

## 蒿甲醚对大鼠原位脑胶质瘤抑瘤及抗血管生成的实验研究

伍治平<sup>1)</sup>, 朱启顺<sup>2)</sup>, 魏万里<sup>1)</sup>, 黄洁<sup>1)</sup>, 沈红梅<sup>1)</sup>, 童书云<sup>3)</sup>

(1) 昆明医学院第三附属医院肿瘤研究所, 云南昆明 650118; 2) 云南大学生命科学院, 云南昆明 650091; 3) 昆明医学院第二附属医院内分泌科, 云南昆明 650031)

**[摘要]** **目的** 探讨蒿甲醚是否在选择性地杀伤 SD 大鼠原位脑胶质瘤的同时还具有抑制血管生成的作用。**方法** 采用四甲基偶氮唑蓝 (MTT) 法测定不同浓度蒿甲醚对大鼠 C6 脑胶质瘤细胞株的生长抑制作用, 计算半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>); 采用立体定位仪在 48 只 SD 大鼠大脑皮质层接种 C6 脑胶质瘤细胞 (1 × 10<sup>6</sup> 个/μL), 雌、雄各半; 随机分为 3 组, 每组 8 只。分别为空白对照组、阳性对照和实验组。在接种第 3 天后, 实验组各组采用灌胃给药法连续给药 10 d; 于接种后的第 20 天解剖大鼠, 经活体左心室灌注 4% 多聚甲醛, 固定肿瘤的全脑标本。在大鼠脑部接种穿刺点做冠状切口, 按垂直和水平方向测量肿瘤大小。肿瘤体积 = a<sup>2</sup>bπ/6 (a 为肿瘤的短径, b 为肿瘤的长径)。采用免疫组化方法检测移植瘤组织微血管密度。**结果** 实验组各组对 SD 大鼠原位脑胶质瘤的抑瘤率分别为: 54.5%、61.0%、64.5% 和 69.8%, 与空白对照组比较, 差异有统计学意义 (P < 0.01); 各实验组血管计数均明显少于空白对照组, 差异有统计学意义 (P < 0.05、P < 0.01)。各实验组 SD 大鼠原位脑胶质瘤体积较空白对照组显著减小。**结论** 在一定剂量范围内, 口服蒿甲醚对 SD 大鼠脑部原位接种 C6 脑胶质瘤有明显的抑制作用; 蒿甲醚抑制原位脑胶质瘤生长的机制之一可能是透过血脑屏障抑制脑胶质瘤血管生成。

**[关键词]** 蒿甲醚; SD 大鼠 C6 脑胶质瘤细胞; 原位脑胶质瘤; 动物模型; 抑瘤及抗血管生成

**[中图分类号]** R73 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2012) 04 - 0016 - 06

## Study on Inhibitory Effects of Artemether on Brain Glioma Growth and Angiogenesis in SD Rats

WU Zhi - ping<sup>1)</sup>, ZHU Qi - shun<sup>2)</sup>, WEI Wan - li<sup>1)</sup>, HUAN Jie<sup>1)</sup>, SHEN Hong - mei<sup>1)</sup>, TONG Shu - yun<sup>3)</sup>

(1) Cancer Institute, The 3rd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650118; 2) School of Life Science, Yunnan University, Kunming Yunnan 650091; 3) Dept. of Endocrine, The 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650031, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the inhibitory effect of artemether (Artem) on glioma growth and angiogenesis in brain tumor bearing SD rats. **Methods** MTT (Methy thiazolyl tetrazolium) assay was used to evaluate the inhibitory effect of Artemether treatment on C6 glioma cells. 48 (24 male and 24 female) SD rats which were subcutaneous planted with SD rat C6 glioma cell (1 × 10<sup>6</sup>/μL) in cerebral cortex were divided randomly into 3 groups, each group had 8 rats. Blank control group: rats were orally given normal saline. Positive control group: rats were orally given Lomustine. Different artemether therapy groups: rats were given different doses of artemether. Treatment started on day 3 and continued until day 10 and SD rats were killed on day 20. Whole brain was fixed with 4% paraformaldehyde through alive left ventricle perfusion. The length-path and short-path of tumor each rat was measured by staff gauge in vertical and horizontal. Volume of tumor was calculated following formula: V (mm<sup>3</sup>) = a<sup>2</sup>bπ/6 (a: short-path, b: length-path). Micro-vascular dense (MVD) was observed and countered under the microscopy by immunohistochemistry. **Results** Inhibitory rates of Artemether at different dosages

