

文章编号:1001-6880(2014)7-1009-05

# 王不留行黄酮苷对过氧化氢和高糖诱导损伤的人脐静脉内皮细胞的保护作用

谢凤珊<sup>1</sup>,冯磊<sup>2</sup>,马丽萍<sup>1</sup>,邱丽颖<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>江南大学药学院; <sup>2</sup>江南大学无锡医学院,无锡 214122

**摘要:**体外培养人脐静脉内皮细胞,乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒评价王不留行黄酮苷孵育24 h后的细胞毒性。先给予13.76、6.88、3.44 μmol/L的王不留行黄酮苷和维生素C阳性对照组(浓度为100 μmol/L)预孵育12 h后,再分别以H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和高糖诱导内皮细胞损伤。SRB法测定细胞活力,试剂盒检测乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)含量。与模型组相比,王不留行黄酮苷13.76、6.88、3.44 μmol/L组均可改善H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和高糖损伤模型的细胞活力,尤以13.76 μmol/L作用最为显著( $P < 0.01$ );并且王不留行黄酮苷13.76 μmol/L显著降低H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和高糖损伤组培养液中LDH和MDA释放量,增强细胞内SOD活性。

**关键词:**王不留行黄酮苷;人脐静脉内皮细胞;H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>损伤;高糖损伤

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

## Protective Effect of Vaccarin on Human EA · hy926 Endothelial Cells Injured by Hydrogen Peroxide and High Glucose

XIE Feng-shan<sup>1</sup>, FENG Lei<sup>2</sup>, MA Li-ping<sup>1</sup>, QIU Li-ying<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>School of Pharmaceutical Science, Jiangnan University; <sup>2</sup>Wuxi Medical School, Jiangnan University, Jiangsu Wuxi 214122, China

**Abstract:** The cytotoxicity of vaccarin on human EA · hy926 endothelial cells was investigated by measuring the release of lactate dehydrogenase (LDH) in extracellular fluid. The model of oxidative injury was induced by hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and the model of high glucose injury was induced by high glucose after treatment of these cells with different doses (13.76, 6.88, 3.44 μmol/L) of vaccarin and 100 μmol/L of vitamin C. Then the cell viability was measured by SRB method. The release of LDH, the level of malondialdehyde (MDA) and the activity of superoxide dismutase (SOD) in EA · hy926 were determined according to the manufacturer's instructions. Hence, the protective effect of vaccarin against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and high glucose induced endothelial cellular damage was confirmed. As shown, the superior effect of vaccarin was observed at 13.76 μmol/L, which significantly reduced the level of MDA and LDH leakage, and enhanced production of SOD.

**Key words:** vaccarin; human EA · hy926 endothelial cells; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> injury; high glucose injury

血管内皮细胞的损伤和功能异常与动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)的发生密切相关,内皮细胞过度凋亡被认为是其始动环节<sup>[1]</sup>。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>被认为是引起血管损伤的首要成分,它在代谢过程中产生活性氧和自由基,引起血管内皮发生氧化损伤而导致细胞凋亡,促进动脉粥样硬化的发生<sup>[2]</sup>。高血糖则能够引起葡萄糖及糖化蛋白发生自身氧化,抗氧化能力下降,发生氧化应激,引起内皮细胞膜脂质过氧化,从而导致内皮细胞膜功能障碍和内皮功能紊乱<sup>[3]</sup>。因此,防止血管内皮细胞氧化损伤是防治血

管性疾病发生的重要手段,且对改善心血管等疾病具有积极意义。

王不留行为石竹科植物麦蓝菜 *Vaccaria segetalis* (Neck.) Gärcke 的干燥成熟种子,药典记载其具有活血痛经,下乳消肿,利尿通淋的作用,用于经闭,痛经,乳汁不下,乳痈肿痛,淋证涩痛<sup>[4]</sup>。文献报道王不留行中含多种皂苷、黄酮苷、环肽、类脂、脂肪酸、单糖、生物素及香豆素类化合物等成分<sup>[5]</sup>。王不留行黄酮苷(vaccarin)是从王不留行中提取出来的一种黄酮三糖苷,为淡黄色颗粒状结晶,易溶于甲醇、甲醇-水、乙醇、乙醇-水、正丁醇等,难溶于氯仿、乙酸乙酯、石油醚等<sup>[6]</sup>,结构如图1所示。目前,王

