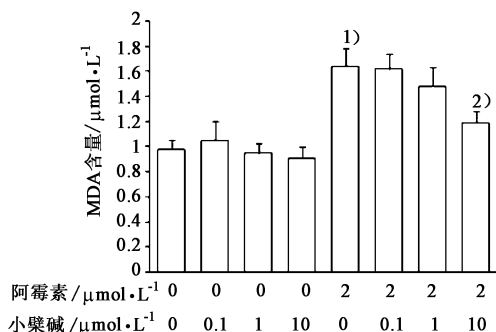


图 4 小檗碱对心肌细胞 MDA 含量变化的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 100$ )

Fig. 4 Effects of Ber on MDA levels in myocardial cell ( $\bar{x} \pm s, n = 100$ )

#### 4 讨论

心肌细胞肥大是蒽醌类抗肿瘤药物诱导心肌损伤的初级阶段,其主要特征为细胞体积增大,细胞内蛋白含量增多<sup>[11]</sup>。本实验在给药初期考察阿霉素对心肌细胞肥大的诱导作用。以阿霉素为代表的蒽醌类抗肿瘤药物已被广泛用于多种实体瘤的临床治疗<sup>[12]</sup>,然而阿霉素在临床应用过程中可产生严重的心肌毒性从而导致治疗失败<sup>[13]</sup>。近年来,国内外关于阿霉素所致心肌毒性的机制研究主要集中在活性氧自由基、钙超载及能量代谢障碍、铁离子代谢紊乱、毒性代谢产物生成等几个主要方面<sup>[14]</sup>,其中氧自由基损伤被认为是阿霉素诱导心肌损伤的重要机制<sup>[15]</sup>。阿霉素进入机体内可被还原为半醌自由基,再经一系列电子传递过程生成超氧阴离子( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )和羟自由基( $\text{OH}^{\cdot}$ )。这些自由基可以攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸,从而引发脂质过氧化作用,并形成脂质过氧化物,参与介导心肌细胞肥大、凋亡等心肌损伤发生、发展的多个阶段<sup>[16]</sup>。研究表明,心肌细胞肥大是机体抵御病理性刺激的代偿反应,其目的在于提高心肌功能,从而应对增加的心肌负荷,但

心肌肥大也是心力衰竭、心律失常的病理基础<sup>[17]</sup>。心肌肥大作为阿霉素诱导心肌细胞损伤的重要特征,最终将导致心肌细胞凋亡。ANP, BNP 是心肌细胞分泌的主要肽类,其合成增加是心肌细胞病理性肥大的重要指标<sup>[18]</sup>,笔者在本研究中证实 H9c2 心肌细胞给予  $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  阿霉素后,可显著诱导心肌细胞体积增大,细胞内蛋白含量增加,同时上调细胞内心钠素、脑钠素的 mRNA 水平, Ber 单独给药对心肌细胞无明显影响,而与阿霉素合用后,可有效降低阿霉素诱导的心肌细胞肥大,提示小檗碱对阿霉素引起的心肌损伤具有早期干预和保护作用。Caspase-3 作为 Caspase 蛋白家族的 CED-3 亚家族,是细胞凋亡过程的关键酶,其在正常状态下以无活性的酶原形式存在于胞浆中,而细胞凋亡程序启动后 Caspase-3 即被激活,并作为 Caspase 家族诱导细胞凋亡的最终执行者<sup>[19]</sup>。本实验选取 Caspase-3 活性作为评价细胞凋亡水平的指标,结果表明小檗碱不仅可以逆转阿霉素诱导心肌细胞凋亡的初级阶段,还能有效降低阿霉素诱导心肌细胞的凋亡水平,进一步证实了小檗碱的心肌保护作用。

小檗碱作为黄连的主要成分,其抗氧化作用已被证实<sup>[20]</sup>,本实验进一步考察小檗碱对阿霉素诱导心肌损伤的保护作用是否与其抗氧化作用有关。实验结果表明, $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  阿霉素给药 6 h 后,心肌细胞内 ROS 水平显著增加,而给药 12 h 后,脂质过氧化的终产物 MDA 含量也显著提高,这与笔者的前期研究结果一致<sup>[21]</sup>。小檗碱单独给药时,低、中、高 3 组浓度对心肌细胞内 ROS 水平和 MDA 的生成均无影响,而与阿霉素合用后,可有效降低阿霉素诱导的 ROS 水平并减少 MDA 的生成,证实小檗碱可能通过其抗氧化作用实现对阿霉素诱导心肌细胞损伤的保护作用。

天然来源的化合物具有来源广泛、安全低毒的特点,已经证实许多天然来源化合物与化疗药物联用具有增效、减毒的作用<sup>[22-23]</sup>。小檗碱作为中药黄连的主要成分,具有免疫调节,治疗糖尿病,抗高血脂,治疗心血管疾病,防治癌症等多种功效<sup>[1]</sup>。近年来研究发现,小檗碱与阿霉素合用后不仅可以增强阿霉素对多种肿瘤细胞的细胞毒性<sup>[24]</sup>,还能降低阿霉素的心肌毒性<sup>[7-10]</sup>。本实验采用心肌细胞常用体外模型—H9c2 细胞进一步证实了小檗碱对阿霉素诱导心肌损伤的保护作用,并首次发现其保护作用与小檗碱的抗氧化作用有关,为小檗碱作为协同增敏剂与抗肿瘤药物联用实现增效、减毒提供了实

验依据,也为小檗碱的临床使用及深入研究奠定了基础。

[参考文献]

[1] Chen C, Yu Z, Li Y, et al. Effects of berberine in the gastrointestinal tract—a review of actions and therapeutic implications [J]. *Am J Chin Med*, 2014, 42(5):1053-1070.

