

通关藤总皂苷增强阿霉素抗小鼠肝癌量效关系研究

刘啦辣, 倪 艳, 郝旭亮, 李媛媛*

山西省中医药研究院 中药方剂研究所, 山西 太原 030045

摘 要: 目的 研究不同剂量的通关藤总皂苷(MTTS)联合阿霉素(DOX)对 H22 肝癌小鼠抗肿瘤的剂量效应关系。方法 建立 H22 肝癌小鼠模型, 随机分为模型组、DOX (1.5 mg·kg⁻¹) 组、DOX (1.5 mg·kg⁻¹, 隔天给药 1 次)+MTTS (分别设 31.25、62.50、125.00、250.00、500.00 mg·kg⁻¹) 组, 每组 10 只, 另设对照组 10 只。DOX 给药组在肿瘤接种后次日给药, 每隔 1 天给药 1 次; DOX+MTTS 组 DOX、MTTS 轮流给药, 每天给 1 种药, ip 给药; 对照组和模型组同法给予相同体积的 0.9% 氯化钠溶液, 连续给药 14 d。对小鼠进行一般行为观察、体质量观察、测量肿瘤体积并绘制肿瘤生长曲线; 杀鼠后, 取瘤组织称质量, 并计算抑瘤率; 取脾脏、胸腺称质量, 并计算脾脏系数、胸腺系数; 利用流式细胞术检测荷瘤小鼠外周血中 T、B 淋巴细胞、自然杀伤(NK)细胞比例; 采用酶联免疫法检测血清炎症因子水平。**结果** 模型组小鼠生长状态最差, 且毛发枯槁, 没有光泽, 精神状态不佳, 活动减少, 饮食减少; 除 DOX+MTTS (500.00 mg·kg⁻¹) 组外, 联合给药组随着 MTTS 剂量增大, 状态逐步变好, 活动以及精神状态良好; DOX+MTTS 500 mg·kg⁻¹ 组小鼠毛发枯槁, 体质量与体积较其余各给药组都偏小, 形态瘦弱, 饮食不佳, 从第 7 天开始出现死亡。模型组肿瘤体积快速增长, 与模型组相比, DOX 组和联合给药组肿瘤生长均出现明显抑制; DOX 组抑瘤率 69.68%, 31.25、62.50、125.00、250.00、500.00 mg·kg⁻¹ 联合用药组抑瘤率分别为 71.43%、75.95%、79.15%、83.38%、87.90%。与 DOX 组相比, MTTS 协同 DOX 能够显著升高肿瘤小鼠脾脏指数、胸腺指数, 显著增加 CD4⁺ T 淋巴细胞亚群百分率, 减少 CD8⁺ T 淋巴细胞亚群百分率, 升高 CD4⁺/CD8⁺; 显著升高 CD19⁺CD20⁺ B 细胞亚群百分率、CD3⁺CD16⁺ NK 细胞亚群的百分率; 显著降低荷瘤小鼠血清炎症因子白细胞介素(IL)-6、IL-8、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平。**结论** 250.00 mg·kg⁻¹ MTTS 联合阿霉素的治疗效果最佳, 降低 H22 荷瘤小鼠体内炎症因子水平更为突出。MTTS 协同 DOX 能够抑制肿瘤生长, 通过提高 H22 肿瘤小鼠的机体免疫力达到抗肿瘤的作用。

关键词: 通关藤总皂苷; 阿霉素; 联合用药; 肝癌; 量效关系; 抗肿瘤; 免疫细胞

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)09-2441-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.09.006

Study of relationship of total saponin from *Marsdenia tenacissima* to enhance doxorubicin against mouse liver cancer

LIU Lala, NI Yan, HAO Xuliang, LI Yuanyuan

Institute of Chinese Medicine Formulas, Shanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030045, China

Abstract: Objective To investigate the dose-effect relationship of different doses of total saponins of *Marsdenia tenacissima* (MTTS) combined with doxorubicin (DOX) on anti-tumor activity in H22 hepatoma-bearing mice. **Methods** H22 hepatoma-bearing mice models were established and randomly divided into model group, DOX (1.5 mg·kg⁻¹) group, DOX (1.5 mg·kg⁻¹, once every other day) + MTTS (31.25, 62.50, 125.00, 250.00, 500.00 mg·kg⁻¹) groups, with 10 mice in each group, and a control group of 10 mice. The DOX administration groups were given the drug on the day after tumor inoculation, once every other day; the DOX + MTTS groups were given DOX and MTTS alternately, one drug per day, by intraperitoneal injection. The control group and the model group were given the same volume of 0.9% sodium chloride solution in the same way. The treatment lasted for 14 d. General behavior, body weight, tumor volume and tumor growth curves were observed. After killing the mice, the tumor tissues were weighed and the tumor inhibition rate was calculated. The spleen and thymus were weighed and the spleen and thymus coefficients were calculated.

收稿日期: 2025-01-06

基金项目: 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目(zyydzxk-2023023); 山西省卫生健康委员会重点实验室建设计划项目; 山西省中医药管理局科研课题计划项目(2022ZYCY015)

作者简介: 刘啦辣(1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药新药开发。E-mail: 1509150972@qq.com

*通信作者: 李媛媛(1982—), 副主任药师, 博士研究生, 研究方向为中药化学成分与功效。E-mail: 644585109@qq.com

Flow cytometry was used to detect the proportions of T, B and NK cells in the peripheral blood of tumor-bearing mice. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the levels of serum inflammatory factors. **Results** The model group had the poorest growth state, with dry and dull hair, poor mental state, reduced activity and decreased food intake. Except for the DOX + MTTS (500.00 mg·kg⁻¹) group, the combined administration groups showed improved conditions as the dose of MTTS increased, with good activity and mental state. The DOX + MTTS 500 mg·kg⁻¹ group had dry hair, smaller body weight and volume than the other administration groups, a weak appearance, poor food intake, and began to die from the 7th d. The tumor volume in the model group increased rapidly. Compared with the model group, the tumor growth in the DOX group and the combined administration groups was significantly inhibited. The tumor inhibition rates were 69.68% in the DOX group and 71.43%, 75.95%, 79.15%, 83.38% and 87.90% in the 31.25, 62.50, 125.00, 250.00 and 500.00 mg·kg⁻¹ combined administration groups, respectively. Compared with the DOX group, MTTS combined with DOX significantly increased the spleen and thymus indices, the percentage of CD4⁺ T lymphocyte subsets, and the CD4⁺/CD8⁺ ratio; significantly increased the percentage of CD19⁺CD20⁺ B cell subsets and CD3⁺CD16⁺ NK cell subsets; And significantly decreased the levels of serum inflammatory factors IL-6, IL-8 and TNF- α in tumor-bearing mice. **Conclusion** The combination of 250.00 mg·kg⁻¹ MTTS and DOX had the best therapeutic effect and was more effective in reducing the inflammatory level in H22 tumor-bearing mice. MTTS combined with DOX can inhibit tumor growth and achieve anti-tumor effects by enhancing the immunity of H22 tumor-bearing mice.