不留行黄酮苷在心血管系统方面的研究尚处于空白阶段,本研究以  $H_2O_2$  和高糖建立人脐静脉内皮细胞损伤模型,探讨王不留行黄酮苷对其保护的作用。为保护内皮细胞的相关疾病提供新的治疗方法与应用。探讨其是否可开发成为新的治疗血管性疾病的药物。

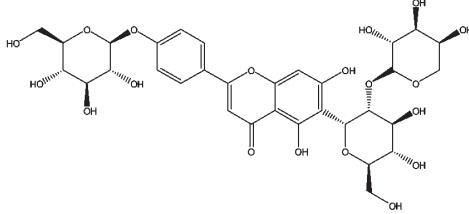


图 1 王不留行黄酮苷的结构

Fig. 1 Chemical structure of vaccarin

## 1 材料与仪器

### 1.1 材料与仪器

王不留行黄酮苷,纯度>98%,购自上海士峰生物科技有限公司;胎牛血清(Gibco BRL公司);DMEM高糖培养基(cellgro,美国Mediatech公司);青霉素(华北制药股份有限公司),链霉素(大连美罗大药厂);碘酰罗丹明B(SRB)试剂(美国Sigma公司);葡萄糖(国药集团);维生素C(国药集团);乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒(批号:20130620)、丙二醛(MDA)试剂盒(批号:20130608)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号:20130618)、BCA试剂盒(批号:20130619)均购自南京建成生物工程研究所。

$CO_2$  细胞培养箱(Thermo Forma公司,型号:SY18-WJ2/3);紫外可见分光光度计(尤尼柯仪器有限公司,型号:UV-2100);自动酶标仪(Labsystem公司,型号:Multiskan MK3);分析天平(METTLER TOLEDO,型号:AL104);超净工作台(青岛丹佳净化设备有限公司,型号:SW-CJ-IF)。

### 1.2 细胞株

人脐静脉内皮细胞(EA·hy926)由苏州大学医学院提供。

## 2 实验方法

### 2.1 细胞培养

EA·hy926细胞用含1 mmol/L 谷氨酰胺,100 U/L 双抗和100 mL/L 胎牛血清的DMEM培养液,于37℃,50 mL/L  $CO_2$  培养箱中传代培养。

### 2.2 王不留行黄酮苷对正常细胞 LDH 释放量的测定

选择对数生长期的细胞,胰酶消化制成细胞悬液,按每孔 $1 \times 10^5$ 个接种于24孔板,每孔接种450  $\mu L$ ,24 h后随机分成4组:除正常对照组加入50  $\mu L$  无血清培养基外,3个给药组分别加入相应浓度等体积王不留行黄酮苷药液,使药物终浓度分别为13.76、6.88、3.44  $\mu mol/L$ ,每组设3个复孔,37℃孵育12 h后,取上清液,按照试剂盒方法测定LDH释放量。

### 2.3 王不留行黄酮苷对 $H_2O_2$ 诱导 EA·hy926 细胞损伤的影响<sup>[7]</sup>

#### 2.3.1 SRB 法检测细胞活力

选择对数生长期的细胞,胰酶消化制成细胞悬液,调整细胞浓度,按每孔8000个细胞接种于96孔板,每孔接种160  $\mu L$ ,每组设4个复孔,24 h后随机分6组:正常组和模型组加入20  $\mu L$  无血清培养基,阳性对照组加入终浓度为100  $\mu mol/L$  的维生素C溶液(溶于无血清培养基中),3个给药组分别加入相应浓度等体积王不留行黄酮苷的药液,使药物终浓度分别为13.76、6.88、3.44  $\mu mol/L$ ,于37℃孵育预保护12 h后,模型组、维生素C组和王不留行黄酮苷组每孔加入20  $\mu L H_2O_2$ ,其终浓度为1000  $\mu mol/L$ ,正常对照组加入20  $\mu L$  无血清培养基,于37℃孵育2 h后,SRB法检测细胞活力。

