

[11] 侯玮婷,罗佳波.复方茯苓多糖口服液抗肿瘤作用和免疫调节功能的初步研究[J].中药药理与临床,2017,33(2):78-81.

[12] 李彦坤,李鑫,彭洪,等.甘草提取物(GL-1)对Hela细胞增殖抑制及促凋亡作用[J].中国公共卫生,2016,32(9):1186-1188.

[13] 李雪飞,江洪.橙皮苷药理学作用机制及研究进展[M].海南医学,2016,27(14):2337-2340.

[14] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部)[M].北京:中国医药科技出版社,2015:59-61.

[15] 姚海强,王济,李玲孺,等.痰湿体质与肿瘤的相关性探讨[J].环球中医药,2016,9(5):596-598.

[16] 秦沛怡,李慧杰,齐元富.运用二陈汤治疗恶性肿瘤经验[J].湖南中医杂志,2017,33(4):27-28.

[17] 赵柏庆,尹海燕,周开创,等.二陈汤改善晚期肺癌(痰湿证)化疗后生存质量观察[J].新中医,2015,47(1):182-194.

## 剑叶龙血树总黄酮对缺氧复氧处理后 H9c2 心肌细胞的保护作用\*

吴堃<sup>1</sup>,李光<sup>2,3</sup>,李宜航<sup>2,3</sup>,吕亚娜<sup>2,3</sup>,肖建琴<sup>4</sup>,孙慧峰<sup>1</sup>

(1.黑龙江中医药大学药学院,哈尔滨 150040;2.中国医学科学院药用植物研究所云南分所,景洪 666100;3.西双版纳傣药南药重点实验室,景洪 666100;4.云南中医学院,昆明 650500)

**摘要** 目的 探讨剑叶龙血树总黄酮(DCF)对缺氧复氧处理后 H9c2 心肌细胞的保护作用。方法 实验分为正常对照组、模型对照组和 DCF 大、中、小剂量组(20,10,5 μg · mL<sup>-1</sup>),给药 24 h 后进行缺氧 4 h 复氧 16 h 处理,采用流式细胞术及 Western blotting 方法测定细胞凋亡及凋亡蛋白表达。结果 DCF(10,5 μg · mL<sup>-1</sup>)能够显著降低 H9c2 心肌细胞凋亡率,并且能够提高 PI3K、Akt 蛋白表达,降低 Bax、Cleaved Caspase-3 及 Cleaved Caspase-8 蛋白表达。结论 DCF 能够保护缺氧复氧处理后 H9c2 心肌细胞,其机制可能是通过 PI3K 及细胞凋亡通路发挥作用。

**关键词** 剑叶龙血树黄酮;H9c2 心肌细胞;细胞凋亡

中图分类号 R972;R282.71

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2019)01-0032-05

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2019.01.007

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



### Protective Effects of *Dracaena Cochinchinensis* Flavonoids on H9c2 Cardiacmyocytes During Hypoxia/reoxygenation Injury

WU Kun<sup>1</sup>, LI Guang<sup>2,3</sup>, LI Yihang<sup>2,3</sup>, LYU Yana<sup>2,3</sup>, XIAO Jianqin<sup>4</sup>, SUN Huifeng<sup>1</sup>(1. College of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Haerbin 150040, China; 2. Yunnan Branch, Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences, Jinghong 666100, China; 3. Key Laboratory of Dai and Southern Medicine of Xishuangbanna Dai Autonomous Prefecture, Jinghong 666100, China; 4. Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

**ABSTRACT Objective** To investigate the anti-apoptotic effect of *Dracaena cochinchinensis* flavonoids (DCF) on H9c2 cardiacmyocytes in a hypoxia / reoxygenation injury model and its mechanism. **Methods** The H9c2 cardiac myocytes were randomly divided into five groups: normal control group, model control group, DCF group (20, 10, 5 μg · mL<sup>-1</sup>). Each group received the corresponding treatment. Cell survival rate was tested by CCK-8 methods. Apoptotic rate was evaluated by propidium iodide (PI) staining and flow cytometry (FCM). The levels of PI3K/Akt, Bax, Bcl-2, Cleaved Caspase-3, and cleaved Caspase-8 were evaluated by Western blotting. **Results** The DCF (10, 5 μg · mL<sup>-1</sup>) could significantly protect the H9c2 cardiacmyocytes from the hypoxia/reoxygenation injury with increasing cell survival rate. It also decreased the apoptotic percentage and unregulated the level of PI3K/Akt and inhibited the expression of Bax, Cleaved Caspase-3, Cleaved Caspase-8.