**[基金项目]** 云南省科技厅 - 昆明医学院联合基金资助项目 (2009CD185)

**[作者简介]** 伍治平 (1957 ~), 男, 云南昆明市人, 医学学士, 研究员, 主要从事中药抗癌药物研究工作。

were 54.5%, 61.0%, 64.5% and 69.8%, respectively, and compared with blank control group, different experiment groups had significant difference ( $P=0.000$  respectively). Micro-vascular dense in different therapy groups was significant lower than that in blank control group ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$  respectively) and volume of brain glioma in different therapy groups was significant smaller than that in blank control group. **Conclusions** Artemether has inhibitory effect on brain glioma growth in SD rats. The mechanism of Artemether inhibiting brain glioma growth may be penetrating the blood-brain barrier by inhibiting angiogenesis.

**[Key words]** Artemether; SD rat C6 glioma cell line; Brain glioma; Animal model; Inhibition of glioma growth and angiogenesis

中药青蒿 (Qi-hao) 属菊科植物, 青蒿素是青蒿叶分离的抗疟有效成分, 具有倍半萜内酯, 是我国首先发现的具有新构型的抗疟药, 体内代谢活性产物为双氢青蒿素, 抗疟活性高, 毒性小. 蒿甲醚 (Artemether) 为青蒿素的脂溶性衍生物, 临床用于治疗恶性疟和脑型疟有显著疗效. 近年的研究发现, 青蒿素及其衍生物除了具有明确的抗肿瘤作用, 可选择性地杀伤肿瘤细胞而对正常组织细胞的毒性较小, 与传统化疗药物不存在交叉耐药<sup>[1]</sup>外, 还具有确切的抗肿瘤血管生成的作用<sup>[2]</sup>. 目前, 大多数恶性脑肿瘤化疗效果并不理想, 其原因除了化疗药物耐药及毒副作用外, 还与血脑屏障限制药物进入中枢神经系统有关. 本研究根据青蒿素及其衍生物所具有的抗肿瘤和抑制肿瘤血管生成作用, 及其能透过血脑屏障进入脑组织的药代动力学特性, 探讨蒿甲醚是否在选择性地杀伤 SD 大鼠原位脑胶质瘤的同时还具有抑制血管生成的作用.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 动物** SD 大鼠 48 只, 6~8 周龄, 体重 200~250 g, 昆明医学院实验动物中心提供, (合格证号: SCXK 滇 P0005-0008).

**1.1.2 药物** 蒿甲醚 (昆明制药集团股份有限公司, 50 mg, 批号:05106702); 复方硫酸亚铁 (河南福森药业有限公司, 50 mg, 批号: 061103); 洛莫司汀 (南京制药厂有限公司, 40 mg, 批号: 20070501).

**1.1.3 细胞株** SD 大鼠 C6 脑胶质瘤细胞株, 购自中国科学院昆明动物研究所, 保存于液氮.

**1.1.4 试剂** 胎牛血清购自中国医学科学生物工程有限公司; RPMI 1640 购自 GIBCO 公司; 抗鼠

CD31 因子单克隆抗体购自 ABCAM 公司; UltraSensitive™ S-P (Mouse) 超敏 SP (鼠) 试剂盒购自福建迈新公司; DMSO 购自 SIGMA 公司; MTT 购自 SIGMA 公司.