#### 2.3.2 SOD、MDA、LDH 测定

选择对数生长期的细胞,胰酶消化制成细胞悬液,调整细胞浓度,按每孔 $4 \times 10^4$ 个接种于24孔板,每孔接种800  $\mu L$ ,每组设3个复孔,24 h后随机分6组:正常组和模型组加入100  $\mu L$  无血清培养基,阳性对照组加入终浓度为100  $\mu mol/L$  的维生素C溶液100  $\mu L$ ,三个给药组分别加入相应浓度等体积王不留行黄酮苷药液,使药物终浓度分别为13.76、6.88、3.44  $\mu mol/L$ ,于37℃孵育预保护12 h后,除正常组加入100  $\mu L$  无血清培养基外,模型组、维生素C组和王不留行黄酮苷组每孔加入100  $\mu L H_2O_2$ ,其终浓度为1000  $\mu mol/L$ ,正常对照组加入100  $\mu L$  无血清培养基,于37℃孵育2 h后,取细胞上清液测定LDH和MDA的释放量;裂解细胞,BCA法测定蛋白含量,测定胞内SOD活力。

### 2.4 王不留行黄酮苷对高糖诱导 EA·hy926 损伤的影响<sup>[8]</sup>

### 2.4.1 SRB 法检测细胞活力

选择对数生长期的细胞,胰酶消化制成细胞悬液,调整细胞浓度,按每孔 8000 个细胞接种于 96 孔板,每孔接种 160  $\mu\text{L}$ ,24 h 后随机分 6 组:正常组和模型组加入 20  $\mu\text{L}$  无血清培养基,阳性对照组加入终浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  的维生素 C 溶液(溶于无血清培养基中),3 个给药组分别加入相应浓度等体积王不留行黄酮苷的药液,使药物终浓度分别为 13.76、6.88、3.44  $\mu\text{mol/L}$ ,于 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育预保护 12 h 后,模型组、维生素 C 组和王不留行黄酮苷组每孔加入 20  $\mu\text{L}$  葡萄糖(终浓度 180 mmol/L),正常对照组加入 20  $\mu\text{L}$  无血清培养基,每组设 4 个复孔,37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 24 h 后,SRB 法检测细胞活力。

### 2.4.2 SOD、MDA、LDH 测定

选择对数生长期的细胞,胰酶消化制成细胞悬液,调整细胞浓度,按每孔为  $8 \times 10^4$  个接种于 24 孔板,每孔接 800  $\mu\text{L}$ ,每组设 3 个复孔,24 h 后,随机分 6 组:正常组和模型组加入 20  $\mu\text{L}$  无血清培养基,阳性对照组加入终浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  的维生素 C 溶液(溶于无血清培养基中),3 个给药组分别加入相应浓度等体积王不留行黄酮苷的药液,使药物终浓度分别为 13.76、6.88、3.44  $\mu\text{mol/L}$ ,于 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育预保护 12 h 后,模型组、维生素 C 组和王不留行黄酮苷组每孔加入 20  $\mu\text{L}$  葡萄糖(终浓度 180 mmol/L),正常对照组加入 20  $\mu\text{L}$  无血清培养基,于 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 24 h 后,取细胞上清液测定 LDH 和 MDA 的释放量,裂解细胞,BCA 法测定蛋白含量,测定胞内 SOD 活力。

### 2.5 统计学处理

所有数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,统计处理采用 SPSS20.0 统计软件,两组间均数比较用 *t* 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

表 1 王不留行黄酮苷对正常细胞 LDH 释放的影响( $\bar{x} \pm s$ , $n = 3$ )

Table 1 The effects of vaccarin on LDH release in normal EA · hy926 cells ( $\bar{x} \pm s$ , $n = 3$ )

组别 Group	给药浓度 Dosage ( $\mu\text{mol/L}$ )	LDH release (U/L)
正常组 Normal control		$192.86 \pm 64.72$
Vaccarin 组	13.76	$190.48 \pm 31.22$
	6.88	$169.84 \pm 11.25$
	3.44	$180.16 \pm 30.71$

## 3 结果与讨论

### 3.1 王不留行黄酮苷对正常 EA · hy926 细胞 LDH 释放量的影响

加药孵育 12 h 后,与正常对照组比较,王不留行黄酮苷各浓度对细胞 LDH 释放量无明显影响,见表 1。

### 3.2 王不留行黄酮苷对 $\text{H}_2\text{O}_2$ 诱导 EA · hy926 细胞损伤模型的影响

#### 3.2.1 王不留行黄酮苷对 $\text{H}_2\text{O}_2$ 诱导 EA · hy926 细胞活力影响

与正常组比较,模型组细胞活力显著下降( $P < 0.01$ );而与模型组比较,阳性对照组(维生素 C)与王不留行黄酮苷的高剂量组对  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的细胞活力有明显改善( $P < 0.01$ ),而王不留行黄酮苷中、低剂量组对细胞活力没有改善作用。见表 2。