Key words: total saponin of *Marsdenia tenacissima*; doxorubicin; combination medication; liver cancer; dose-effect relationship; anti-tumor; immune cells

肝细胞癌是世界范围内最常见的癌症之一, 据估计到 2025 年每年有超过 100 万人患肝癌, 死亡率排名第 4, 已经成为一个全球的重大挑战^[1-2]。肝癌的起因主要是乙型肝炎病毒 (HBV)、丙型肝炎病毒 (HCV) 感染或酗酒等引起的慢性肝病^[3]。肿瘤的出现与免疫系统的失调密切相关, 肿瘤免疫监视机制的故障有助于肿瘤逃避监视并生长^[4-5]。肝癌的治疗方法包括手术切除、肝移植、介入治疗、靶向治疗和化疗。化疗后的患者常出现营养不良、免疫力低等常见症状。提高免疫反应和解除免疫系统的抑制作用成为治疗肿瘤疾病的重点。有研究表明, 中药在减少化疗毒性方面具有巨大的潜力, 且具备抗肿瘤及提高机体免疫力的作用^[6-8]。

研究表明, 通关藤提取物在体内外均有明显抗肿瘤作用, 且具有一定的免疫调节作用^[9-12]。近年来, 越来越多研究表明通关藤具有较强的抗肝癌活性^[10-12], 表明通关藤能够明显抑制肝癌细胞的增殖和侵袭, 并显著性地降低肝癌细胞血管内皮生长因子 (VEGF) -D 的表达^[13]。临床上用通关藤治疗肝癌也获得较好的疗效^[14-15]。通关藤抗肝癌效果呈浓度相关性, 黄争荣等^[16]研究结果显示不同浓度的通关藤提取物对 HepG2 肝癌细胞均有抑制作用, 且呈一定的浓度及时间相关性。同时也有研究表明, 通关藤联合化疗药物不仅能增强抗癌效果, 而且能降低化疗药物毒性。

阿霉素 (DOX) 是肝癌细胞敏感的少数化疗药

物之一, 但其会诱发累积性和剂量相关性心脏不良反应, 减轻其不良反应有助于增强抗肿瘤免疫应答, 从而有助于提高肝癌治疗效果。中药因具有不良反应少、药理作用广泛等特点, 在防治 DOX 心脏毒性方面具有很强的潜力。中药对化疗药物的增效减毒作用是现阶段肿瘤治疗研究的热点之一^[17]。相关研究表明, 中药的介入可明显减少化疗药物所致不良反应, 提高化疗有效率, 改善肿瘤患者的生存质量^[18]。目前以通关藤提取物制成的消癌平制剂在临床上广泛应用于多种肿瘤的辅助治疗。

本课题组前期对通关藤药材开展了大量基础研究, 包括种质资源^[19]、有效成分含量测定^[20]、指纹图谱、体外活性筛选等, 并且通过抑瘤活性筛选实验等研究, 确证通关藤总皂苷 (total saponin from *Marsdenia tenacissima*, MTTS) 为其活性成分, 也确定了 MTTS 的最佳提取工艺^[21], 研究发现 MTTS 在体外通过上调 *p53* 基因进一步上调 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax), 并且抑制 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 的表达, 引起级联反应来诱导 HepG2 细胞凋亡^[22-23]。前期实验基于信号转导因子和转录激活因子 3 (STAT3)/核因子- κ B (NF- κ B) 通路, 证实 MTTS 能够调节肿瘤免疫相关作用, 改善肿瘤炎症反应, 控制肿瘤的发展; 并且能够联合阳性药 DOX 更好地发挥其治疗肝癌的作用, 起到增效减毒、辅助治疗的作用。但是前期实验对于 MTTS 联合 DOX 增效减毒的具体机制研究不足, 本研究将 MTTS 与

DOX 进行配伍, 设置了 5 个不同剂量的 MTTs 与 DOX 联合用药, 与 DOX 药效进行对比, 明确不同剂量的 MTTs 和 DOX 组合的抗癌作用, 选择 MTTs 联合 DOX 最佳剂量, 旨在为二者协同使用抗肿瘤提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

SE402F 型奥豪斯电子天平 (奥豪斯仪器上海有限公司); KDC-2046 型低速冷冻离心机 (科大创新股份有限公司中佳分公司); 冷冻干燥仪 (北京四环冻干有限公司); 旋转蒸发仪 (上海亚荣仪器厂); 高效液相色谱仪 (德国赛默飞科技有限公司); 双光束紫外分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); HC-30B 型数控超声波清洗机 (山东济宁鲁超超声设备有限公司); KH-1 型电热恒温水浴锅 (北京科伟兴永仪器有限公司); KOM 型调温电热套 (山东华鲁电热仪器有限公司); SW-CJ-2D 型单面垂直净化工作台 (苏州智净净化工作台); Premovert 蔡司倒置显微镜 (德国 Carl Zeiss 公司); Cytomics BC500 贝克曼流式细胞仪 (美国贝克曼库尔特有限公司); -80 °C 冰箱 (Thermo Fisher 公司); Neofuge13R 高速冷冻离心机 (力康生物医疗科技控股有限公司)。

1.2 药材及主要试剂

通关藤饮片, 购于奕合隆药材有限公司, 经山西省中医药研究院中药方剂研究所倪艳教授鉴定为萝藦科牛奶菜属植物通关藤 *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn. 的干燥藤茎; DOX (质量分数 > 98.0%, 批号 25316-40-9, 美仑生物科技有限公司); 无水乙醇 (批号 20230502, 天津市北辰方正试剂厂); 甲醇 (批号 2311021, 色谱纯)、乙腈 (批号 B2208151, 色谱纯)、磷酸 (批号 20220619, 色谱纯), 均购自西陇科学有限公司; ZTC-1 大孔吸附树脂 (天津允开树脂科技有限公司); MCI-GEL 反相色谱填料 (成都科谱生物有限公司); RPMI 1640 培养基 (武汉塞威尔生物科技有限公司); 胎牛血清 (Cellma 公司, 批号 20200406); DMEM 培养基 (Gibco 公司, 批号 8122011); 胰蛋白酶 (Boster 公司, 批号 16A27C15); 流式抗体: APC-CD3 Monoclonal Antibody (批号 17-0032-82)、FITC-CD4 Monoclonal Antibody (批号 11-0041-82)、PE-CD8a Monoclonal Antibody (批号 12-0081-82)、FITC-CD3 Monoclonal Antibody (批号 11-0032-82)

均购自美国 e Bioscience 公司; APC anti-mouse CD19 (批号 115512)、PE anti-mouse CD20 (批号 150410) PE anti-mouse CD16/32 (批号 101308), 均购自 biolegend 公司; 白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-8 (IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) ELISA 试剂盒 (杭州联科生物有限公司, 批号分别为 A10610651、A28210810、A18210642)。

1.3 实验动物

SPF 级昆明种小鼠, 雄性, 体质量 18~20 g, 购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2019-0010。饲养条件: 饲养于山西省中医药研究院中药方剂研究所动物实验室, 温度 (25 $\pm$ 1) °C、湿度 (50 $\pm$ 2) %, 12 h 灯光暗亮交替, 动物自由进食饮水。本实验经过山西省中医药研究院动物伦理委员会批准, 审批编号 SZYLY2021KY-0321。

1.4 细胞

H22 肝癌细胞株, 购自中国科学院典型细胞培养库。

2 方法

2.1 MTTs 的制备^[24]

取通关藤饮片适量, 加 10 倍量的 70%乙醇浸泡过夜, 电热套加热冷凝回流提取 3 次, 每次 2 h, 滤去药渣, 滤液旋转蒸发减压浓缩, 回收乙醇, 真空冷冻干燥, 得通关藤粗提取物。取通关藤粗提物, 加相当于生药量 15 倍的纯化水溶解, 30 000 r·min⁻¹ 离心 30 min, 取上清液, 通过已经处理好的 ZTC-1 大孔吸附树脂柱, 依次用蒸馏水和 50%乙醇洗脱至无色, 弃去洗脱液, 再用 70%乙醇洗脱, 收集洗脱液, 减压浓缩至无醇味, 冷冻干燥, 即得通关藤粗皂苷。取通关藤粗皂苷, 以相当于浸膏粉质量的 10 倍量的 40%乙醇溶解, 通过已处理好的小粒径 MCI-GEL 反相色谱柱, 先用 40%乙醇洗至吸光度恒定, 弃去, 再以 80%乙醇洗脱, 收集洗脱液, 旋蒸减压浓缩至无醇味, 冷冻干燥, 即得 MTTs。

经紫外分光光度法及 HPLC 检测^[25-28], MTTs 中总皂苷的平均质量分数为 69.92%; 通关藤苷 A、通关藤苷元 B、牛奶菜苷 K、通关藤苷 G、异通关藤苷 A 的总质量分数为 55.67%。

2.2 H22 肝癌细胞的培养

将细胞冻存管从 -80 °C 冰箱中取出, 套上塑料袋, 放入 37 °C 的水浴中来回迅速振摇, 使细胞快速融化。在超净工作台中进行操作: 吸取冻存管中

溶解后的冻存液转移至 15 mL 的无菌离心管中, 加入 10 mL 含 10% 胎牛血清 (FBS) 的完全培养基稀释 (1:10), $800\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ($114\times\text{g}$) 离心 5 min, 弃掉上清液, 加入含 10% FBS 的完全培养基 5 mL, 移液枪吹悬细胞混匀, 注意避免气泡, 吸出细胞悬液接种到 T25 细胞培养瓶中, 若培养液不够, 则补足培养基。置于 5% CO_2 、37 °C 培养箱中培养。

