

夜香树提取物 Nocturnoside B 对大鼠心肌损伤的保护作用及体外抗肿瘤作用研究

农智新¹, 赵世元^{2*}, 黄之虎¹, 钟振国², 张明艳², 李彩萍²

(1. 广西壮族自治区民族医院, 南宁 530001; 2. 广西中医药大学, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 观察夜香树提取物 nocturnoside B (NNS B) 对阿霉素 (DOX) 诱导大鼠心肌损伤的保护作用。方法: 夜香树叶及嫩枝用溶剂提取、硅胶柱色谱及高效液相色谱等方法进行分离, 通过化学和光谱学方法鉴定化合物 nocturnoside B 的结构。DOX 诱导建立大鼠的心肌损伤模型后, 将大鼠分为 4 组: 正常组、DOX 组 (2.5 mg·kg⁻¹)、DOX + nocturnoside B 高、低剂量组 (4.0, 2.0 mg·kg⁻¹), 给药 2 周后观察大鼠一般状态、腹水以及大鼠死亡率; 观察心电图的变化, 计算全心指数和左心室指数; 检测大鼠血清心肌酶及大鼠心肌组织匀浆中超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性及丙二醛 (MDA) 含量; 观察左心室心肌细胞和心肌纤维的变化; MTT 法测定对肿瘤细胞的杀伤作用。结果: 与阿霉素组相比, nocturnoside B 可改变阿霉素致心肌损伤的一般状态。nocturnoside B 组动物死亡率和腹水量明显减少 ($P < 0.05$), 脂质过氧化物水平下降 ($P < 0.05$), 过氧化物酶接近正常, 心肌组织超微结构显示心肌受损较小。DOX + nocturnoside B 对肝癌细胞株 BEL-7404、宫颈癌细胞株 Hela、白血病细胞株 K562 等 3 种肿瘤细胞株有较好的协同抑制作用。结论: nocturnoside B 对阿霉素致心肌损伤具有保护作用, 其机制可能是提高对氧自由基的清除和抑制脂质过氧化作用。阿霉素联合 nocturnoside B 作为肿瘤化疗可能成为一种安全有效的方法。

[关键词] Nocturnoside B; 阿霉素; 心肌损伤; 自由基; 抗氧化作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)18-0251-05

[doi] 10.11653/syfj2013180251

Effects of Nocturnoside B from *Cestrum nocturnum* on Doxorubicin-induced Myocardial Injury in Rats

NONG Zhi-xin¹, ZHAO Shi-yuan^{2*}, HUANG Zhi-hu¹, ZHONG Zhen-guo², ZHANG Ming-yan², LI Cai-ping²

(1. Guangxi National Hospital Nanning 530001, China; 2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of the extracts, Nocturnoside B, from *cestrum nocturnum* Linn. on doxorubicin-induced (DOX) myocardial injury in Wistar rats. **Method:** Nocturnoside B (NNS B) from the leaves and shoots of *cestrum nocturnum*, was separated by solvent silica gel extraction, column chromatography and preparative HPLC, and their structures were elucidated on the basis of chemical and spectral analysis. Myocardial injury model in Wistar rats was induced by DOX injection intraperitoneally. Rats were randomly divided into four groups: normal group, DOX group (2.5 mg·kg⁻¹), DOX + NNS B (4.0, 2.0 mg·kg⁻¹) group. Rats were killed 14 days after treatment to observe general state, ascites and rat mortality. Heart rate, waveform, the whole heart index and left ventricular index were calculated from the electrocardiogram. The serum creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate transaminase (AST) and superoxide dismutase (SOD),

[收稿日期] 20121015(017)

[基金项目] 广西科技攻关项目(桂科攻 0816004-17), 广西医疗卫生科研课题(Z2008027)