**Conclusion** DCF has the effect of anti-apoptosis on H9c2 cardiacmyocytes exposed to hypoxia/reoxygenation injury via PI3K/Akt and apoptotic signal pathway.

**KEY WORDS** *Dracaena cochinchinensis* flavonoids; H9c2 cardiacmyocytes; Apoptosis

剑叶龙血树[*Dracaena cochinchinensis* (Lour) S.C. Chen]含树脂木材是国产血竭的主要生产原料。国产血竭又称龙血竭,是伤科要药,具有活血化瘀、止血、镇

痛、解痉、抗炎及降糖作用<sup>[1]</sup>。药理研究表明龙血竭具有抗炎镇痛、保护心肌细胞、抗血小板聚集等作用,被誉为“活血之圣药”<sup>[2-4]</sup>。由于龙血竭疗效明确,临

床用量不断增加,而且国内剑叶龙血树濒临灭绝<sup>[5]</sup>,提高剑叶龙血树资源利用度成为目前保护其资源的重要手段之一。

缺氧复氧处理 H9c2 心肌细胞模型是目前研究心肌缺血-再灌注损伤(myocardial ischemia / reperfusion injury, MIRI)最常见的体外模型<sup>[6-7]</sup>,目前 MIRI 已成为临床上影响冠心病患者获得再灌注最佳疗效的主要障碍,临床上尚无有效药物进行干预<sup>[8]</sup>。龙血竭中黄酮类成分能够改善心肌缺血大鼠的心脏功能<sup>[9]</sup>,并且对动脉血栓的形成具有明显的抑制作用<sup>[10]</sup>。笔者尚未见关于从剑叶龙血树含脂木材中提取得到总黄酮类成分的药效学报道。通过研究剑叶龙血树黄酮的药效,对深入开发剑叶龙血树资源,提高其利用度具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

大鼠 H9c2 心肌细胞株,为大鼠胚胎心肌层细胞(Procell 公司,货号:CL-0089);剑叶龙血树含脂木材(西双版纳东龙制药有限公司,由中国医学科学院药用植物研究所云南分所李学兰研究员鉴定);龙血素 B 对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111558-201407),二甲亚砜(DMSO)(VWR 公司,批号:0666C081);胰蛋白酶(Gibco 公司,批号:1869505);脱脂奶粉(BD 公司,批号:1785989);胎牛血清(Procell 公司,批号:20151206);达尔伯克改良伊格尔(DMEM)高糖培养基(Hyclone 公司,批号:AB217802);DMEM 无糖培养基(Gibco 公司,批号:1810192);电化学发光(ECL)试剂盒(批号:0181508)、二辛可酸(bicinchoninic acid,BCA)蛋白定量试剂盒(批号:00171509)、哺乳动物细胞蛋白抽提试剂盒(批号:00041503)、转膜液(批号:00151511)、聚丙烯酰胺凝胶电泳液(批号:202010)、TBST 缓冲液(批号:40147)均购自康为世纪公司;PI3K 抗体(批号:2592322)、Akt 抗体(批号:2626023)、Caspase-3 抗

体(批号:2631150)、Bcl-2(批号:2436331)均购自 Millipore 公司;Bax 抗体(Abcam 公司,批号:GR187478-10);Caspase-8 抗体(Abcam 公司,批号:GR227627-3);细胞凋亡流式试剂盒(Thermo 公司,批号:V13242);CCK-8(江苏碧云天公司,C0038)。

### 1.2 仪器与设备

ACQUITY UPLC H-CLASS 超高效液相色谱仪,PDA eλ 检测器(Waters 公司);SW-CJ-1F 超净工作台(苏净集团苏州安泰空气技术有限公司);XK96-8 旋转振荡器(江苏新康医疗器械有限公司);Spectramax i3 酶标仪[美谷分子仪器(上海)有限公司];VE-180B 电泳槽(上海天能科技有限公司);Tanon 5200 Multi 凝胶成像仪(上海天能科技有限公司);SiGmA3K15, SiGmA1-14 离心机(德国西格玛 sigma 公司);NU-4950 三气培养箱(美国 Nuair 公司);HF160W 二氧化碳培养箱(上海力申科学技术有限公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 剑叶龙血树总黄酮(Dracaena cochinchinensis flavonoids, DCF)提取和精制