**1.1.5 主要仪器** 一次性细胞培养瓶和细胞培养板 (GIBCO 公司), 二氧化碳培养箱、生物安全柜 (Forma 公司), 显微镜 (Leica 公司), 大鼠饲养 IVC 系统 (苏州苏杭实验动物设备厂), 脑立体定位仪 (深圳市瑞沃德生命科技有限公司), 高速低温离心机 (Heraeus 公司), Bio-Rad550 型酶标仪 (Bio-Rad 公司), 25  $\mu$ L 微量注射器 (北京北方伟业发展有限公司).

### 1.2 方法

**1.2.1 MTT 比色法** 检测蒿甲醚对 C6 细胞的抑制率, 液氮罐复苏并且培养大鼠脑胶质瘤细胞株 C6 细胞; 取对数生长期的细胞株, 用 0.25% 胰蛋白酶消化汇合的单层细胞, 将细胞收集到 10% FBS RPMI -1640 培养基中; 离心细胞悬液, 使细胞沉积, 用培养基重悬细胞, 计数. 调整细胞浓度为  $1 \times 10^5$  mL; 分组: 每组设 5 个平行孔, 其中空白对照组只加培养基; 阴性对照组为培养细胞, 不加药. 蒿甲醚浓度梯度为 200  $\mu$ g/mL、100  $\mu$ g/mL、50  $\mu$ g/mL、25  $\mu$ g/mL、12.5  $\mu$ g/mL、6.25  $\mu$ g/mL、3.125  $\mu$ g/mL; 96 孔板各孔中加入 200  $\mu$ L 细胞悬液 (空白对照组除外), 每孔加  $2 \times 10^4$  个细胞, 培养 24 h; 离心弃去培养基, 分别加入不同浓度的蒿甲醚, 并且设阴性对照和空白对照, 分别作用 24 h、48 h、72 h; 每孔加入 5 mg/mL 的 MTT 20  $\mu$ L, 继续培养 4 h; 各孔加入 DMSO 150  $\mu$ L 溶解甲瓚, 震荡 10 min 后酶标仪测定 OD 值, 测定波长为 570 nm, 参考波长为 655 nm; 计算抑制率, 求出 IC<sub>50</sub> 值, 比较不同浓度及作用时间蒿甲醚对 C6 细胞的抑制率:

$$\text{抑制率} = \frac{[(\text{阴性对照组 A 值} - \text{空白对照组 A 值}) - (\text{实验组 A 值} - \text{空白对照组 A 值})]}{\text{阴性对照组 A 值} - \text{空白对照组 A 值}}$$

**1.2.2 SD 大鼠模型的建立** 复苏 C6 脑胶质瘤细胞株, 用含 10% 标准小牛血清的 RPMI 1640 全培养基常规传代培养. 将对数生长期的细胞调整为适宜浓度  $1 \times 10^6 \mu\text{L}$ . 取体重在 200 ~ 250 g 的 SD 大鼠, 10% 戊巴比妥那注射麻醉 (0.3 mL/100 g) 将麻醉后的大鼠头部固定在脑立体定向仪上, 常规备皮, 消毒, 铺巾; 内眦连线与头部正中矢状面交点向后纵向切开头皮约 1 cm, 分离暴露颅骨; 以牙科电钻 (转速 2 000 r/min) 在颅骨上钻一小孔, 注射位点为冠状缝前 1 mm, 中线右旁开 3 mm, 深 5 mm; 20  $\mu\text{L}$  微量注射器抽取 C6 细胞悬液 15  $\mu\text{L}$  ( $1 \times 10^6$  个), 注射完毕后留针 3 ~ 5 min, 缓慢拔针. 骨孔用明胶海绵填充后, 骨蜡封闭; 生理盐水冲洗手术野, 缝合切口后消毒皮肤.

$$\text{抑瘤率} = \frac{\text{对照组肿瘤平均体积} - \text{实验组肿瘤平均体积}}{\text{对照组肿瘤平均体积}} \times 100\%$$

**1.2.4 HE 染色和免疫组化** 上述肿瘤组织标本经常规处理后制成 5  $\mu\text{m}$  厚石蜡切片, HE 染色, 常规光镜检查; LSAB 免疫组化, 采用鼠抗鼠 CD31 因子单克隆抗体为一抗, DBA 显色, 苏木素复染, 以 PBS 代替一抗作阴性对照, 检测肿瘤标本中血管生成的情况. 按照 Weidner 等<sup>[9]</sup>提出的鉴别肿瘤微血管方法, 在低倍镜下选取血管密度高的区域, 再在 400 倍镜下计数血管, 以能通过 1 个红细胞的小血管或单个内皮细胞算做一根微血管. 计算每切片中 5 个血管生成热区血管数的平均值作为微血管数目.