[2] 张昌绍. 黄连碱的药理研究[J]. *生理学报*, 1953, 19(1):12-18.

[3] 周祖玉. 黄连素的抗心律失常和抗心衰作用[J]. *四川生理科学杂志*, 1992, 14(1):20-25.

[4] 周祖玉,徐建国,蓝庭剑. 黄连素对灌流心脏发生心衰的保护作用[J]. *华西医科大学学报*, 2001, 32(3):417-418.

[5] 周祖玉,孙爱民,徐建国,等. 黄连素对离体灌流心脏的能量保存作用[J]. *华西医科大学学报*, 2002, 33(3):431-433.

[6] Huang W M, Yan H, Jin J M, et al. Beneficial effects of BR on hemodynamics during acute ischemic left ventricular failure in dogs [J]. *Clinmed J (E. ngl)*, 1992, 105(12):1014-1019.

[7] Lau C W, Yao X Q, Chen Z Y, et al. Cardiovascular actions of berberine [J]. *Cardiovasc Drug Rev*, 2001, 19(3):234-244.

[8] Zhao X, Zhang J, Tong N, et al. Berberine attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice [J]. *J Int Med Res*, 2001, 39(5):1720-1727.

[9] Lv X, Yu X, Wang Y, et al. Berberine inhibits doxorubicin-triggered cardiomyocyte apoptosis via attenuating mitochondrial dysfunction and increasing Bcl-2 expression [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e47351.

[10] Ortiz L M, Lombardi P, Tillhon M, et al. Berberine, an epiphany against cancer [J]. *Molecules*, 2014, 19(8):12349-12367.

[11] Karagiannis T C, Lin A J, Ververis K, et al. Trichostatin A accentuates doxorubicin-induced hypertrophy in cardiac myocytes [J]. *Aging (Albany NY)*, 2010, 2(10):659-668.

[12] Hutchinson C R, Colombo A L. Genetic engineering of doxorubicin production in *Streptomyces peucetius*; a

review [J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 1999, 23(1):647-652.

[13] Ewer M S, Ewes S M. Cardiotoxicity of anticancer treatments; What the cardiologist needs to know [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2010, 7(10):564-575.

[14] 郝刚,俞蕴莉. 阿霉素心肌毒性机制研究进展[J]. *中南药学*, 2014, 12(10):993-997.

[15] Schimmel K J, Richel D J, van den Brink R B, et al. Cardiotoxicity of cytotoxic drugs [J]. *Cancer Treat Rev*, 2004, 30(2):181-191.

[16] Hideg K, Kúlai T. Novel antioxidants in anthracycline cardiotoxicity [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2007, 7(2):160-164.

[17] 胡志萍,黄志华,吴亮亮,等. 染料木素抗大鼠心肌肥厚作用及其与ATPase活性的关系[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(13):164-167.

[18] Wisén A G, Ekberg K, Wohlfart B, et al. Plasma ANP and BNP during exercise in patients with major depressive disorder and in healthy controls [J]. *J Affect Disord*, 2011, 129(1/3):371-375.

[19] Cakir E, Yilmaz A, Demirag F, et al. Prognostic significance of micropapillary pattern in lung adenocarcinoma and expression of apoptosis-related markers: Caspase-3, bcl-2, and p53 [J]. *APMIS*, 2011, 119(9):574-580.

[20] 刘国安,杨玉玲,张亚楠,等. 黄连素抗氧化活性的研究[J]. *西北师范大学学报*, 2009, 45(6):87-91.

[21] 郝刚,周芳,王广基,等. 23-羟基白桦酸对阿霉素所致H9c2心肌细胞损伤的保护作用及抗氧化机制研究[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2012, 17(7):736-743.

[22] Zheng Y, Zhou F, Wu X, et al. 23-Hydroxybetulinic acid from *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel synergizes the antitumor activities of doxorubicin *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 128(3):615-622.

[23] 王广基,郝刚,周芳,等. 23-HBA在制备降低阿霉素所致心肌毒性的药物中的应用 [P]. 中国:0514113. 5. 2011-02-02.

[24] Tong N, Zhang J, Chen Y, et al. Berberine sensitizes multiple human cancer cells to the anticancer effects of doxorubicin *in vitro* [J]. *Oncol Lett*, 2012, 3(6):1263-1267.

[责任编辑 周冰冰]