将剑叶龙血树含脂木材粉碎后,粉碎过孔径 0.180 mm(80 目)筛,参照文献<sup>[11]</sup>方法提取总黄酮。以龙血素 B 为对照品,使用分光光度法<sup>[11]</sup>测定精制后提取物黄酮含量为(54.30±2.38)%。

参考文献<sup>[12]</sup>介绍的方法,采用超高效液相色谱法对 DCF 进行分析,色谱柱:ACQUITY UPLC C<sub>18</sub>(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm);流动相为乙腈(A)-水(B)梯度洗脱,线性洗脱程序为 0~3 min, 10%→18% A, 3~15 min, 18%→60% A, 15~20 min, 60%→90% A;流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>;检测波长 210 nm;柱温 40 °C;进样量 3 μL。共得到 28 个色谱峰,经过标准品对照,其中 1, 3, 13, 14, 24 号峰分别为白藜芦醇、7, 4'-二羟基黄酮、龙血素 A、龙血素 B、紫檀芪。见图 1。

#### 1.3.2 细胞培养

H9c2 细胞用含 10%胎牛血清, 1%双抗的高糖 DMEM 培养基, 37 °C、5%二氧化碳培养箱中培养, 2 d 更换培养液, 4 d 传代一次。

#### 1.3.3 CCK-8 法测定 DCF 对 H9c2 心肌细胞毒性作用和 H9c2 心肌细胞缺氧复氧模型的干预作用

H9c2 心肌细胞经 0.25%胰蛋白酶消化收集,按每孔 8000 个细胞接种于 96 孔培养板,置于 37 °C、5%二氧化碳培养箱中孵育 24 h 后,加入 DCF,使其终浓度为 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 μg·mL<sup>-1</sup>, 每种浓度 3 个复孔。培养 24 h 后,取出 96 孔板吸出含药培养基每孔加 CCK-8 溶液 10 μL, DMEM 培养基 90 μL,置于 37 °C 孵育 4 h 后,测定波长 450 nm 处的吸光度。

H9c2 心肌细胞以 2.5×10<sup>4</sup>·mL<sup>-1</sup>接种到 96 孔板中,每孔 200 μL。培养 24 h 后,对 H9c2 心肌细胞进行

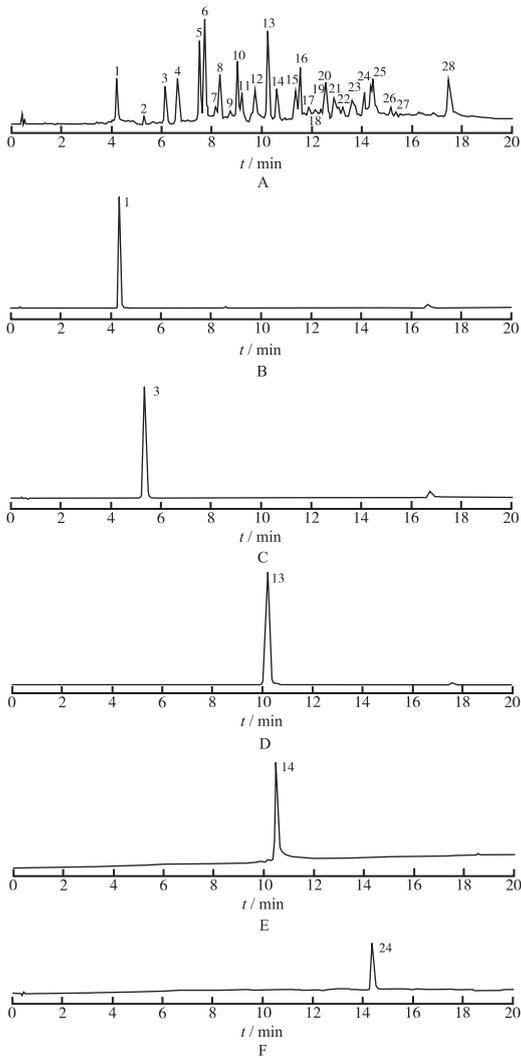
收稿日期 2018-01-08 修回日期 2018-02-26

基金项目 \*国家自然科学基金资助项目(81503289);云南省基础研究面上项目(2016FB143);中央级公益性科研院所基本科研业务费资助项目(2016ZX350064)