### 1.3 统计学方法

计量资料用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用统计学分析软件 SPSS 对各组微血管密度值进行统计学分析, 比较各组之间有无统计学差异; 肿瘤体积按方差分析进行分析, 比较组与组之间有无统计学差异.  $P < 0.05$  为差异有统计学意义.

## 2 结果

### 2.1 MTT 法检测蒿甲醚处理后 C6 细胞的抑制率

经 200  $\mu\text{g/mL}$ 、100  $\mu\text{g/mL}$ 、50  $\mu\text{g/mL}$ 、25  $\mu\text{g/mL}$ 、12.5  $\mu\text{g/mL}$ 、6.25  $\mu\text{g/mL}$ 、3.125  $\mu\text{g/mL}$  的蒿甲醚处理 24 h、48 h、72 h 后, C6 细胞生长均受到不同程度的抑制, 抑制率随药物浓度和作用时间的增加而增大, 重复测量的方差分析结果显示, 不同浓度各组之间以及同一浓度不同时间各组之间均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 见表 1.

### 2.2 不同剂量蒿甲醚的抑瘤率

**1.2.3 动物分组及给药** 将 48 只脑皮质层接种了 C6 脑胶质瘤的 SD 大鼠随机分成 6 组, 每组 8 只: I 组, 对照组, 生理盐水 0.4 mL/(20 g·d); II 组, 阳性对照组 洛莫司汀 2 mg/(kg·d); III 组, 蒿甲醚 33.3 mg/(kg·d); IV 组, 蒿甲醚 50.0 mg/(kg·d); V 组, 蒿甲醚 66.6 mg/(kg·d); VI 组, 蒿甲醚 50.0 mg/(kg·d) + 硫酸亚铁 1.5 mg/(kg·d). 在接种第 3 天后, 各组采用灌胃给药法连续给药 10 d. 于接种后的第 20 天解剖大鼠, 经活体左心室灌注 4% 多聚甲醛, 固定肿瘤的全脑标本. 大鼠的表面接种穿刺点做冠状切口, 按垂直和水平方向测量肿瘤大小. 肿瘤体积 =  $a^2b\pi/6$  ( $a$  为肿瘤的短径,  $b$  为肿瘤的长径). 肿瘤组织做病理检查. 抑瘤率按如下公式:

口服不同剂量蒿甲醚对 SD 大鼠脑皮质层接种 C6 脑胶质瘤的抑瘤率分别为: 54.5%、61.0%、64.5% 和 69.8%. 各实验组与生理盐水组比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ ); 各实验组间比较, 除 III 组与 VI 组具有统计学差异 ( $P < 0.05$ ) 外, 其余各组均无统计学差异 ( $P > 0.05$ ), 见表 2.

### 2.3 血管计数

各实验组血管计数分别为 I 组 ( $39 \pm 4$ ), II 组  $29 \pm 6$ , III 组  $12 \pm 8$ , IV 组  $10 \pm 5$ , 生理盐水组为  $52 \pm 7$ . 各实验组血管计数均明显少于生理盐水对照组, 差异有统计学意义 (分别  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 见图 1.

## 3 讨论

一种低毒、廉价、既能选择性地、持续有效地抑制肿瘤细胞生长、又能干预肿瘤生长环境 (如: 干预血管生成) 的药物成为目前治疗癌症的新型药物, 这类药物的优点表现为: 毒副作用低, 治疗费用低廉, 能够长期使用, 达到肿瘤与宿主长期共存的目的, 从而使癌症患者的生命延缓, 生活质量提高. 青蒿素及其衍生物即为这一类药物的代表性药物.