2.3 肝癌荷瘤小鼠皮下瘤模型的建立^[29-32]

2.3.1 H22 腹水瘤模型的建立 将冻存的 H22 细胞株复苏, 传代、调整浓度为 1×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$, 每只 0.1 mL ip 给予昆明种小鼠进行扩增, 取生长状态良好的荷 H22 肝癌细胞株的腹水型小鼠, 饲养 7 d, 选取活动状态良好、腹部明显肿大的小鼠, 在无菌条件下, 将腹部皮肤常规消毒 (75% 乙醇棉球擦拭), 局部腹腔穿刺, 用无菌针管抽吸腹水, 若所抽吸的腹水为乳白色浓稠状则留存备用, 若所抽得腹水为黄色或血性则弃掉不用。

2.3.2 H22 皮下瘤模型的建立 将抽得的符合标准的腹水, 用 0.9% 氯化钠溶液稀释, 调整细胞浓度为 1×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$, 按照每只 0.1 mL, 将备好的 H22 肝癌细胞接种于每只小鼠左前肢腋窝皮下部位, 当接种后皮下鼓起一个小鼓包时, 认为接种成功。3 d 后, 若小鼠接种部位长出米粒大小结节, 则提示荷瘤成功。

2.4 动物分组与给药

将造模成功的荷瘤小鼠随机分为 7 组: 模型组、DOX ($1.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组、DOX ($1.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 隔天给药 1 次)+MTTS (分别设 31.25、62.50、125.00、250.00、500.00 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组, 每组 10 只, 另设对照组 10 只 (每只小鼠左前肢腋窝部位注射 0.9% 氯化钠注射液 0.1 mL)。DOX 给药组在肿瘤接种后次日给药, 每隔 1 天给药 1 次; DOX+MTTS 组 DOX、MTTS 轮流给药, 每天给 1 种药, ip 给药。对照组和模型组同法给予相同体积的 0.9% 氯化钠溶液。连续给药 14 d, 实验期间动物自由进食和饮水。

2.5 观测指标和检测方法

2.5.1 小鼠的一般行为观察 每天对不同组小鼠摄食量、饮水量、毛发光泽度、精神状态、行为活动等变化进行观察、记录、分析。

2.5.2 小鼠体质量观察 每隔 1 d 对小鼠称体质量, 并记录数据。

2.5.3 肿瘤生长曲线 每隔 1 d 用数字游标卡尺测量并计算实体肿瘤的体积, 绘制肿瘤生长曲线。

$$\text{肿瘤体积} = L_a \times L_b^2 / 2$$

L_a 和 L_b 分别代表最大直径和垂直 (最小) 直径

2.5.4 小鼠免疫器官指数 末次给药 24 h 后, 进行动物杀检, 小鼠摘眼球取血, 对肿瘤组织称质量、计算抑瘤率, 拍照。对小鼠胸腺和脾脏进行称质量并记录, 计算小鼠胸腺和脾脏指数。

抑瘤率 = (模型组平均瘤质量 - 给药组平均瘤质量) / 模型组平均瘤质量

脏器指数 = 脏器质量 / 体质量

2.5.5 血清中免疫细胞因子水平 将全血室温静置 0.5 h 后, 用低温离心机在 4 °C、3 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分离得到血清, 采用流式细胞术检测 CD4^+ T、 CD8^+ T 淋巴细胞亚群和 $\text{CD19}^+\text{CD20}^+$ B 淋巴细胞亚群以及 $\text{CD3}^+\text{CD16}^+$ NK 细胞亚群的百分率。

2.5.6 血清炎症因子水平 根据 ELISA 试剂盒说明书检测血清中 IL-6、IL-8、TNF- α 水平。

2.6 数据统计分析

所有数据均采用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示, 计数资料则以频数 (n) 或者率 (%) 表示。在统计分析之前, 先检验多组数据间的正态分布性和方差齐性, 然后进行单因素 ANOVA 分析, 若数据方差齐, 则多个实验组间两两比较采用 Bonferroni 检验。若数据方差不齐, 则多个实验组间两两比较采用 Tamhane's 检验。统计图均采用 GraphPadPrism9.0 软件绘制完成。

3 结果

3.1 小鼠一般行为观察

实验观察发现, 对照组小鼠各项生命特征正常, 毛色有光泽且整齐, 活动灵敏, 饮食、二便正常, 无异常活动。模型组生长状态最差, 且毛发枯槁, 没有光泽, 精神状态不佳, 活动减少, 饮食减少。除 DOX+MTTS ($500.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组外, 联合给药组随着 MTTS 剂量增大, 状态逐步变好, 活动以及精神状态良好。DOX+MTTS $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组小鼠毛发枯槁, 体质量与体积较其余各给药组都偏小, 形态瘦弱, 饮食不佳, 从第 7 天开始出现小鼠死亡情况, 通过后期实验研究猜测可能由于 MTTS 剂量过大, 导致 DOX 药物在体内蓄积过多, 小鼠死亡率过高, 故不考虑 MTTS $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 联合用药治疗。

3.2 小鼠体质量观察

如图 1 所示, 各组小鼠体质量均逐渐增长, 其中

模型组体质量增长最快,考虑与肿瘤质量增长较快有关,对照组体质量增长缓慢。与模型组相比,各给药组小鼠体质量增长缓慢,差异明显;与 DOX 组相比,MTTS 联合 DOX 给药组随着联合 MTTS 剂量的增加,小鼠体质量增长逐渐缓慢,其中 $250.00 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 联合组小鼠体质量增长缓慢明显。

3.3 肿瘤抑制作用

如图 2 所示,各组小鼠剥离肿瘤组织,在比例尺下进行拍照,可以观察到模型组肿瘤组织的直径最长,在 $3.5\sim 4.5 \text{ cm}$,体积最大;与模型组相比,各给药组肿瘤组织直径均减小,DOX 组肿瘤组织直径 $2.0\sim 2.5 \text{ cm}$;与 DOX 组相比,MTTS 联合 DOX 组中,不同联合剂量抑制肿瘤生长程度相比于 DOX 组有不同程度的增加,DOX+MTTS $31.25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组肿瘤组织直径 $1.8\sim 2.2 \text{ cm}$,DOX+MTTS $62.50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组肿瘤组织直径 $1.6\sim 2.0 \text{ cm}$;DOX+MTTS $125.00 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组肿瘤组织直径 $1.2\sim 1.6 \text{ cm}$;