作者简介 吴堃(1992-),男,黑龙江大庆人,硕士,专业方向:生药学。ORCID: 0000-0003-2377-5821。电话:0451-87266807, E-mail:1227118035@qq.com。

通信作者 李光(1985-),男,河北安国人,副研究员,博士,从事民族药药理及开发工作。电话:0691-2161858, E-mail:lhbg311@hotmail.com。

通信作者 孙慧峰(1969-),男,黑龙江哈尔滨人,教授,硕士,从事中药鉴定学工作。电话:0451-87262500, E-mail:sunhuifeng6895@sina.com。



A. 剑叶龙血树提取物; B. 白藜芦醇对照品; C. 7,4'-二羟基黄酮对照品; D. 龙血素 A 对照品; E. 龙血素 B 对照品; F. 紫檀芪对照品; 1. 白藜芦醇; 3. 7,4'-二羟基黄酮; 13. 龙血素 A; 14. 龙血素 B; 24. 紫檀芪

图 1 6 种溶液的 HPLC 图

A. *Dracaena cochinchinensis* (Lour) S. C. Chen extract; B. reference substance of resveratrol; C. reference substance of 7,4'-dihydroxy flavonoids; D. reference substance of loureirin A; E. reference substance of loureirin B; F. reference substance of pterostilbene; 1. resveratrol; 3. 7,4'-dihydroxy flavonoids; 13. loureirin A; 14. loureirin B; 24. pterostilbene

Fig.1 HPLC chromatogram of six kinds of solution

如下分组: 正常对照组和模型对照组, 加入 DMEM 培养基; DCF 大、中、小剂量组 (20, 10, 5  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 每组 6 个复孔, 给药预处理 24 h。吸出含药培养基更换为无血清无糖 DMEM 培养基, 缺氧 4 h 后, 进行复氧处理, 复氧 16 h, CCK-8 法检测细胞存活率。

1.3.4 流式细胞仪检测 DCF 对 H9c2 心肌细胞缺氧复

氧模型的干预作用 H9c2 心肌细胞以  $10 \times 10^4 \cdot \text{mL}^{-1}$  接种到 6 mm 培养皿中, 每孔接种 800  $\mu\text{L}$ , 按照“1.3.3”项中进行药物预处理并建立缺氧复氧损伤模型。用胰酶消化细胞, 300 $\times g$  离心 10 min 后, 弃去上清液, 加入磷酸盐缓冲液 (PBS) 清洗 2 次, 离心去上清液, 加  $1 \times$  Annexin-binding Buffer 100  $\mu\text{L}$  重悬细胞, 并加入 Annexin V 5  $\mu\text{L}$  和 PI 工作液 1  $\mu\text{L}$  室温避光孵育 20 min, 再加入 Annexin-binding Buffer 400  $\mu\text{L}$  混匀, 置冰盒内保存, 于流式细胞仪中检测。

1.3.5 Western blotting 法测定 DCF 对缺氧复氧模型 H9c2 心肌细胞凋亡蛋白表达的影响 经过药物预处理的缺氧复氧 H9c2 细胞使用胰酶消化收集后, 4  $^{\circ}\text{C}$  预冷 PBS 清洗 2 次, 加细胞裂解液 99  $\mu\text{L}$  和蛋白酶抑制剂 1  $\mu\text{L}$  混合液, 冰浴上反应 20 min, 18 000 $\times g$  离心 15 min, 取上清液使用 BCA 法定量后, 按 1 : 4 加 Loading Buffer 混匀沸水浴 5 min 后于 -80  $^{\circ}\text{C}$  冻存待测。

蛋白经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后, 湿转法至硝酸纤维素膜上, 再置封闭液中室温振摇 2 h, 分别加入鼠多克隆抗体 Akt、 $\beta$ -actin、caspase-3 和 Bcl-2、Bax、PI3k、caspase-8 抗体于 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜, TBST 漂洗 10 min $\times 3$  次, 二抗为用 HRP 标记的羊抗鼠、羊抗兔 IgG 抗体 (1 : 5000), 室温振摇孵育 1 h, 漂洗后用 ECL 显色, 室温孵育 3 min, 曝光摄像, 并计算灰度值。

1.4 统计学方法 采用 SPSS19.0 版统计学软件对原始数据进行处理, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。药物浓度取对数后采用 Dose-response-Inhibition 进行半数抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ) 拟合。