研究发现, 青蒿素及其衍生物的抗肿瘤机制与其抗疟机制有许多共同之处. 抗疟机制中, 青蒿素类化合物活泼的过氧化基团与疟原虫中血红素的亚铁离子起反应产生自由基, 自由基作用于疟蛋白, 形成共价复合物, 使疟蛋白失活从而产生抗疟活性. 目前认为青蒿素及其衍生物抗癌效应的始发机

表1 MTT法检测蒿甲醚处理后C6细胞的抑制率 [%,( $\bar{x} \pm s$ )]Tab. 1 The inhibition rate of C6 cells after treatment with artemether by MTT method [%,( $\bar{x} \pm s$ )]

浓度 / 时间 ( $\mu\text{g/mL}$ )	24 h	48 h	72 h
200	89.34 $\pm$ 1.37	91.89 $\pm$ 1.76	92.27 $\pm$ 1.74
100	78.94 $\pm$ 2.23	83.61 $\pm$ 1.37	83.21 $\pm$ 1.76
50	49.32 $\pm$ 1.46	53.97 $\pm$ 1.21	60.21 $\pm$ 1.81
25	33.10 $\pm$ 1.45	31.78 $\pm$ 1.03	42.53 $\pm$ 1.91
12.5	21.74 $\pm$ 3.86	32.57 $\pm$ 2.48	37.26 $\pm$ 1.50
6.25	9.99 $\pm$ 1.40	15.96 $\pm$ 1.03	24.53 $\pm$ 1.71
3.125	3.20 $\pm$ 1.13	5.09 $\pm$ 1.10	11.50 $\pm$ 1.11

表2 口服不同剂量蒿甲醚对SD大鼠原位C6脑胶质瘤的抑瘤率, 瘤体积变化情况 ( $\bar{x} \pm s$ )Tab. 2 The inhibition rate and the size of C6 glioma in SD rats after treatment with different doses of artemether ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 mg/ (kg.d)	n	时间 (d)	体积 ( $\text{mm}^3$ )	抑瘤率 (%)
I	生理盐水	8	10	176.74 $\pm$ 39.577	
II	洛莫司汀 2	8			
蒿甲醚					
III	33.3	8	10	80.44 $\pm$ 7.866	54.5
IV	50.0	8	10	68.86 $\pm$ 12.987*	61.0
V	66.6	8	10	62.71 $\pm$ 12.648**	64.5
VI	50.0+1.5	8	10	55.41 $\pm$ 6.360**	69.8

与生理盐水空白对照组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .