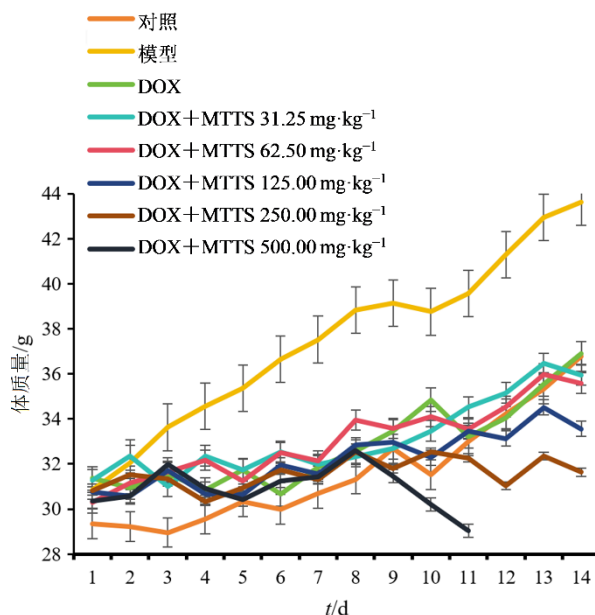


图 1 小鼠体质量变化图

Fig. 1 Mouse body weight change

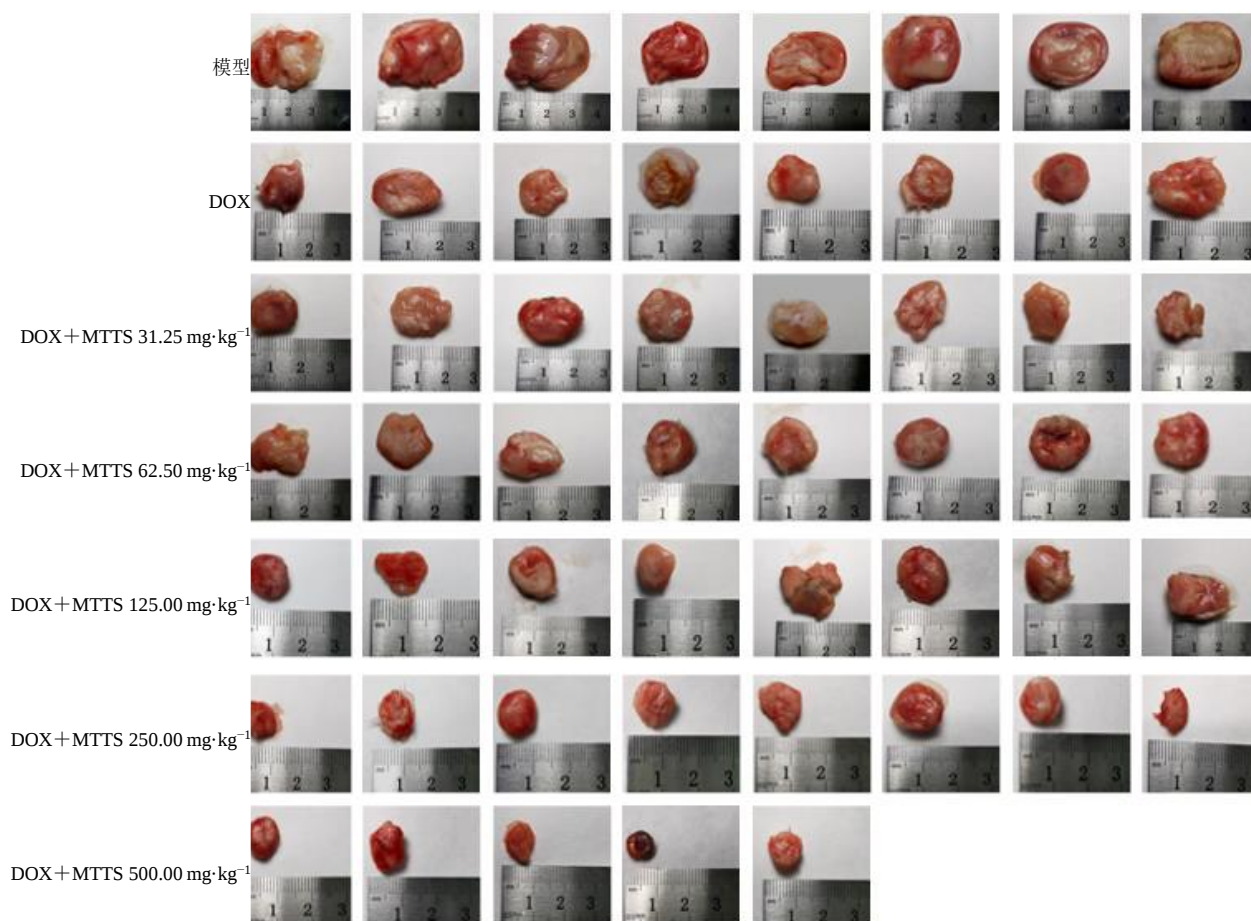


图 2 各组小鼠肿瘤图片

Fig. 2 Pictures of mouse tumors in each group

DOX+MTTS 250.00 mg·kg⁻¹ 组肿瘤组织直径 1.0~1.2 cm; DOX+MTTS 500.00 mg·kg⁻¹ 组肿瘤组织直径 0.8~1.0 cm; 表明 MTTS 联合 DOX 给药能够抑制肿瘤的生长, 随着 MTTS 剂量增加, 抑制肿瘤体积增长效果更加显著。

如图 3 所示, 模型构建成功后, 模型组的肿瘤体积快速增长; 与模型组相比, DOX 组和联合给药组肿瘤生长均出现明显抑制, 且联合给药组随着 MTTS 剂量的增加, 抑制作用呈现更加明显的趋势。

如图 4 所示, 与模型组比较, 各给药组小鼠肿瘤质量均明显下降 ($P<0.01$); 其中 DOX 组的抑瘤率为 69.68%, DOX+MTTS 31.25 mg·kg⁻¹ 组的抑瘤率为 71.43%, DOX+MTTS 62.50 mg·kg⁻¹ 组的抑瘤率为 75.95%, DOX+MTTS 125.00 mg·kg⁻¹ 组的抑瘤率为 79.15%, DOX+MTTS 250.00 mg·kg⁻¹ 组的抑瘤率为 83.38%, DOX+MTTS 500.00 mg·kg⁻¹ 组的抑瘤率为 87.90%, 联合用药组随着 MTTS 剂量的增加对肿瘤质量的抑制作用呈增强趋势。

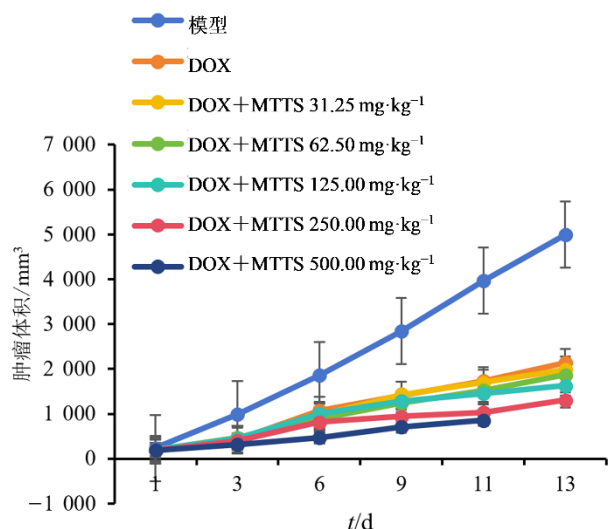
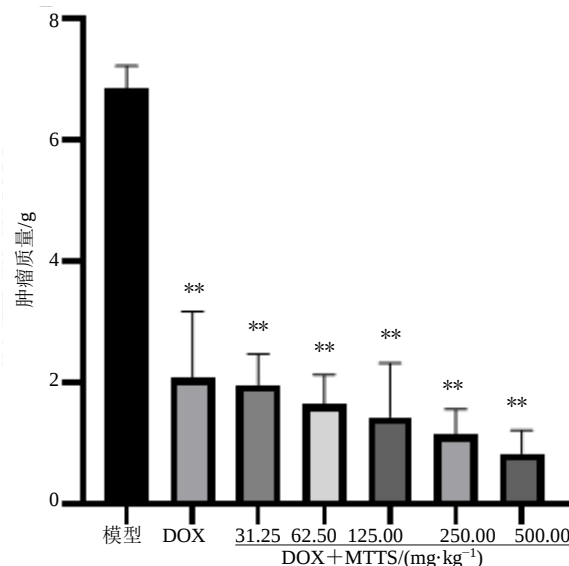


图 3 小鼠肿瘤体积变化

Fig. 3 Tumor volume changes in mice

3.4 小鼠免疫器官指数

如表 1 所示, 与对照组比较, 模型组胸腺指数及脾脏指数均显著下降 ($P<0.05$ 、 0.01); 与模型组相比, DOX 组胸腺指数及脾脏指数进一步降低 ($P<0.05$ 、 0.01); 与 DOX 组相比, DOX+MTTS 125.00 mg·kg⁻¹ 组、DOX+MTTS 250.00 mg·kg⁻¹ 组、DOX+MTTS 500.00 mg·kg⁻¹ 组胸腺指数及脾脏指数均显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01); DOX+MTTS 62.50 mg·kg⁻¹ 组脾脏指数显著升高 ($P<0.05$)。250.00 mg·kg⁻¹ 联合 DOX 给药组提高免疫器官指数



与模型组比较: ** $P<0.01$ 。

** $P<0.01$ vs model group.

图 4 小鼠肿瘤质量

Fig. 4 Tumor mass in mice

表 1 免疫器官指数 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Immune organ index ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	胸腺指数/ (mg·g ⁻¹)	脾脏指数/ (mg·g ⁻¹)
对照	—	0.15±0.01	0.36±0.07
模型	—	0.11±0.01*	0.25±0.07**
DOX	1.50	0.03±0.01#	0.17±0.08##
DOX+	1.50+31.25	0.04±0.01	0.19±0.03
MTTS	1.50+62.50	0.06±0.01	0.23±0.09 [△]
	1.50+125.00	0.09±0.01 [△]	0.27±0.07 ^{△△}
	1.50+250.00	0.12±0.02 ^{△△}	0.34±0.06 ^{△△}
	1.50+500.00	0.08±0.01 [△]	0.21±0.02 [△]

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$

$P<0.01$; 与 DOX 组比较: [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ 。

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group; [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ vs DOX group.