2 结果

2.1 DCF 对 H9c2 心肌细胞毒性作用及缺氧复氧模型的保护作用 加入 DCF 24 h 后, 利用 CCK-8 法测定细胞存活率, 结果 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  DCF 组 H9c2 细胞相对存活率分别为 (26.02 $\pm$ 2.21)%, (85.78 $\pm$ 13.88)%, (92.25 $\pm$ 9.99)%, (94.62 $\pm$ 4.54)%, (104.20 $\pm$ 4.94)%, (99.46 $\pm$ 10.70)%; 正常对照组 H9c2 细胞存活率 (100.00 $\pm$ 6.99)%。100  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  DCF 对 H9c2 细胞表现出一定的毒性作用, 与正常对照组比较, 差异有统计学意义 ( $q = 10.66, P < 0.01$ ),  $\text{IC}_{50}$  拟合结果为 77.05  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ( $R^2 = 0.9121$ )。

进行缺氧复氧处理后, 20, 10, 5  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  DCF 组 H9c2 细胞的相对存活率分别为 (35.10 $\pm$ 1.52)%, (44.70 $\pm$ 2.27)%, (51.09 $\pm$ 3.61)%, 正常对照组和模型对照组 H9c2 细胞存活率分别为 (100.00 $\pm$ 6.40)%, (33.41 $\pm$ 1.24)%。模型对照组细胞存活率明显低于正常对照组

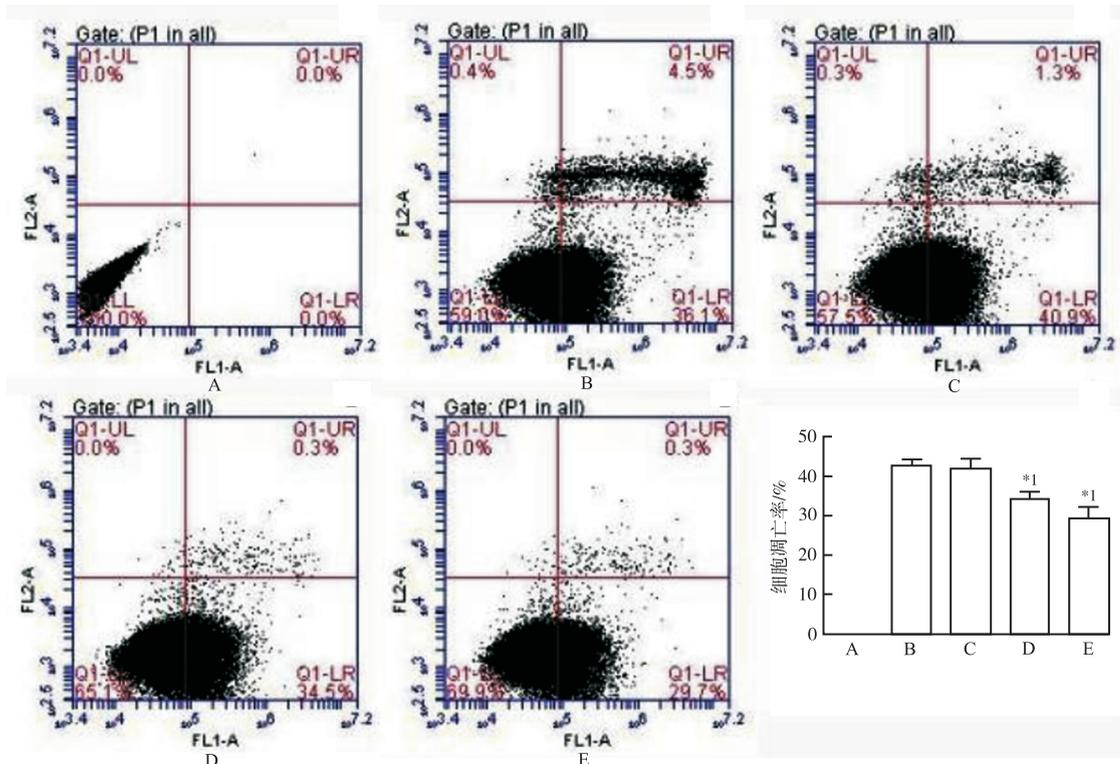
( $q=32.50, P<0.01$ ),  $10, 5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  DCF 可以增加缺氧复氧模型心肌细胞的存活率, 与模型对照组比较, 差异有统计学意义( $q=5.506, 8.626, P<0.01$ )。