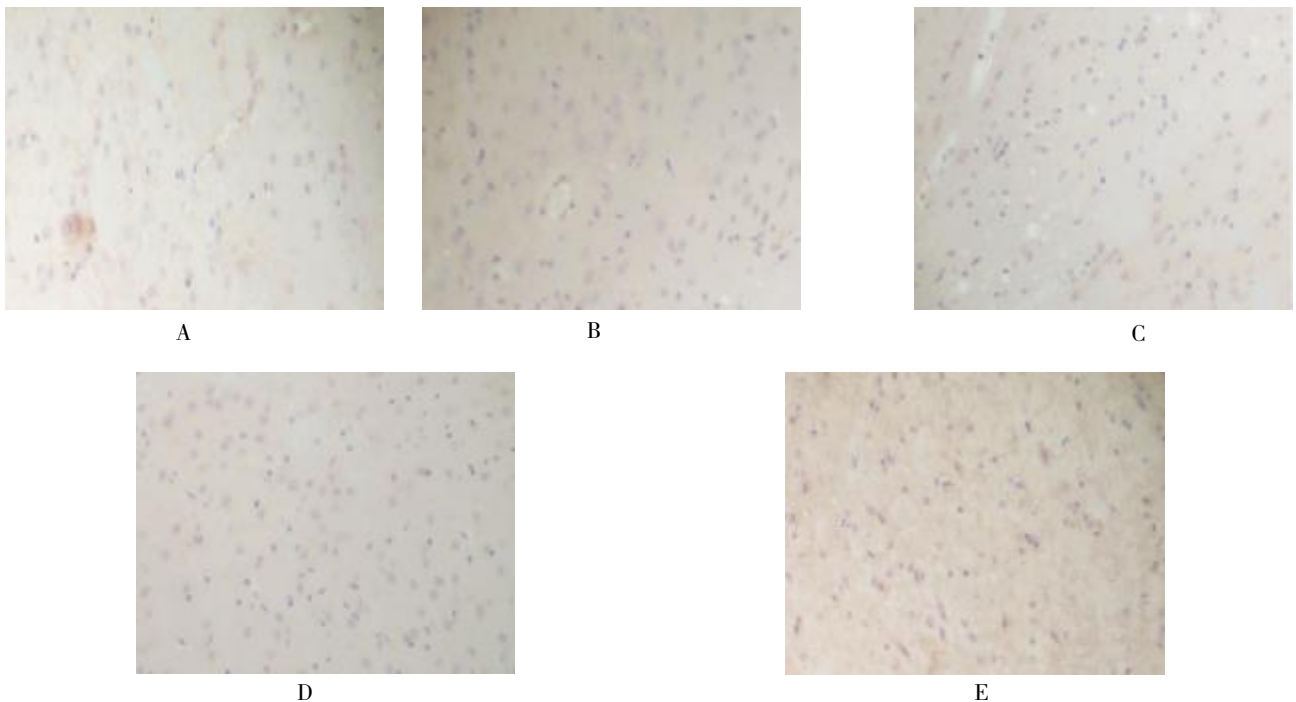


图1 口服蒿甲醚抑制SD大鼠原位C6胶质瘤血管生成

Fig. 1 Inhibitory effect to C6 brain glioma angiogenesis by oral Artemether

A: I组 (C6胶质瘤, 免疫组化, CD31,  $\times 400$ ); B: II组 (C6胶质瘤, 免疫组化, CD31,  $\times 400$ ); C: III组 (C6胶质瘤, 免疫组化, CD31,  $\times 400$ ); D: IV组 (C6胶质瘤, 免疫组化, CD31,  $\times 400$ ); E: V组 (C6胶质瘤, 免疫组化, CD31,  $\times 400$ ).

制与肿瘤细胞铁代谢旺盛的特点有关。所有增殖态的细胞都需要摄入铁，铁摄入越多，其增殖就愈快。由于肿瘤细胞比正常细胞吸收更多的铁离子，在有转铁蛋白存在的情况下或给予硫酸亚铁，青蒿素分子内的过氧化基团与亚铁离子起反应产生自由基或亲电子中间产物，攻击细胞膜或细胞内其他膜性结构，或直接氧化损伤蛋白质分子或生命大分子（这些蛋白质对肿瘤细胞的过度增殖起关键作用），导致细胞死亡。这样可选择性杀伤癌细胞而对正常细胞损伤较小<sup>[4,5]</sup>。由于青蒿素及其衍生物不溶于水，对血浆和组织蛋白有较强的结合力，使药物迅速向全身各组织转运并清除。因此，青蒿素及其衍生物在选择性地杀伤肿瘤细胞的过程中具有高效、速效、低毒、不易产生耐受等优点。

血管生成是肿瘤生长和转移的前提和基础，通常情况下，没有血管生成的恶性肿瘤往往生长缓慢。原发肿瘤其直径多为 1~2 mm，细胞数局限于  $10^6$  个，病变长期处于静止状态，仅能局部浸润，尚不能发生转移<sup>[6]</sup>。当肿瘤继续生长，其直径大于 2 mm，微血管逐渐形成。肿瘤内的新生毛细血管网是在周边组织原有血管的基础上向肿瘤组织内延伸、扩展而形成的。这些血管一方面为肿瘤细胞提供营养物质，排泄代谢产物；另一方面也为肿瘤细胞侵袭进入血液循环系统向远处转移提供了机会。因此，血管生成是肿瘤转移连锁过程开始的关键环节。肿瘤的血管生成过程通常包括：血管扩张，通透性增加，内皮细胞增殖和迁移，管腔的形成等步骤，其中内皮细胞的增殖、迁移、管腔形成在血管生成过程中起关键作用。因此，抗血管生成的较好靶点是内皮细胞，通过抑制血管内皮细胞的增殖、迁移、管腔形成 3 个环节能有效地抑制血管生成，而抑制了血管生成，就能够有效地抑制肿瘤的增殖、浸润和转移。