[第一作者] 农智新, 硕士, 副主任医师, 从事消化内科疾病研究, Tel: 08615977739301, E-mail: jane9729@126.com

[通讯作者] * 赵世元, 硕士研究生, 副主任技师, 从事教学与中药新药的研究开发, Tel: 08613978647518, E-mail: zhaoshiyuan_1105@163.com

glutathione peroxidase (GSH-Px) and malondialdehyde (MDA) in myocardial tissue were determined. The changes in myocardial cells and fibers in the left ventricular were investigated pathologically. The cytotoxic effect of DOX + NNS B on tumor cells was evaluated *in vitro*. **Result:** Treatment with NNS B could significantly protect the rat model from DOX-induced cardiotoxic effects as evidenced from lower mortality (%), less ascites, lower levels of lipid peroxidation, normalization of antioxidant enzymes and ultrastructural studies showing minimal damage to the heart. *In vitro* cytotoxic studies using BEL-7404, HeLa, K562 cells lines demonstrated that NNS B could compromise the anti-tumor effect of DOX. **Conclusion:** NNS B has a protective effect against cardio-toxicity induced by DOX. The mechanisms may depend on the effect of NNS B on scavenging oxygen free radicals in the rat heart, inhibiting lipid peroxidation. The combined treatment of DOX and NNS B holds promise as a safe and effective chemotherapeutic strategy.

[**Key words**] nocturnoside B; doxorubicin; myocardial injury; free radicals; antioxidant

夜香树,又名夜来香,茄科夜香树属植物,在我国主要分布在南方,原产热带美洲,现广植热带各地,华南有栽培,长江流域及其以北地区常作盆栽,其性温、味辛,具行气止痛、镇定之功效,民间用于治疗胃痛痞;其花夜间极香,其中的挥发油具驱蚊作用,可调配各种香精、香水、驱蚊液等。夜香树的药理作用国内外研究报道尚少。曾靖^[1]等发现夜香树有局部麻醉作用、镇痛作用和中枢抑制作用。本实验从夜香树叶及嫩枝中提取纯化得到化合物 Nocturnoside B,通过建立阿霉素诱导的大鼠心肌损伤模型,观察 Nocturnoside B(以下简称 NNS B)对大鼠心肌损伤的保护作用。

1 材料

1.1 试剂 注射用盐酸多柔比星(阿霉素,上海医药集团有限公司华联制药厂,批号 060902A,临用前用生理盐水配成 $12.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), 门冬氨酸转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)试剂盒(上海执诚生物技术有限公司,批号分别为 MARL016, MAYL029, MAYL029), 超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽-过氧化物酶试剂盒(GSH-Px)(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20100619, 20100610, 20100614)。

1.2 仪器 梅特勒-托利多仪器(梅特勒托利多仪器(上海)有限公司), BL420 E+型生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司), 7600-020型全自动生化分析仪(日立公司)。

1.3 药物的提取 夜香树叶及嫩枝采自广西境内,经广西中医学院药用植物教研室刘寿养教授鉴定为茄科植物 *Cestrum nocturnum* Linn。取干燥的夜香树叶及嫩枝 2.3 kg,用乙醇浸泡 24 h,加热回流提取,过滤,减压浓缩得浸膏,乙醇浸膏用硅胶拌匀后,依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇回流提取,回收溶

剂,得石油醚部位,乙酸乙酯部位,正丁醇部位。取正丁醇部位浸膏 100 g,用硅胶拌匀后,采用硅胶柱色谱法分离,先用氯仿-甲醇梯度洗脱,经薄层检视后将相同的溶液合并,到氯仿-甲醇比例为 20:1,发现有结晶析出,经反复硅胶柱层析,氯仿-甲醇混合物液洗脱,甲醇重结晶。通过高效液相色谱仪测定,该化合物的曲线下面积为 99.56%。经不同展开系统进行薄层层析检视、高效液相色谱法、酸性水解测定其糖苷基团的结构、光谱分析,结合氢谱和碳谱(600 MHz)元素分析表明,该化合物单体含 C, H, O 3 种元素;LC-MS 中-MS 中有 1013 的 M-H 峰,+MS 中有 m/z 1037 的 $M + \text{Na}^+$ 峰, m/z 869 的 M-Rha⁺ 峰, m/z 723 的 M-Rha-Rha⁺ 峰, m/z 415 的 M-Rha⁻ Rha-Glu⁺ 峰,表明其相对分子质量为 1 014,分子式为 $\text{C}_{51}\text{H}_{82}\text{O}_{20}$,甾体类反应呈阳性,水解产物中可检出 Rha 和 Glu,其分子式为 $\text{C}_{51}\text{H}_{81}\text{O}_{20}$,相对分子质量为 1 014。该化合物 spirost-5-ene-3-OL[3 β , 25R]3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4) α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranoside。动物实验前 nocturnoside B 用生理盐水加到所需浓度,置 HV-50 自动高压灭菌器 120 $^{\circ}\text{C}$, 30 min,冷却后于超净工作台中分装。药品配好后置 4~8 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