表 2 王不留行黄酮苷对  $\text{H}_2\text{O}_2$  损伤的细胞活力的影响( $\bar{x} \pm s$ , $n = 4$ )

组别 Group	给药浓度 Dosage ( $\mu\text{mol/L}$ )	OD 值 OD (A540nm)
正常对照组 Normal control		$0.673 \pm 0.027^{**}$
模型损伤组 Model		$0.366 \pm 0.020$
维生素 C 组 Vitamin C	100	$0.427 \pm 0.008^{**}$
Vaccarin 组	13.76	$0.425 \pm 0.012^{**}$
	6.88	$0.386 \pm 0.010$
	3.44	$0.386 \pm 0.028$

注: \*\* 代表与模型组对比  $P < 0.01$ , \* 代表与模型组对比  $P < 0.05$

Note: \*\* means  $P < 0.01$ , \* means  $P < 0.05$ , vs model.

#### 3.2.2 王不留行黄酮苷对 $\text{H}_2\text{O}_2$ 诱导 EA · hy926 损伤氧化指标的影响

与正常组比较,模型组 LDH 和 MDA 水平显著升高( $P < 0.01$ ),SOD 活性显著下降( $P < 0.01$ );而与模型组比较,维生素 C 组与王不留行黄酮苷中、高剂量组 LDH 释放量显著下降( $P < 0.01$ );而在 MDA 水平上,维生素 C 组和王不留行黄酮苷给药组均能使之显著降低( $P < 0.01$ );SOD 活性中,维生素 C 组和王不留行黄酮苷高剂量组均能使之显著升高( $P < 0.05$ ),见表 3。

### 3.3 王不留行黄酮苷对高糖诱导 EA · hy926 细胞损伤模型的影响

#### 3.3.1 王不留行黄酮苷对高糖诱导 EA · hy926 细胞活力影响

与正常组比较,模型组细胞活力显著下降( $P <$

表 3 王不留行黄酮昔对  $H_2O_2$  诱导的细胞损伤氧化指标的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )Table 3 The effects of vaccarin and  $H_2O_2$  on LDH release, MDA levels and SOD activity ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别 Group	给药浓度 Dosage ( $\mu\text{mol/L}$ )	SOD SOD activity (U/mg)	MDA MDA levels (nmol/mL)	LDH LDH release (U/L)
正常对照组 Normal control		$30.50 \pm 1.64^{* *}$	$1.89 \pm 0.09^{* *}$	$90.01 \pm 25.68^{* *}$
模型对照组 Model		$20.96 \pm 2.99$	$3.81 \pm 0.29$	$176.65 \pm 16.47$
维生素 C 组 Vitamin C	100	$27.53 \pm 2.75^{*}$	$2.10 \pm 0.28^{* *}$	$132.81 \pm 9.35^{*}$
Vaccarin 组	13.76	$25.17 \pm 3.98^{*}$	$2.16 \pm 0.27^{* *}$	$126.59 \pm 14.48^{*}$
	6.88	$23.34 \pm 4.28$	$2.61 \pm 0.24^{* *}$	$131.78 \pm 16.37^{*}$
	3.44	$19.61 \pm 2.80$	$2.82 \pm 0.14^{* *}$	$160.05 \pm 11.01$

注: \* \* 代表与模型组对比  $P < 0.01$ , \* 代表与模型组对比  $P < 0.05$ 。

Note: \* \* means  $P < 0.01$ , \* means  $P < 0.05$ , vs model.

表 4 王不留行黄酮昔对高糖损伤的细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )Table 4 The effects of vaccarin on the viability EA · hy926 cells injured by high glucose ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

组别 Group	给药浓度 Dosage ( $\mu\text{mol/L}$ )	OD 值 OD (A540nm)
正常对照组 Normal control		$0.993 \pm 0.029^{* *}$
模型对照组 Model		$0.483 \pm 0.020$
维生素 C 组 Vitamin C	100	$0.562 \pm 0.055^{* *}$
Vaccarin 组	13.76	$0.588 \pm 0.037^{* *}$
	6.88	$0.603 \pm 0.067^{*}$
	3.44	$0.552 \pm 0.138$

注: \* \* 代表与模型组对比  $P < 0.01$ , \* 代表与模型组对比  $P < 0.05$ 。

Note: \* \* means  $P < 0.01$ , \* means  $P < 0.05$ , vs model.