本项研究结果显示：口服蒿甲醚对 SD 大鼠脑部原位接种 C6 脑胶质瘤有明显的抑制作用。蒿甲醚作为治疗恶性疟和脑型疟具有显著疗效，已广泛应用于临床，证明该药能够透过血脑屏障而达到治疗脑型疟疾的目的。根据青蒿素及其衍生物可选择性地杀伤肿瘤细胞而对正常组织细胞的毒性较小，以及能透过血脑屏障（blood-brain barrier）进入脑组的药代动力学等特性，笔者选择蒿甲醚作为治疗 SD 大鼠脑部原位脑胶质瘤的药物，结果表明，口服蒿甲醚对 SD 大鼠脑部原位接种 C6 脑胶质瘤有明显的抑制作用。在体内经转化代谢所产生的氧自由基可能是蒿甲醚的主要抗癌功效之一。之所以采用口服，其意义在于口服药物往往作用时间

长，经消化道作用吸收分解，再经肝脏转化后，产生出更多的活性自由基和相关代谢产物及其相应的酶类而呈现对 C6 脑胶质瘤细胞生长的抑制作用。

本项研究结果还显示：蒿甲醚与铁剂合用具有协同抑瘤作用，增加抑瘤率，其增加抑瘤率的机理可能与上述的杀瘤机制有关。已知铁为机体所必需的微量元素，缺铁可能是产生或加强人体免疫缺损状态的一个因素，严重缺铁可促使癌的发生。因此，肿瘤细胞将比正常细胞吸收更多的铁离子，致使癌细胞更易受到青蒿素及其衍生物类药物的攻击。

本研究表明：在一定的剂量范围内，蒿甲醚能使 SD 大鼠脑部原位接种 C6 脑胶质瘤的生长减缓，瘤体积减小，微血管生成数量减少。蒿甲醚抑制 SD 大鼠脑部原位脑胶质瘤血管生成的机理有可能是蒿甲醚抑制了血管内皮细胞的增殖、迁移等起始步骤<sup>[7,8]</sup>；亦有可能是蒿甲醚通过下调原位脑胶质瘤血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）的表达<sup>[9]</sup>。但蒿甲醚抑制新生血管生成作用是否还包括其他的机制，尚需要进一步深入研究。

综上所述，在一定剂量范围内，口服蒿甲醚对 SD 大鼠脑部原位接种 C6 脑胶质瘤有明显的抑制作用；与硫酸亚铁合用能使抑瘤率增加。蒿甲醚抑制原位脑胶质瘤的生长的机制之一可能是透过血脑屏障抑制脑胶质瘤血管生成。

#### [参考文献]

- [1] EFFERTH T, DAVEY M, OLBRICH A, et al. Activity of drug from traditional Chinese medicine toward sensitive and MDR1-or MRP1-over-expressing multidrug-resistant human CCRF-CEM leukemia cells[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2002, 28(2):160-168.
- [2] 陈欢欢, 周慧君. 青蒿琥酯的抗血管生成作用[J]. *药学报*, 2004, 39(1):29-33.
- [3] WEIDNER N, SAMPLE J P, FOLKMAN J, et al. Tumor angiogenesis and metastasis correlation in invasive breast carcinoma[J]. *N Engl J Med*, 1991, 324(1):1-8.
- [4] LAI H, TOMIKAZU S, SINGH N P. Targeted treatment of cancer with artemisinin and artemisinin tagged iron-carrying compounds[J]. *Expert Opinion*, 2005, 9(5):995-1007.
- [5] SINGH N P, LAI H. Synergistic cytotoxicity of artemisinin and sodium butyrate on human cancer cells[J]. *Anti-cancer Res*, 2005, 25(6B):4325-4331.
- [6] FOLKMAN J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis[J]. *Semin Oncol*, 2002, 29(6):15-18.