1.4 动物 Wistar 大鼠,SPF 级,雌雄各半,体重(200 \pm 20)g,购自广西医科大学实验动物中心,动物许可证号 SCXK(桂)2003-0003。

2 方法

2.1 对大鼠心肌损伤的保护作用

2.1.1 分组 大鼠 48 只,随机分为 4 组,正常组、DOX 组、NNS B 高、低剂量组。第 1~3 周以 DOX 3 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip,第 4~6 周 2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip,1 次/周;正常组大鼠 ip 等体积生理盐水,1 次/周,连续注射 6 周

造模。NNS B 高、低剂量组大鼠于另一区域以 NNS B 4,2 mg·kg⁻¹ ip, 对照组以等体积生理盐水, 共给药 2 周。

2.1.2 标本收集 给药 2 周后, 存活的大鼠称体质量后, 以 10% 乌拉坦 (12 mL·kg⁻¹) ip 麻醉, 仰位固定, BL-410 系统记录 II 导联心电图。之后股动脉取血, 室温下凝固, 离心 3 000 r·min⁻¹ × 10 min, 分离血清, -70 °C 保存待测。迅速开胸摘取心脏, 置于 4 °C 预冷的生理盐水中洗净残血, 除去大血管及心包组织, 滤纸吸干后用电子天平称全心质量。去除心房, 沿室间隔剪除右心室, 保留左心室 (包括室间隔), 称质量, 计算全心质量/体重即心脏质量指数 (HW/BW)、左心室质量/体重即左室质量指数 (LVW/BW)。在左心室游离壁垂直方向切取部分心肌, 放入 10% 中性甲醛固定, 常规制片后, HE 染色, 观察病理变化。余下的左心室组织称重, 加入 4 °C 生理盐水, 在冰浴中制成 20% 匀浆, 低温 2 000 r·min⁻¹ × 10 min 离心, 吸取上清液, -20 °C 保存待测。

2.1.3 检测指标 ①大鼠一般状态观察, 计算各组大鼠死亡率; ②检测心率, 计算全心指数和左心室指数; ③血液生化指标, 测定血清 CK, LDH, AST 的活性; ④心肌组织生化指标 测定左心室匀浆 SOD, GSH-Px 活性, MDA 含量; ⑤心肌组织病变的观察 电子显微镜观察左心室心肌切片心肌细胞和心肌纤维的变化。

2.2 对阿霉素体外抗肿瘤作用的影响 将处于对数生长期的肝癌细胞 BEL-7404、宫颈癌细胞 Hela、

白血病细胞 K562 用含 5% 小牛血清的 RPMI 培养基配成密度 2.5 × 10⁴ 个 / mL, 然后将上述细胞加到 96 孔培养板, 每孔 200 μL, 细胞置 37 °C, 10% CO₂ 培养箱中培养 24 h 后, 吸去上清, DOX 组、NNS B、DOX + NNS B 组分别加入终质量浓度为 50, 25, 12.5 mg·L⁻¹ 内含 5% 小牛血清的 RPMI 培养液, 对照组则加入等体积 5% 小牛血清的 RPMI 培养液, 每组 4 孔 (实验重复 4 次)。置 37 °C, 10% CO₂ 培养箱培养 3 d 后弃上清, 加入 200 μL / 孔新鲜配制的含 0.2 g·L⁻¹ MTT 的无血清培养基, 37 °C 继续培养 4 h, 弃去上清液, 加入 200 μL/孔 DMSO, 振荡混匀后, 在酶标仪上以波长为 550 nm, 参比波长为 450 nm 测定吸光度 (A), 测定时减去空白对照计算药物对肿瘤细胞的生长抑制率。

2.3 统计学方法 采用 SPSS 100 统计软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 一般情况观察 造模第 3 周起, DOX 组大鼠即开始出现中毒症状, 主要体现为精神萎靡, 活动少, 进食量下降, 腹泻, 体重增长减轻, 皮毛松软, 而 NNS B 组出现类似症状较晚, 症状较轻。造模到第 4-5 周, 模型组及各治疗组开始出现腹水, 而模型组出现早, 程度较重, 腹水及胸水并见的例数多于其他组。在整个实验过程中, 模型组有 6 只大鼠、NNS B 高剂量组 5 只、低剂量组 4 只死于明显的心力衰竭。可见, NNS B 可以改善慢性心功能不全大鼠的一般状态, 见表 1。