效果最佳, 500.00 mg·kg⁻¹ 联合给药组可能由于给药剂量过大, 造成体内代谢负担, 故小鼠免疫器官指数相比 250.00 mg·kg⁻¹ 联合组下降。结果表明 MTTS 联合 DOX 给药能够提高小鼠免疫器官指数。

3.5 流式细胞术检测 H22 荷瘤小鼠外周血 T、B 淋巴细胞以及 NK 亚群比例

3.5.1 流式细胞术检测 H22 荷瘤小鼠外周血 T 淋巴细胞比例 结果如图 5、表 2 所示, 与对照组比较, 模型组和 DOX 组 CD4⁺ T 淋巴细胞百分率显著降低 ($P<0.01$), CD8⁺ T 淋巴细胞百分率

显著升高 ($P<0.01$), $CD4^+/CD8^+$ 显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01), T 细胞变化趋势相似, 表明荷瘤小鼠的细胞免疫功能下降。与 DOX 组比较, DOX+MTTS $125.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组、DOX+MTTS $250.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组、DOX+MTTS $500.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组中 $CD4^+$ T 淋巴细胞百分率显著升高 ($P<0.01$), DOX+MTTS 各组 $CD8^+$ T 淋巴细胞百分率显著降低 ($P<0.01$), DOX+MTTS $125.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组、DOX+MTTS

$250.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组、DOX+MTTS $500.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组 $CD4^+/CD8^+$ 显著性升高 ($P<0.05$ 、 0.01), 表明 MTTS 能够改善荷瘤小鼠细胞免疫功能, MTTS 作为放疗化疗辅助治疗药, 能够很好地起到增效减毒的作用; 表明 MTTS 联合 DOX 能更好地发挥增强免疫功能的作用, 提高荷瘤小鼠机体细胞免疫功能及清除机体病毒的能力, 随着剂量的升高, 其效果更加显著, 具有剂量相关性。

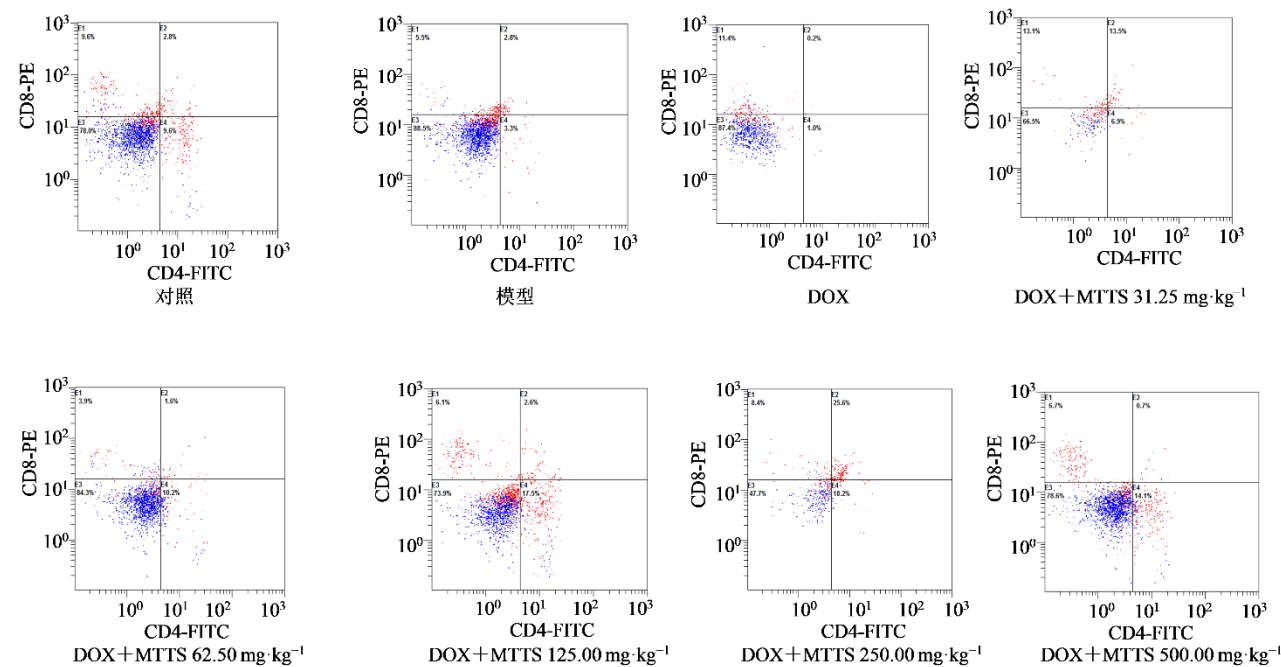


图 5 各组小鼠外周血 T 淋巴细胞比例流式图

Fig. 5 Flow diagram of proportion of T lymphocytes in peripheral blood of mice in each group

表 2 小鼠外周血 T 淋巴细胞比例 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Peripheral blood T lymphocyte ratio in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	$CD4^+/\%$	$CD8^+/\%$	$CD4^+/CD8^+$
对照	—	13.14 ± 1.39	7.06 ± 0.98	1.86 ± 0.11
模型	—	$4.04 \pm 1.02^{**}$	$18.50 \pm 1.59^{**}$	$0.21 \pm 0.06^{**}$
DOX	—	$6.30 \pm 1.03^{**}$	$15.54 \pm 1.11^{**}$	$0.41 \pm 0.10^*$
DOX+MTTS	$1.50+31.25$	$2.70 \pm 1.24^{\Delta\Delta}$	$6.13 \pm 1.67^{\Delta\Delta}$	0.44 ± 1.32
	$1.50+62.50$	$4.30 \pm 1.38^{\Delta}$	$7.16 \pm 1.43^{\Delta\Delta}$	0.60 ± 1.71
	$1.50+125.00$	$9.64 \pm 1.00^{\Delta\Delta}$	$9.60 \pm 0.30^{\Delta\Delta}$	$1.00 \pm 0.20^{\Delta}$
	$1.50+250.00$	$8.55 \pm 0.15^{\Delta\Delta}$	$4.30 \pm 1.09^{\Delta\Delta}$	$1.96 \pm 0.03^{\Delta\Delta}$
	$1.50+500.00$	$9.90 \pm 0.62^{\Delta\Delta}$	$5.01 \pm 1.01^{\Delta\Delta}$	$1.98 \pm 0.02^{\Delta\Delta}$

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与 DOX 组比较: Δ $P<0.05$ $\Delta\Delta$ $P<0.01$ 。

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; Δ $P<0.05$ $\Delta\Delta$ $P<0.01$ vs DOX group.