- [7] EFFERTH T, DUNSTAN H, SAUERBREY A, et al. The anti-malarial artesunate is also active against cancer[J]. *Int J Oncol*, 2001, 18(4):767-773.
- [8] CHEN H H, ZHOU H J, WANG W Q, et al. Antimalarial dihydroartemisinin also inhibits angiogenesis[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2004, 53(5):423-432.
- [9] CHEN H H, ZHOU H J, WU G D, et al. Inhibitory effects of artesunate on angiogenesis and on expressions of vascular endothelial growth factor and VEGF receptor KDR/flk-1[J]. *Pharmacology*, 2004, 71(1):1-9.  
(2012-02-21 收稿)

(上接第15页)

- [5] SASAKI H, SHIMIZU M, OGAWA K, et al. Brief ischemic-reperfusion performed after prolonged ischemia (ischemic postconditioning) can terminate reperfusion arrhythmias with no reduction of cardiac function in rats[J]. *Int Heart J*, 2007, 48:205-213.
- [6] DARLING C E, JIANG R, MAYNARD M, et al. Postconditioning via stuttering reperfusion limits myocardial infarct size in rabbit hearts: role of ERK1/2 [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289:1 618-1 626.
- [7] THIBAULT H, PIOT C, STAAT P, et al. Long-term benefit of postconditioning [J]. *Circulation*, 2008, 117(8):1 037-1 044.
- [8] ILIODROMITISE K, GEORGIADIS M, COHEN M V, et al. Protection from postconditioning depends on the number of short ischemic insults in anesthetized pigs [J]. *Basic Res Cardiol*, 2006, 101:502-507.
- [9] SCHWARTZ L M, LAGRANHA C J. Ischemic postconditioning during reperfusion activates Akt and ERK without protecting against lethal myocardial ischemia-reperfusion injury in pigs[J]. *Am Physiol*, 2006, 290:1 011-1 018.
- [10] 孙海梅, 郭涛, 喻卓, 等. 缺血后处理对缩小猪急性心肌梗死面积的作用观察[J]. *重庆医学*, 2010, 39(5):522-523.
- [11] 孙海梅, 郭涛, 喻卓, 等. 缺血后处理对猪心肌缺血再灌注损伤的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2010, 26(3):384-386.
- [12] 孙海梅, 郭涛, 喻卓, 等. 以球囊封堵法建立猪心肌梗死模型的可行性研究[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(46):9 032-9 036.
- [13] ZHAO Z Q, VINTEN JOHANSEN J. Postconditioning: Reduction of reperfusion-induced injury [J]. *Cardiovasc Res*, 2006, 70:200-211.
- [14] SUN H Y, WANG N P, KERENDI F, et al. Hypoxic postconditioning reduces cardiomyocyte loss by inhibiting ROS generation and intracellular  $Ca^{2+}$  overload[J]. *Am J Physiol*, 2005, 288:1 900-1 908.
- [15] ZHOU J F, CHEN J X, SHEN H C, et al. Abnormal reactions of free radicals and oxidative damages in the bodies of patients with chronic glomerulonephritis[J]. *Biomed Environ Sci*, 2002, 15(3):233-244.
- [16] GUMINA R J, GROSS G J. If ischemic preconditioning is the gold standard, has a platinum standard of cardioprotection arrived comparison with NHE inhibition[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 1999, 8:39-44.
- [17] HALKOS M E, KERENDI F, CORVERA J S, et al. Myocardial protection with postconditioning is not enhanced by ischemic preconditioning [J]. *Ann Thorac Surg*, 2004, 78:961-969.  
(2012-01-02 收稿)