**2.2 流式细胞术测定各组细胞凋亡** 给药预处理 24 h, 更换无血清无糖培养基缺氧 4 h 复氧 16 h 处理, 按照说明书方法进行流式细胞术检测, 结果见图 2。

缺氧复氧处理后模型对照组细胞凋亡率为( $42.4 \pm$

$1.68$ )%, DCF 中、小剂量组细胞凋亡率分别为( $34.1 \pm 1.98$ )%, ( $29.4 \pm 2.63$ )%, 并且中晚凋亡象限下细胞数也有明显减少, 因此可推断其作用机制可能是抑制早凋亡及晚凋亡因子的生成。

**2.3 Western blotting 测定凋亡蛋白表达** 给药后进行缺氧复氧处理, 处理结束后提取蛋白, 进行 Western blotting 测定, 结果见表 1。



A. 正常对照组; B. 模型对照组; C. DCF 大剂量组; D. DCF 中剂量组; E. DCF 小剂量组; 与模型对照组比较,  $^*P<0.01$

图 2 DCF 对 H9c2 心肌细胞凋亡率的影响

A. normal control group; B. model control group; C. high-dose DCF group; D. medium-dose DCF group; E. low-dose DCF group; compared with model control group,  $^*P<0.01$

Fig.2 Effect of DCF on apoptosis of H9c2 cardiac myocytes

表 1 5 组 H9c2 心肌细胞缺氧复氧处理后的凋亡蛋白表达

Tab.1 Expression of apoptotic protein of five groups of H9c2 myocardial cells

组别	caspase-8/	caspase-3/	Bcl-2/	Bax/	Akt/	PI3k/
	$\beta$ -actin					
正常对照组	$1.156 \pm 0.198^{*1}$	$0.691 \pm 0.078^{*1}$	$1.134 \pm 0.150^{*2}$	$1.185 \pm 0.210^{*2}$	$0.519 \pm 0.067$	$0.749 \pm 0.084^{*2}$
模型对照组	$2.104 \pm 0.170$	$1.098 \pm 0.110$	$0.600 \pm 0.063$	$2.473 \pm 0.310$	$0.338 \pm 0.049$	$0.350 \pm 0.042$
DCF						
大剂量组	$2.292 \pm 0.347$	$1.496 \pm 0.241^{*1}$	$1.379 \pm 0.170^{*2}$	$1.460 \pm 0.200^{*2}$	$0.244 \pm 0.037$	$0.871 \pm 0.096^{*2}$
中剂量组	$1.823 \pm 0.160$	$0.603 \pm 0.079^{*1}$	$0.631 \pm 0.073$	$0.676 \pm 0.073^{*2}$	$0.941 \pm 0.097^{*2}$	$1.123 \pm 0.142^{*2}$
小剂量组	$1.579 \pm 0.140^{*2}$	$1.460 \pm 0.216$	$0.631 \pm 0.069$	$1.058 \pm 0.190^{*2}$	$2.092 \pm 0.240^{*2}$	$1.429 \pm 0.162^{*2}$

与模型对照组比较,  $^*P<0.05, ^*2P<0.01$

Compared with model control group,  $^*P<0.05, ^*2P<0.01$

通过缺氧复氧处理后,模型对照组与正常组比较,蛋白表达量差异有统计学意义,而给予 DCF 后,DCF 中剂量组及小剂量组能够显著上调 PI3K 及 Akt 蛋白表达,DCF 大、中、小剂量组能够显著下调 Bax 蛋白表达,DCF 大剂量组能够显著上调 Bcl-2 蛋白表达,而 DCF 中剂量只能显著下调 Cleaved Caspase-3 蛋白表达,DCF 小剂量组能够显著下调 Cleaved Caspase-8 蛋白表达。

### 3 讨论

H9c2 心肌细胞是 20 世纪 70 年代由 KIMES 等<sup>[13]</sup>从胚胎期 BDIX 大鼠心脏组织中分离得到的一种具有骨骼肌特性的心肌细胞株,与原代心肌细胞相比具有可分裂、传代培养等优点,是体外研究心血管疾病药效及作用靶点的最主要材料。本研究利用缺氧复氧处理 H9c2 心肌细胞模拟心肌缺血-再灌注损伤模型,能够较为真实反映 DCF 的作用机制。