表 1 DOX + NNSB 对阿霉素引起的大鼠死亡率、腹水、心脏质量、左心指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	死亡率/%	腹水体积/mL	全心质量/g	左心指数/×10 ²
对照	-	0	0	1.83 ± 0.52	5.50 ± 0.21
DOX	2.5	50.0	15.2 ± 1.2 ¹⁾	1.21 ± 0.32 ¹⁾	4.30 ± 0.51 ¹⁾
DOX + NNS B	2.0	41.7	12.6 ± 1.6 ^{1,3)}	1.40 ± 0.46	4.50 ± 0.33
	4.0	33.3	10.6 ± 1.5 ^{1,3)}	1.50 ± 0.60	4.80 ± 0.43

注: 与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与 DOX 组比较³⁾ $P < 0.05$ (表 2 ~ 5 同)。

3.2 对模型大鼠心率和心肌损伤指数的影响 与正常组比较, DOX 组大鼠的心率明显升高 ($P < 0.01$)。与 DOX 组比较, NNS B 高、低剂量组均可降低心率, NNS B 高剂量组有显著差异 ($P < 0.05$)。见表 2。

模型组大鼠的 HW/BW, LVW/BW 较正常组比较明显升高 ($P < 0.01$)。NNS B 高剂量组能明显降低 LVW/BW, 与模型组差异显著 ($P < 0.05$); NNS B

低剂量组能明显降低 HW/BW 和 LVW/BW, 与模型组差异显著模型 ($P < 0.05$), 见表 2。

3.3 对模型大鼠血清心肌酶及 MDA 的影响 与对照组比较, DOX 组血清中 AST, LDH, CK 活性明显升高 ($P < 0.01$)。与 DOX 组比较, NNS B 高、低剂量组明显降低 LDH 活性 ($P < 0.05$)。NNS B 高剂量明显升高 MDA, 见表 3。

3.4 对模型致大鼠心室匀浆 MDA, SOD, GSH-Px

表 2 NNS B 大鼠心肌损伤指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	n	心率/次	HW/BW/mg·g ⁻¹	LVW/BW/mg·g ⁻¹
对照	-	10	444.75 ± 13.40	2.74 ± 0.15	1.88 ± 0.20
DOX	2.5	6	554.83 ± 16.29 ²⁾	3.43 ± 0.13 ²⁾	2.43 ± 0.13 ²⁾
DOX + NNS B	2.0	7	512.14 ± 18.13	2.90 ± 0.15 ³⁾	2.03 ± 0.10 ³⁾
	4.0	8	465.14 ± 11.88 ³⁾	2.82 ± 0.11 ³⁾	2.05 ± 0.12 ³⁾

表 3 NNS B 对模型大鼠血清心肌酶及 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	n	AST/U·L ⁻¹	LDH/U·L ⁻¹	CK/U·L ⁻¹	MDA/nmol·L ⁻¹
对照	-	10	234.5 ± 75.3	1 083.4 ± 212.2	2 370.9 ± 629.3	1.42 ± 0.31
DOX	2.5	6	348.6 ± 123.3 ²⁾	2 380.8 ± 315.3 ²⁾	2 560.1 ± 758.9 ²⁾	1.03 ± 0.22 ¹⁾
DOX + NNS B	2.0	7	330.2 ± 133.6	1 405.5 ± 206.3 ³⁾	2 438.4 ± 856.7	1.19 ± 0.21
	4.0	8	320.5 ± 150.8	1 306.2 ± 109.6 ³⁾	2 365.7 ± 986.4	1.23 ± 0.19 ³⁾

的影响 与对照组比较,DOX 组大鼠的心室匀浆中 SOD,GSH-Px 活性明显降低,MDA 含量明显升高 ($P < 0.05$);与 DOX 组比较,NNS B 高剂量大鼠的心室匀浆中 SOD,GSH-Px 活性升高,MDA 含量明显下降 ($P < 0.05$)。见表 4。

3.5 对 DOX 体外抗肿瘤作用的影响 DOX 和

NNS B 体外对 3 种肿瘤细胞都有较好的抗增殖作用,以 1/2 单用剂量 DOX + NNS B 联用后对 3 种肿瘤细胞抗增殖作用仍显著,可见 DOX + NNS B 联用后可降低各自的剂量、提高各自的抗肿瘤作用,起到协同作用。见表 5。