3.5.2 流式细胞术检测 H22 荷瘤小鼠外周血 B 淋巴细胞比例 结果如表 3 及图 6 所示, 与对照组相比, 模型组、DOX 组 CD19⁺CD20⁺ B 淋巴细胞百分率显著性降低 ($P<0.01$), 表明 H22 荷瘤小鼠免疫功能下降, 患癌小鼠的免疫功能受到了抑制。DOX 组 CD19⁺CD20⁺ B 淋巴细胞百分率较模型组有所回升 ($P<0.01$)。与 DOX 组相比, DOX+MTTS (62.50、125.00、250.00、500.00 mg·kg⁻¹) 组 CD19⁺CD20⁺ B 淋巴细胞百分率不同程度升高 ($P<0.01$), 表明各给药组均能不同程度改善荷瘤小鼠体液免疫功能。结果表明 MTTs 联合 DOX 能够增强荷瘤小鼠的免疫功能, 更好地发挥阳性药治疗肝癌的作用, 且随联合用药中 MTTs 剂量升高, 增强小鼠免疫功能效果更加显著。

3.5.3 流式细胞术检测 H22 荷瘤小鼠外周血 NK 细胞比例 结果如表 3 及图 7 所示, 在 NK 细胞比例

表 3 小鼠外周血 B 淋巴细胞、NK 细胞比例 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	CD19 ⁺ CD20 ⁺ /%	CD3 ⁺ CD16 ⁺ /%
对照	—	35.71 ± 5.63	24.81 ± 1.83
模型	—	11.30 ± 0.53**	6.97 ± 1.07**
DOX	1.50	20.94 ± 1.81***	11.05 ± 4.77***
DOX+	1.50+31.25	21.08 ± 2.35	11.17 ± 1.55
MTTS	1.50+62.50	25.89 ± 2.66 $\Delta\Delta$	12.67 ± 2.44
	1.50+125.00	26.24 ± 2.58 $\Delta\Delta$	13.93 ± 2.63
	1.50+250.00	27.39 ± 0.62 $\Delta\Delta$	14.13 ± 1.65
	1.50+500.00	28.67 ± 0.46 $\Delta\Delta$	17.92 ± 1.80 $\Delta\Delta$

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: *** $P<0.01$; 与 DOX 组比较: $\Delta\Delta$ $P<0.01$ 。

** $P<0.01$ vs control group; *** $P<0.01$ vs model group; $\Delta\Delta$ $P<0.01$ vs DOX group.

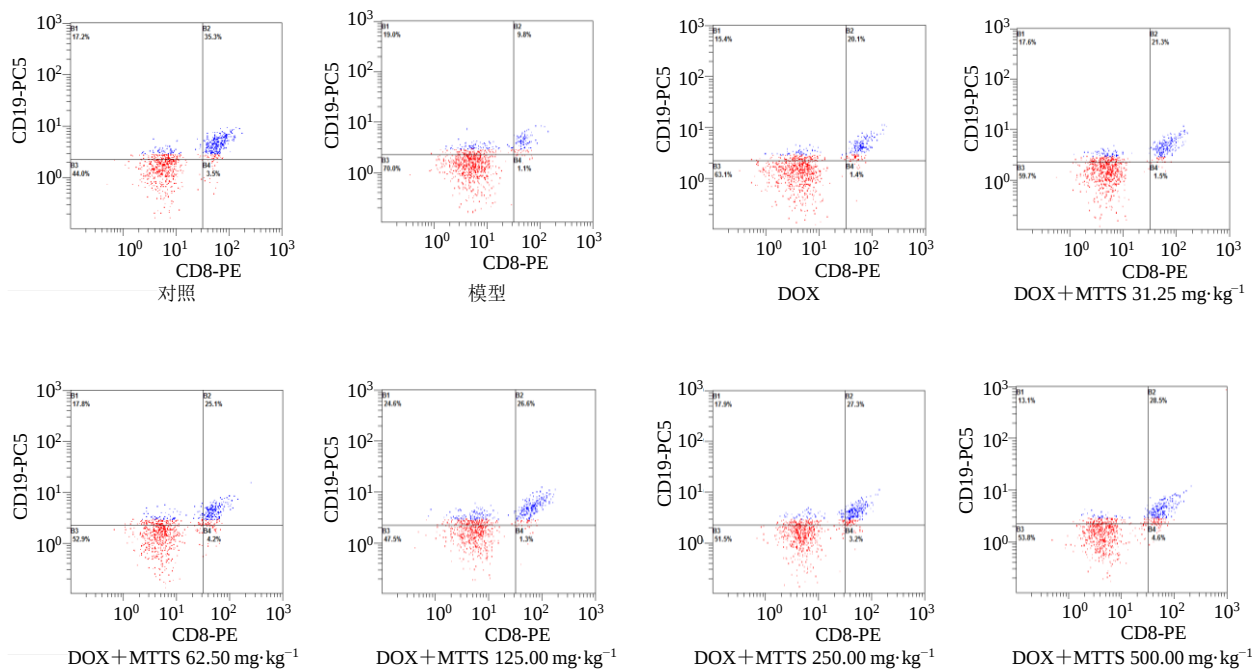


图 6 各组小鼠外周血 B 淋巴细胞比例流式图

Fig. 6 Flow pattern of peripheral B lymphocytes of mice in each group

中, 与对照组相比, 模型组、DOX 组 CD3⁺CD16⁺ 细胞百分率显著降低 ($P<0.01$), 表明荷瘤小鼠机体免疫功能受到了抑制。DOX 组 CD3⁺CD16⁺ 细胞百分率较模型组显著升高 ($P<0.01$)。与 DOX 组比较, 联合给药组 CD3⁺CD16⁺ 细胞百分率呈升高趋势, 其中 DOX+MTTS 500.00 mg·kg⁻¹ 组差异显著 ($P<0.01$), 表明联合给药能够更好地增强免疫功

能, 发挥治疗肝癌的作用, 且随剂量增加, 增强小鼠免疫功能效果更加显著。

3.6 ELISA 法检测 H22 荷瘤小鼠血清炎症因子 IL-6、IL-8、TNF- α 的变化

结果如图 8 所示, 与对照组比较, 模型组荷瘤小鼠的血清中炎症因子 IL-6、IL-8、TNF- α 水平显著升高 ($P<0.01$), 表明荷瘤小鼠体内炎症反应处

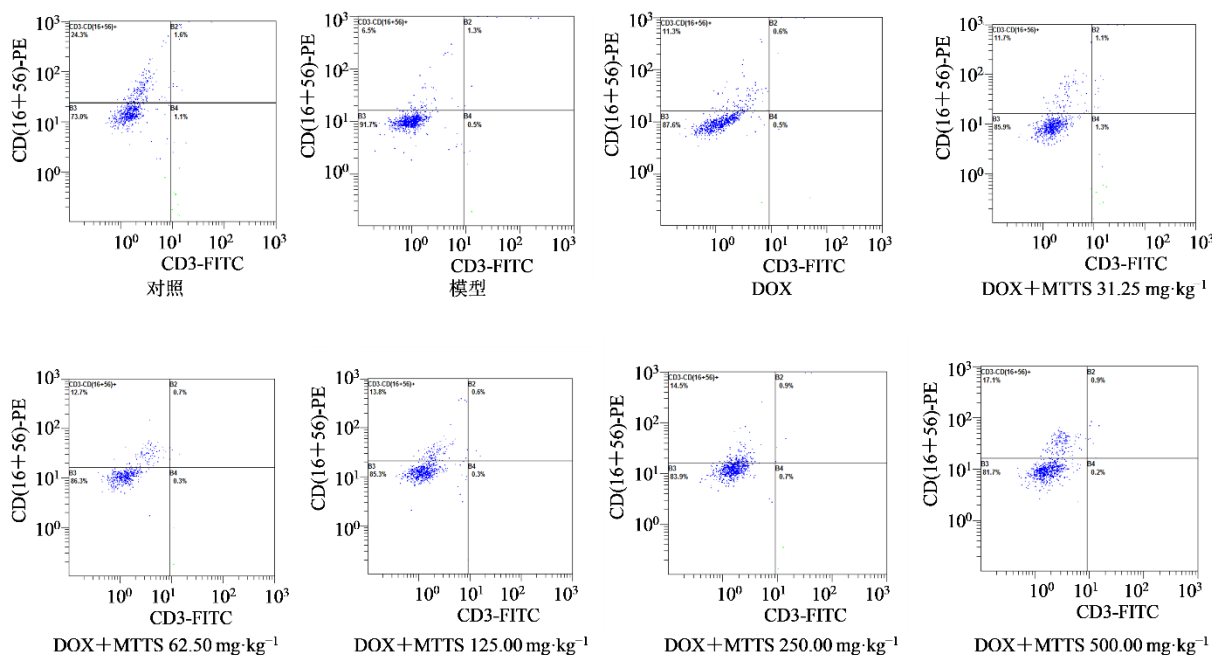
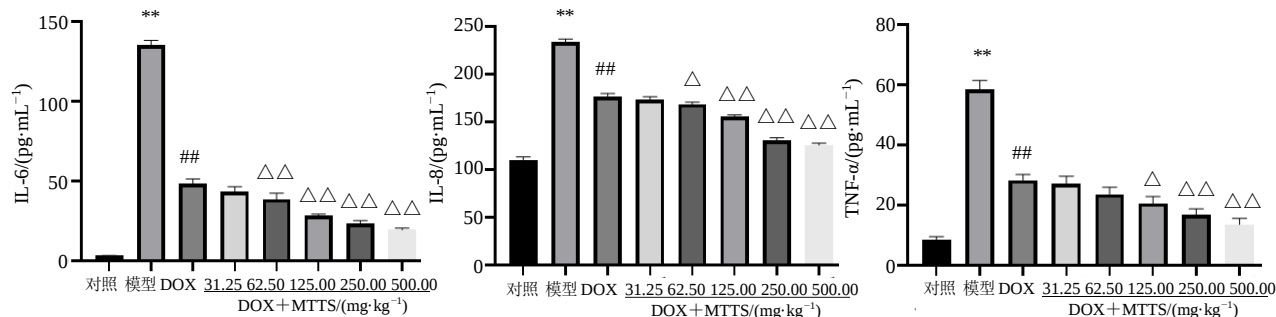