表 5 王不留行黄酮昔对高糖诱导的细胞损伤氧化指标的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )Table 5 The effects of vaccarin and high glucose on LDH release, MDA levels and SOD activity ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别 Group	给药浓度 Dosage ( $\mu\text{mol/L}$ )	SOD SOD activity (U/mg)	MDA MDA levels (nmol/mL)	LDH LDH release (U/L)
正常对照组 Normal control		$20.78 \pm 2.20^{*}$	$1.44 \pm 0.25^{* *}$	$113.64 \pm 32.62^{* *}$
模型对照组 Model		$11.20 \pm 3.02$	$3.65 \pm 0.29$	$258.84 \pm 3.21$
维生素 C 组 Vitamin C	100	$17.27 \pm 2.20^{*}$	$1.70 \pm 0.34^{* *}$	$137.13 \pm 20.60^{* *}$
Vaccarin 组	13.76	$17.32 \pm 1.42^{*}$	$1.89 \pm 0.24^{* *}$	$142.60 \pm 34.87^{* *}$
	6.88	$13.78 \pm 2.95$	$2.31 \pm 0.10^{* *}$	$194.43 \pm 34.47$
	3.44	$10.48 \pm 1.17$	$2.69 \pm 0.10^{* *}$	$234.88 \pm 28.36$

注: \* \* 代表与模型组对比  $P < 0.01$ , \* 代表与模型组对比  $P < 0.05$ 。

Note: \* \* means  $P < 0.01$ , \* means  $P < 0.05$ , vs model.

### 3.4 讨论

内皮细胞在管理血管功能和炎症的生理学和病理生理学方面的发展有着关键的作用。内皮细胞凋亡是动脉粥样硬化发生的始动因素,  $H_2O_2$  被认为是引起血管损伤的首要成分。同时, 越来越多证据表明糖尿病也可以引起广泛的血管并发症, 而其中之一主要的危险因素是心血管动脉粥样化<sup>[9]</sup>。本实验利用  $H_2O_2$  氧化和高糖损伤 EA · hy926 细胞造成

0.01); 而与模型组比较, 维生素 C 组与王不留行黄酮昔中、高剂量组对高糖诱导的 EA · hy926 细胞活力有明显改善 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 见表 4。

#### 3.3.2 王不留行黄酮昔对高糖诱导 EA · hy926 损伤氧化指标的影响

与正常组比较, 模型组 LDH 和 MDA 水平显著升高 ( $P < 0.01$ ), SOD 活性显著下降 ( $P < 0.05$ ); 而与模型组比较, 维生素 C 组与王不留行黄酮昔高剂量组 LDH 和 MDA 水平显著降低 ( $P < 0.01$ ), SOD 活性显著升高 ( $P < 0.05$ ); 同时, 王不留行黄酮昔中、低剂量组也可显著降低细胞的 MDA 水平 ( $P < 0.01$ ), 见表 5。

表 5 王不留行黄酮昔对高糖诱导的细胞损伤氧化指标的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )Table 5 The effects of vaccarin and high glucose on LDH release, MDA levels and SOD activity ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

内皮细胞凋亡模型, SRB 法检测其 OD 值, 发现其细胞活力与正常组对比有显著差异。王不留行黄酮昔预处理后可明显改善细胞活力的下降, 显示王不留行黄酮昔对  $H_2O_2$  和高糖诱导的 EA · hy926 细胞凋亡具有明显的抑制作用。

$H_2O_2$  和高糖诱导产生自由基在许多生物分子方面有着不可逆转的作用, 比如脂肪, 导致脂质过氧化物酶。不可控的脂质过氧化物酶是一个已知的细

胞氧化损伤的临床表现。LDH 泄露,相当于膜损伤,MDA,是通过过多的氧自由基(ROS)诱导脂质过氧化物酶的一个副产物,这两个都广泛用于氧化应激损伤的生物标记。为了防御 ROS 可能的毒害作用,细胞维持胞内抗氧化能力包括结合 SOD 和其他内源性抗氧化物质,不仅可以直接给 ROS 解毒或者间接调节它们的水平<sup>[10]</sup>。抗氧化物质比如 SOD 在抵御辐射中发挥着重要作用,在这些特殊细胞中与整个有机体中,这些酶恰当的平衡对于最大限度地辐射防护是必须的。本研究中,经王不留行黄酮苷处理的 EA · hy926 细胞,减少了 LDH 的渗漏,降低了 MDA 的产生,增强了 SOD 水平,说明王不留行黄酮苷可以改善损伤引起的膜通透性的增加,增强细胞的抗氧化能力抵抗氧化应激损伤,维持膜结构与功能的完整性,从而保护内皮细胞。