表 4 NNS B 对模型大鼠心室匀浆 MDA,SOD,GSH-Px 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	MDA/nmol·g ⁻¹	SOD/U·mg ⁻¹	GSH-Px/U·g ⁻¹
对照	-	19.6 ± 2.31	38.8 ± 1.8	58.3 ± 5.2
DOX	2.5	29.6 ± 3.5 ¹⁾	30.6 ± 4.3 ¹⁾	43.2 ± 2.9 ¹⁾
DOX + NNS B	2.0	27.2 ± 1.9	35.1 ± 3.5	50.3 ± 6.3
	4.0	25.2 ± 2.2 ³⁾	37.2 ± 3.3 ³⁾	54.3 ± 7.4 ³⁾

表 5 NNS B 对 DOX 体外抗肿瘤作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	抑制率 %		
		BLE7404	Hela	K562
DOX	50	56.3 ± 3.5	52.4 ± 4.3	60.5 ± 5.6
	25	42.3 ± 4.2	40.5 ± 3.8	43.2 ± 4.2
	12.5	20.5 ± 3.8	26.3 ± 2.6	30.5 ± 3.8
NNS B	50	58.9 ± 4.2	55.6 ± 5.3	68.9 ± 5.4
	25	45.3 ± 3.6	43.6 ± 4.8	43.6 ± 4.6
	12.5	25.6 ± 3.3	23.5 ± 3.6	28.6 ± 3.5
DOX + NNS B	25 + 25	65.3 ± 4.6	59.6 ± 4.6	70.5 ± 5.8
	12.5 + 12.5	48.6 ± 3.7	46.3 ± 4.3	46.8 ± 4.7
	6.25 + 6.25	26.3 ± 3.4	27.7 ± 3.2	31.2 ± 3.9

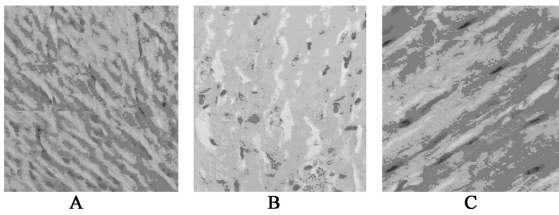
3.6 对模型大鼠左心室心肌组织病理变化的影响

与正常对照组比较,DOX 组心肌横纹不清,多数心肌细胞出现浑浊肿胀,多灶性肌浆溶解,肌原纤维细胞质出现空泡,与 DOX 组比较,DOX + NNS B 组出现的心肌细胞退化和肌原纤维缺失明显减少。见图 1。

4 讨论

近年研究表明,植物中的甾体皂苷具有抗血小

板聚集、降低血脂、抗心律失常和增加心肌细胞血流,抗心肌缺血等作用^[2]。甾体皂苷抗心肌缺血的机制还未见报道。夜香树主要生长在我国南方,每年开花 6 次,叶子生长茂盛。课题组前期从夜香树叶和嫩枝的正丁醇提取物中提取纯化得到化合物 NNS B 高达 4%。本实验用夜香树甾体皂苷治疗由阿霉素诱导大鼠心肌损伤,结果发现,NNS B 可以改



A. 对照组;B. 模型组(DOX);C. DOX + NNS B 25 mg·kg⁻¹

图1 NNS B 对 DOX 致大鼠左心室心肌组织病理变化的影响(HE, ×400)

变阿霉素致大鼠心肌损伤的一般状态,腹水量减少,心肌受累减少,死亡率下降,模型组心肌明显组织学改变,包括心肌纤维缺失、细胞质出现空泡。而用 NNS B 治疗 DOX 致心肌损伤大鼠后,大鼠心肌组织学改变很小,提示 NNS B 对 DOX 致心肌损伤大鼠有保护作用。