图 7 各组小鼠外周血 NK 细胞比例流式图

Fig. 7 Flow chart of proportion of NK cells in peripheral blood of mice in each group



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$; 与 DOX 组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs DOX group.

图 8 血清炎症因子水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Fig. 8 Serum inflammatory cytokine levels ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

于较高的水平。与模型组比较, DOX 组炎症因子 IL-6、IL-8、TNF- α 水平均显著下降 ($P < 0.01$)。与 DOX 组相比, DOX+MTTS (62.50、125.00、250.00、500.00 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组 IL-6 和 IL-8 水平, DOX+MTTS (125.00、250.00、500.00 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组 TNF- α 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01)。

4 讨论

本研究采用了课题组前期已申请专利的方法提取纯化制备 MTTs, 用通关藤 70% 醇提物浸膏粉, 制备成水溶液, 通过 ZTC-1 大孔树脂柱提取通关藤粗皂苷, 通过小粒径反相色谱柱纯化, 制备得到 MTTs 用于后续实验。

成功建立 H22 小鼠移植瘤模型, DOX 组与联合用药组小鼠状态均有不同程度的好转, 对肿瘤也有不同程度的抑制作用; 不同剂量 MTTs 联合用药能够明显改善 H22 荷瘤小鼠的一般精神、行为状态等行为学指标, 在控制肿瘤的生长方面, 随着 MTTs 剂量的增加, 对 H22 荷瘤小鼠的抑瘤率逐渐增大, 抑瘤效果逐渐明显, DOX+MTTS 500 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组小鼠出现不同程度的死亡, 根据后期研究推测, 可能因为药物在体内蓄积量过高无法代谢, 故排除 MTTs 500 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 联合给药; 在其余的量效关系联合给药组中, MTTs 250.00 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 联合组具有最明显的抑瘤效果。淋巴细胞水平能够很好地反映机

体免疫功能水平, 本实验分别检测了荷瘤小鼠外周血中 T、B 淋巴细胞及 NK 细胞的比例, 旨在探讨 MTTS 联合 DOX 对 H22 荷瘤小鼠细胞免疫和体液免疫功能的影响, 为 MTTS 联合辅助用药提供了理论依据。研究结果中, MTTS 联合 DOX 能够增加小鼠 T、B 淋巴细胞和 NK 百分率, 具体表现在能够增加 CD4⁺T 淋巴细胞亚群数量, 减少 CD8⁺T 淋巴细胞亚群数量, 能够升高 CD4⁺/CD8⁺, 以及能够升高 CD19⁺CD20⁺B 亚群、CD3⁺CD16⁺NK 细胞亚群的百分率。MTTS 联合 DOX 在增强 T 淋巴细胞免疫功能方面效果显著, 表明 MTTS 联合 DOX 能够更好地提高免疫功能, 发挥治疗肝癌的作用, 且随剂量增加提高免疫功能效果更显著。MTTS 能够明显降低荷瘤小鼠血清炎症因子 IL-6、IL-8、TNF- α 水平, 从而降低荷瘤小鼠体内肿瘤炎症水平。MTTS 联合 DOX 的治疗效果随着 MTTS 剂量增加, 降低 H22 荷瘤小鼠体内炎症水平更为突出。

MTTS 250.00 mg·kg⁻¹ 与 DOX 联合为最佳配伍剂量, 能更好地发挥 DOX 治疗肝癌的疗效, MTTS 能够起到降低 DOX 不良反应的效果, 起到辅助用药增效减毒的作用, 既发挥了 DOX 的临床疗效, 又凸显了 MTTS 常用于放疗化疗辅助治疗的优势, 为中药联合化疗药物抗肿瘤提供了理论支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods [J]. Int J Cancer, 2019, 144(8): 1941-1953.
- [3] Llovet J M, Kelley R K, Villanueva A, et al. Hepatocellular carcinoma [J]. Nat Rev Dis Primers, 2021, 7: 6.
- [4] Schreiber R D, Old L J, Smyth M J. Cancer immunoediting: Integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion [J]. Science, 2011, 331(6024): 1565-1570.
- [5] Sangro B, Sarobe P, Hervás-Stubbs S, et al. Advances in immunotherapy for hepatocellular carcinoma [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021, 18(8): 525-543.
- [6] Li Z M, Shao Z J, Qu D, et al. Transformation mechanism of rare ginsenosides in American ginseng by different processing methods and antitumour effects [J]. Front Nutr, 2022, 9: 833859.
- [7] Qi Z, Chen L X, Li Z, et al. Immunomodulatory effects of (24R)-pseudo-ginsenoside HQ and (24S)-pseudo-ginsenoside HQ on cyclophosphamide-induced immunosuppression and their anti-tumor effects study [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(4): 836.
- [8] 田旭, 王鹏, 詹妮, 等. 抗癌中草药有效成分的研究进展 [J]. 特产研究, 2010, 32(3): 73-76.
Tian X, Wang P, Zhan N, et al. Advances in studies on antitumor effective components of Chinese herbal medicines [J]. Spec Wild Econ Anim Plant Res, 2010, 32(3): 73-76.
- [9] 韩丽, 冷彩云, 李文华, 等. 通关藤提取物体内抗肿瘤作用研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(1): 51-55.
Han L, Leng C Y, Li W H, et al. Study on *in-vitro* and *in-vivo* antitumor activity of extracts from *Caulis Marsdeniae Tenacissimae* [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2017, 28(1): 51-55.
- [10] 张小帅, 杨柳青, 王晓艳, 等. 通关藤注射液逆转乳腺癌多柔比星耐药的作用机制 [J]. 中草药, 2024, 55(15): 5112-5124.
Zhang X S, Yang L Q, Wang X Y, et al. Mechanism of Tongguanteng Injection on reversing doxorubicin resistance in breast cancer [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(15): 5112-5124.
- [11] 李双凤, 黄家彦, 韩笑, 等. 通关藤抗肿瘤主要成分及作用机制研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(1): 187-197.
Li S F, Huang J Y, Han X, et al. Research progress in anti-tumor components and mechanism of *Marsdenia tenacissima* [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(1): 187-197.
- [12] 谢丽艳, 居文政, 周玲, 等. 通关藤及其制剂的药理作用和临床应用进展 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(6): 439-443.
Xie L Y, Ju W Z, Zhou L, et al. Advances in pharmacological effects and clinical application of *Marsdenia tenacissima* and its preparation [J]. Drugs Chin, 2011, 26(6): 439-443.
- [13] Huang Z R, Lin H, Wang Y, et al. Studies on the anti-angiogenic effect of *Marsdenia tenacissima* extract *in vitro* and *in vivo* [J]. Oncol Lett, 2013, 5(3): 917-922.
- [14] 张锐, 刘静, 刘阳晨, 等. 乌骨藤制剂诱导人肝癌细胞 Bel-7402 凋亡的实验研究 [J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(3): 488-491.
Zhang R, Liu J, Liu Y C, et al. Experimental study on effect of *Glaucouscent Fissistigma* root preparation on Bel-7402 cells apoptosis [J]. J Mod Oncol, 2013, 21(3): 488-491.
- [15] 李伟杰, 蔺春芳, 任元满, 等. 消癌平抗肝癌细胞体外生长的实验研究 [J]. 中国药物与临床, 2010, 10(2):