本研究中剑叶龙血树黄酮类成分提取率较高,比对文献<sup>[14]</sup>,龙血竭中主要成分如龙血素 A、龙血素 B、白藜芦醇、紫檀芪等均在剑叶龙血树黄酮中得到,且剑叶龙血树黄酮含量要高于龙血竭药材中总黄酮含量,这也为剑叶龙血树黄酮的产品开发及深入研究其作用机制提供了依据。

本研究结果显示,DCF 中、小剂量组对缺氧复氧处理 H9c2 心肌细胞具有较好的保护作用,其作用机制可能是通过上调 PI3K、Akt 蛋白表达,下调 Bax、Cleaved Caspase-3 及 Cleaved Caspase-8 等蛋白的表达相关,这可能与白藜芦醇、紫檀芪等成分植物雌激素样作用相关<sup>[15-16]</sup>。同时,实验结果表明,DCF 与凋亡蛋白的表达并不存在严格的剂量依赖关系,中剂量组降低 Cleaved Caspase-3 蛋白表达更为明显,小剂量组下调 Cleaved Caspase-8 蛋白表达更为明显,而大剂量组能够显著上调 Bcl-2 蛋白表达,这可能是由 DCF 中不同化合物活性差异引起,有待进一步验证,DCF 成分与作用机制间的关系将是后期研究的重点。

#### 参考文献

[1] 文东旭.龙血竭的研究进展[J].中草药,2001,32(11):96-97.  
 [2] 钟月平.中药龙血竭的临床应用及研究进展[J].现代中

西结合杂志,2010,19(19):2469-2470.  
 [3] 董恩双.龙血竭化学研究及降血糖有效部位的筛选[D].北京:北京中医药大学,2008:15-16.  
 [4] GUPTA D,BLEAKLEY B,GUPTA R K.Dragon's blood: botany,chemistry and therapeutic uses[J].J Ethnopharm, 2008,115(3):361-380.  
 [5] 王兰珍,王继永,张燕,等.血竭植物资源开发利用现状[J].时珍国医国药,2007,18(4):1017-1019.  
 [6] WANG M,MENG X B,YU Y L,et al.Elatoside C protects against hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis in H9c2 cardiomyocytes through the reduction of endoplasmic reticulum stress partially depending on STAT3 activation [J].Apoptosis,2014,19(12):1727-1735.  
 [7] JEONG J J,HA Y M,JIN Y C,et al.Rutin from *Lonicera japonica* inhibits myocardial ischemia/reperfusion-induced apoptosis *in vivo* and protects H9c2 cells against hydrogen peroxide-mediated injury via ERK1/2 and PI3K/Akt signals *in vitro*[J].Food Chem Toxi,2009,47(7):1569-1576.  
 [8] 李光,邢小燕,张美双,等.基于表观遗传学调控的中医药防治心肌缺血再灌注损伤的研究进展[J].药学学报, 2016,51(7):1047-1053.  
 [9] ZHANG X,CHEN S,HU H,et al.Study on equivalence of dragon's blood and resina draconis on the cardiovascular system[J].China Pharmacist,2009,12(3):241-271.  
 [10] 黄树芳,陈学芬,陈晓军,等.广西血竭的活血化瘀研究[J].中药材,1994,17(9):37-39,56.  
 [11] 屠鹏飞,王钰芳,邵杰,等.龙血竭中黄酮类成分提取工艺研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(6):30-32.  
 [12] 秦建平,李家春,吴建雄,等.基于 UPLC 结合化学计量学方法的龙血竭指纹图谱研究[J].中国中药杂志,2015, 40(6):1114-1118.  
 [13] KIMES B W,BRANDT B L.Properties of a clonal muscle cell line from rat heart. [J].Exp Cell Res,1976,98(2): 367-381.  
 [14] 周艳林,蒋受军,文建文,等.龙血竭特征成分对照指纹图谱研究[J].中华中医药杂志,2012,27(12):3080-3082.  
 [15] 刘伟,于沛,王玉强.白藜芦醇衍生物的药理活性研究进展[J].医药导报,2010,29(7):901-906.  
 [16] 刘芝兰,曾春娇,吴梅青,等.白藜芦醇与白皮杉醇及赤松素研究进展[J].医药导报,2013,32(8):1043-1049.