阿霉素属蒽醌类抗生素,是临床最为常用的广谱、高效抗肿瘤药之一,但具有严重的心肌毒性,这在一定程度上限制了 DOX 的大剂量及长期应用^[3]。DOX 性心衰发生时的主要生理变化是心脏泵功能的下降,而血流动力学变化是心脏泵功能的最主要反映。目前普遍认为阿霉素心肌毒性的产生机制与自由基,尤其是 ROS 产生增多,以及线粒体损伤和心肌细胞大量凋亡有关^[4]。线粒体是真核生物重要的产能细胞器,其氧化磷酸化过程也是氧自由基的最重要来源,且线粒体本身也易受到氧化应激的攻击,导致功能障碍^[5],正常情况下,机体的自由基生成系统和抗自由基生成系统保持动态平衡,当体内产生的自由基超过清除系统的清除能力才造成机体损伤。DOX 导致细胞内外多种生化成分过氧化使心肌细胞内 MDA 生成增多、SOD, GSH-Px, NO 活力下降。MDA 可损伤生物膜,使膜酶受损,活性降低,产生心肌细胞变性坏死;SOD 能有效清除氧自由基;GSH-Px 不仅能清除羟自由基,还能降解脂质过氧化物^[5]。本实验结果显示,大鼠腹腔注射阿霉素后的心肌匀浆显示 MDA 水平明显增加, SOD, GSH-Px 明显下降, NNS B 治疗可使阿霉素致心脏心肌匀浆的脂质过氧化水平显著下降,其心肌组织中 SOD, GSH-Px 趋于正常。阿霉素组心肌组织总的抗氧化活性显著下降,与阿霉素组相比较,用 NNS B 治疗大鼠后,其心肌组织总的抗氧化活性显著升高,提示 NNS B 能保护阿霉素诱导心肌毒性的心肌抗氧化作用。课题组前期研究发现,夜香树甙体皂苷体内外具有很好的抗肿瘤作用^[6-12],本研究在体外抗肿瘤作用实验中, DOX 和 NNS B 单独使用时对 3

种肿瘤细胞都有不同程度的增殖抑制作用,两种药物联合使用时发现,它们的抗肿瘤作用更强,起到协同作用。

综上所述, nocturnoside B 对阿霉素致心肌损伤具有保护作用,其机制可能是通过提高对氧自由基的清除和抑制脂质过氧化作用。体外试验显示, nocturnoside B 和阿霉素联合使用对阿霉素抗肿瘤有协同作用,阿霉素联合 nocturnoside B 作为肿瘤化疗可能成为一种安全有效的方案。

[参考文献]

- [1] 曾靖,黄贤华,赖飞,等. 夜来香根茎水提取液局部麻醉作用的研究[J]. 赣南医学院学报, 2003, 23(1): 1.
- [2] Mimaki Y, Nikaido T, Matsumoto K, et al. New steroidal saponins from the bulbs of *Allium giganteum* exhibiting potent inhibition of cAMP-phosphodiesterase activity[J]. Chem pharm bull, 1994, 42(3): 710.
- [3] Doroshow J H. Doxorubicin-Induced cardiac toxicity[J]. N Engl J Med, 1991, 324(1): 843.
- [4] Den Hartog G J, haenen G R, Boven E, et al. Lecithinized copper, zinc-superoxide dismutase as a protector against doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2004, 194(8): 180.
- [5] Xu M F, Tang P L, Qian Z M, et al. Effects by doxorubicin on the myocardium are mediated by oxygen free radicals[J]. Life Sci, 2001, 68(8): 889.
- [6] 赵世元,钟振国,廖文,等. 夜香树提取物体外抗肿瘤作用的实验研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(1): 125.
- [7] 钟振国,赵世元,吕金燕,等. 夜香树提取物体内抗肿瘤作用实验研究[J]. 中药材, 2008, 11(31): 1709.
- [8] 黄燕,李鹏,罗雪菲,等. 夜香树提取物对荷瘤小鼠免疫功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 114.
- [9] 赵世元,农智新,叶海洪,等. 夜香树叶甙体皂苷对人肝癌细胞株 BEL-7404 增殖抑制作用机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(7): 212.
- [10] 赵世元,黄之虎,叶海洪,夜香树花甙体皂苷诱导 K562 细胞凋亡机制研究[J]. 中成药, 2013, 35(3): 445.
- [11] 赵世元,张明艳,李彩萍,等. 夜香树甙体皂苷抗人肝癌裸鼠移植瘤的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(17): 239.
- [12] 赵世元,农智新,叶海洪,等. 夜香树叶甙体皂苷的体外抗肿瘤活性[J]. 中成药. 2013, 35(16): 1243.

[责任编辑 李玉洁]