- 164-165.
- Li W J, Lin C F, Ren Y M, et al. Experimental study on anti-growth of hepatocellular carcinoma cells *in vitro* by Xiaoaiping [J]. Chin Remedies Clin, 2010, 10(2): 164-165.
- [16] 彭鹏, 程然, 赵逸超, 等. 通关藤对肝癌细胞的调节作用及相关机制 [J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(3): 627-629.
- Peng P, Cheng R, Zhao Y C, et al. Regulatory effect of *Caulis Clematidis* on hepatocellular carcinoma cells and its related mechanism [J]. Chin J Gerontol, 2020, 40(3): 627-629.
- [17] 李忱瑞, 许飞, 孙伟. 消癌平注射液联合肝动脉化疗栓塞治疗肝细胞癌的随机对照临床研究 [J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2015, 7(12): 84-87.
- Li C R, Xu F, Sun W. A randomized controlled clinical study of Xiaoaiping Injection combined with hepatic arterial chemoembolization in the treatment of hepatocellular carcinoma [J]. Chin J Front Med Sci Electron Version, 2015, 7(12): 84-87.
- [18] 王树庚, 冯亮飞, 李丹, 等. 消癌平注射液联合肝动脉化疗栓塞治疗肝细胞癌疗效观察 [J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26(33): 3731-3734.
- Wang S G, Feng L F, Li D, et al. Therapeutic effect of Xiaoaiping Injection combined with transcatheter arterial chemoembolization on hepatocellular carcinoma [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2017, 26(33): 3731-3734.
- [19] 黄争荣, 林锦培, 王泳, 等. 通关藤提取物对 HepG2 肝癌细胞增殖抑制的影响 [J]. 光明中医, 2021, 36(8): 1254-1256.
- Huang Z R, Lin J P, Wang Y, et al. Effect of *Marsdenia tenacissima* extract on the proliferation of HepG2 hepatocellular carcinoma cells [J]. Guangming J Chin Med, 2021, 36(8): 1254-1256.
- [20] Deng J, Huang M, Wu H. Protective effect of limonin against doxorubicin-induced cardiotoxicity via activating nuclear factor - like 2 and Sirtuin 2 signaling pathways [J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 7975-7984.
- [21] 王根. 斡旋针法治疗铂类药物导致的临床恶心呕吐的临床研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2016.
- Wang G. Clinical study on mediation acupuncture in the treatment of clinical nausea and vomiting caused by platinum drugs [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2016.
- [22] Shpata V, Prendushi X, Kreka M, et al. Malnutrition at the time of surgery affects negatively the clinical outcome of critically ill patients with gastrointestinal cancer [J]. Med Arch, 2014, 68(4): 263-267.
- [23] 肖冰. 复方苦参注射液对宫颈癌患者免疫功能及炎症反应的影响 [J]. 内蒙古中医药, 2019, 38(2): 91-92, 97.
- Xiao B. Effect of compound Kushen Injection on immune function and inflammatory reaction in patients with cervical cancer [J]. Nei Mongol J Tradit Chin Med, 2019, 38(2): 91-92, 97.
- [24] Cho C W, Han C J, Rhee Y K, et al. Cheonggukjang polysaccharides enhance immune activities and prevent cyclophosphamide-induced immunosuppression [J]. Int J Biol Macromol, 2015, 72: 519-525.
- [25] 林有东. 淋巴结转移阳性比率在胃癌患者术后氟尿嘧啶加顺铂化疗毒副反应中的关系 [J]. 海峡药学, 2015, 27(10): 164-165.
- Lin Y D. Relationship between the positive rate of lymph node metastasis and the side effects of chemotherapy with fluorouracil and cisplatin in patients with gastric adenocarcinoma after operation [J]. Strait Pharm J, 2015, 27(10): 164-165.
- [26] 李媛媛, 吉海杰, 贺石麟, 等. 通关藤总皂苷对人肝癌 HepG2 细胞增殖抑制作用的研究 [J]. 肿瘤研究与临床, 2019, 31(2): 73-77.
- Li Y Y, Ji H J, He S L, et al. Study on the inhibitory effect of total saponins from Mutong on the proliferation of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells [J]. Tumor Res Clin Pract, 2019, 31(2): 73-77.
- [27] 李媛媛, 贺石麟, 白崇智, 等. 通关藤总皂苷提取工艺及抗肿瘤活性研究 [J]. 山西中医学院学报, 2018, 19(5): 46-49, 55.
- Li Y Y, He S L, Bai C Z, et al. Extraction technology of total saponins from *Marsdenia Tenacissima* and its antineoplastic activity [J]. J Shanxi Univ Chin Med, 2018, 19(5): 46-49, 55.
- [28] 朱丽华, 乔振华, 何鑫, 等. 通关藤中总皂苷含量测定方法的研究 [A]// 第二届中药现代化新剂型新技术国际学术会议论文集 [C]. 天津, 2006: 477-480.
- Zhu L H, Qiao Z H, He X, et al. Research on the determination method of total saponin content in *Marsdenia tenacissima* [A]//Proceedings of the Second International Conference on Modernization, New Formulations and Technologies of Traditional Chinese Medicine [C]. Tianjin: Zhou Yawei, 2006: 477-480.
- [29] 姚庆, 陆兔林, 毛春芹, 等. 通关藤药材藤茎皮部和木部中总皂苷及苷 B 的含量测定 [J]. 安徽医药, 2010, 14(1): 36-38.
- Yao Q, Lu T L, Mao C Q, et al. Determination of total saponins and tenacissoside-B in bark and kibe of *Marsdenia tenacissima* [J]. Anhui Med Pharm J, 2010, 14(1): 36-38.
- [30] 张镓小, 张慧, 倪冲, 等. 不同产地通关藤中总皂苷的含量测定 [J]. 中国民族民间医药, 2011, 20(23): 86-87.
- Zhang J X, Zhang H, Ni C, et al. Determine of contents of steroidal glycosides in *Marsdenia tenacissima* from

- different habitats [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm, 2011, 20(23): 86-87.
- [31] Mastrangelo M. Cisplatin-based therapy and CINV: Optimal antiemetics during germ cell testicular cancer treatment [J]. Clin J Oncol Nurs, 2018, 22(2): E31-E36.
- [32] 唐紫云, 李敏瑞, 张成桂, 等. 人参皂苷 Rg₁ 联合阿霉素对 K562/ADR 细胞增殖及耐药的影响 [J]. 医学研究与教育, 2023, 40(1): 1-9.
- Tang Z Y, Li M R, Zhang C G, et al. Effect of ginsenoside Rg₁ combined with adriamycin on proliferation and drug resistance of K562/ADR cells [J]. Med Res Educ, 2023, 40(1): 1-9.
- [33] Zeng P J, Li J, Chen Y L, et al. The structure and biological functions of poly saccharides from traditional Chinese herbs [J]. Prog Mol Biol Translat Sci, 2019, 163(3): 423-444.
- [34] Li Y Z, Wang H Q, Wang R L, et al. Pharmacokinetics, tissue distribution and excretion of saponins after intravenous administration of Shen Mai Injection in rats [J]. J Chromatography B, 2019, 1128: 121777.
- [35] Li Y, Hao H, Yu H Z, et al. Ginsenoside Rg₂ ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury by regulating TAK1 to inhibit necroptosis [J]. Front Cardio Med, 2022, 9: 824657.

[责任编辑 兰新新]