综上所述,王不留行黄酮苷可能通过有效增强细胞的抗氧化能力发挥抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和高糖诱导血管内皮细胞凋亡的作用,其确切的作用机制还有待于进一步探讨。

## 参考文献

- 1 Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25 (1):29-38.
- 2 Papaharalambus CA, Griendling KK. Basic mechanisms of

oxidative stress and reactive oxygen species in cardiovascular injury. *Trends Cardiovasc Med*, 2007, 17 (2):48-54.

- 3 Higashi Y, Noma K, Yoshizumi M. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circ J*, 2009, 73: 411-418.
- 4 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). *Pharmacopoeia of People's Republic of China* (中华人民共和国药典), Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I, 49-50.
- 5 Li F(李帆), Liang JY(梁敬钰). Research progress of *Vaccaria segetalis*. *Strait Pharm J*(海峡药学), 2007, 19;1-5.
- 6 Meng H(孟贺), Chen YP(陈玉平), Qin WJ(秦文杰), et al. Isolation and identification of vaccarin from *Vaccariae Semen*. *China Tradit Herb Drags*(中草药), 2011, 42:874-876.
- 7 Liu J, Deng W, Fan L, et al. The role of radix hedysari polysaccharide on the human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) induced by high glucose. *Europe J Int Med*, 2012, 23:287-292.
- 8 Yang Y, Duan WX, Liang ZX, et al. Curcumin attenuates endothelial cell oxidative stress injury through Notch signaling inhibition. *Cellular Signalling*, 2013, 25:615-629.
- 9 Vita JA. Endothelial function and clinical outcome. *Heart*, 2005, 91:1278-1279.
- 10 Ryter SW, Kim HP, Hoetzel A, et al. Mechanisms of cell death in oxidative stress. *Antioxidants and Redox Signalling*, 2007, 9:49-89.

(上接第 1003 页)

- 2 Chen XM(陈晓梅), Guo SX(郭顺星). Advances in the research of constituents and pharmacology of *Dendrobium*. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2001, 13:70-75.
- 3 Zhang JL(张纪立), He JL(何锦丽). Advances in pharmaceutical research of *Dendrobium*. *Lishizhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 2000, 11:469-470.
- 4 Zhu Y(诸燕), Zhang AL(张爱莲), He BW(何伯伟), et al. Quantitive variation of total alkaloids contents in *Dendrobium officinale*. *Chin J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2010, 18:2388-2391.
- 5 Chen XM(陈晓梅), Wang CL(王春兰), Yang JS(杨峻山), et al. Advances in the chemical constituents and their analysis method of *Dendrobium officinale*. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2013, 48:1634-1640.
- 6 Aaseth J, Haugen M, Førre O. Rheumatoid arthritis and metal compounds-perspectives on the role of oxygen radical detoxification. *Analyst*, 1998, 123;3-6.

- 7 Jones AL. Mechanism of action and value of N-acetylcysteine in the treatment of early and late acetaminophen poisoning:a critical review. *J Toxicol Clin Toxicol*, 1998, 36:277-285.
- 8 Ding XP, Wang XT, Chen LL, et al. On-line high-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization-mass spectrometry-chemiluminescence assay of radical scavengers in *Epimedium*. *J Chromatogr A*, 2011, 1218:1227-1235.
- 9 Wang SM(王少敏), Li P(李萍), Zhao M(赵明). Biological chemiluminescence method for determining the antioxidant activity of *Zizyphus jujube* benevolence. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2003, 34:417-419.
- 10 Chen ND(陈乃东), Chen NF(陈乃富), Zhang L(张莉), et al. Study on the anti-oxidative activity of *Pteridium aquilinum* by chemiluminescence. *Food Ferment Ind*(食品与发酵工业), 2013, 6:199-204.
- 11 Wu LJ(吴立军). *Chemistry of Natural Medicine*. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011. 409-410.