

## 老鼠筋生物碱 A 对环磷酰胺致小鼠生殖系统损伤的保护作用<sup>①</sup>

韦贤<sup>1</sup>, 彭兴<sup>2</sup>, 王金妮<sup>1</sup>, 潘乔丹<sup>1</sup>, 杨凤莲<sup>1</sup>, 潘勇<sup>1</sup>, 黄祖良<sup>1</sup><sup>②</sup>

(1. 右江民族医学院, 广西 百色 533000 E-mail: wei700@126.com;

2. 广西医科大学, 广西 南宁 530021)

**摘要:**目的 探究老鼠筋生物碱 A 对环磷酰胺致小鼠生殖系统损伤的保护作用。方法 将 40 只小鼠随机分成 5 组: 阴性对照组(生理盐水组)、阳性对照组(环磷酰胺组)、老鼠筋生物碱 A 高剂量组(200 mg/kg)、老鼠筋生物碱 A 中剂量组(100 mg/kg)、老鼠筋生物碱 A 低剂量组(50 mg/kg), 每组 8 只。3 d 适应喂养后, 阴性对照组和阳性对照组每只每天灌胃 0.4 ml 的生理盐水。老鼠筋生物碱 A 高、中、低剂量组按每公斤体重每天予老鼠筋生物碱 A 灌胃。每天上午 9 点开始灌胃, 每组连续灌胃 14 d, 第 13 d 给药后, 除阴性对照组外, 各组小鼠按每公斤体重每天腹腔注射 200 mg/kg 环磷酰胺造模, 连续 2 d。末次给环磷酰胺 24 h 后, 即将小鼠处死, 取其睾丸, 观察睾丸细胞组织切片; 观察睾丸细胞微核数; 观察精子畸形数。结果 ①组织切片观察结果显示, 与阴性对照组相比, 阳性对照组、老鼠筋生物碱 A 各组小鼠睾丸组织结构都出现了病理改变。而老鼠筋生物碱 A 各组与阳性对照组相比, 阳性对照组出现了严重的睾丸组织细胞病理改变, 随着老鼠筋生物碱 A 剂量的增加, 病理改变越来越少。②与阴性对照组相比, 阳性对照组、老鼠筋生物碱 A 各组小鼠睾丸细胞的微核率、精子畸形率均高于阴性对照组 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ); 与阳性对照组相比, 老鼠筋生物碱 A 各组小鼠睾丸细胞的微核率、精子畸形率均低于阳性对照组 ( $P < 0.01$ ), 且随着给药剂量的增加, 微核率以及精子畸形率均降低。结论 在适当剂量下, 老鼠筋生物碱 A 对环磷酰胺致小鼠生殖系统损伤有不同程度的保护作用。

**关键词:** 老鼠筋生物碱 A; 环磷酰胺; 微核; 精子畸形率

**中图分类号:** R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2018)02-0103-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2018.02.002

## Protection of Acanthus ilicifolius alkaloids A on mouse reproductive system damage induced by cyclophosphamide

Wei Xian<sup>1</sup>, Peng Xing<sup>2</sup>, Wang Jinni<sup>1</sup>, Pan Qiaodan<sup>1</sup>, Yang Fenglian<sup>1</sup>, Pan Yong<sup>1</sup>, Huang Zuliang<sup>1</sup>

(1. Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi

E-mail: wei700@126.com;

2. Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi)

**Abstract:** **Objective** To explore the protective effect of Acanthus ilicifolius alkaloids A on the damage of the reproductive system in mouse induced by cyclophosphamide. **Methods** A total of 40 mice were randomly divided into five groups: a negative control group (normal saline group), a positive control group (cyclophosphamide group), a high-dose Acanthus ilicifolius alkaloids A group (200 mg/kg), a medium-dose Acanthus ilicifolius alkaloids A group (100 mg/kg) and a low-dose Acanthus ilicifolius alkaloids A group (50 mg/kg), 8 mice in each group. After three days of adaptive feeding, mice in the negative control group and positive control group received intragastric administration of 0.4 ml saline every day, mice in high-, medium- and low-dose Acanthus ilicifolius alkaloids A groups received intragastric administration of Acanthus ilicifolius alkaloids A every day according to per kilogram of bodyweight. Intragastric administration started at 9 am every day for 14 consecutive days for each group. On the 13th day after the intragastric administration of Acanthus ilicifolius al-

① **基金项目:** 广西自然科学基金项目(2014GXNSFBA118147); 广高校中青年基础能力提升项目(2018KY0447); 右江民族医学院 2012 年校级课题[右医院字[2012]21 号]

② **通信作者,** E-mail: ymhzl0413@163.com

kaloids A or saline was completed, except the negative control group all groups received intraperitoneal injection of cyclophosphamide (200 mg/kg) according to per kilogram of bodyweight for 2 consecutive days for developing the models. Twenty-four hours after the last intraperitoneal injection of cyclophosphamide, the mice were immediately killed, then their testicles were taken out. The testicular cell tissue slices, the testicular cells micronucleus number and the sperm malformation number were observed. **Results** ①The tissue slices observation results showed that compared with the negative control group, the testicular tissue structures of the mice appeared pathological changes in positive control group and in *Acanthus ilicifolius* alkaloids A groups. Compared *Acanthus ilicifolius* alkaloids A groups with the positive control group, there were serious pathological changes in the positive control group. With the *Acanthus ilicifolius* alkaloids A dose increase, the pathological changes in the *Acanthus ilicifolius* alkaloids A groups were less and less. ②The micronucleus rate and sperm malformation rate of testicular cells in the positive control group and the *Acanthus ilicifolius* alkaloids A groups were higher than those of the negative control group ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). The micronucleus rate and sperm malformation rate of testicular cells in the *Acanthus ilicifolius* alkaloids A groups were lower than those of the positive control group ( $P < 0.01$ ), and with the dosage increase, the micronucleus rate and sperm malformation rate were decreased. **Conclusion** At an appropriate dose, *Acanthus ilicifolius* alkaloids A has different degrees of protective effects on mouse reproductive system damage induced by cyclophosphamide.

**Key words:** *Acanthus ilicifolius* alkaloids A; cyclophosphamide; micronucleus; sperm malformation rate

红树植物老鼠簕(*Acanthus ilicifolius*),又名老鼠怕,是爵床科老鼠簕属植物<sup>[1]</sup>,民间主要应用于保肝<sup>[2]</sup>及抗氧化<sup>[3-4]</sup>,文献报道其具有抗肿瘤<sup>[5]</sup>、抗菌<sup>[6]</sup>、抗炎镇痛<sup>[7]</sup>、预防骨质疏松<sup>[8]</sup>等作用。环磷酰胺(cyclophosphamide,CP)是一种抗癌药物,现已在临床上广泛应用,同时也是常用的细胞毒化疗药物,它能杀死有丝分裂和进入循环周期的细胞,具有较强的免疫抑制作用,科研实验中主要用于免疫抑制动物模型的建立、生殖毒理阳性药物。本课题组前期从红树植物老鼠簕中分离出单体老鼠簕生物碱 A<sup>[9-10]</sup>(4-羟基苯并噁唑-2-酮,英文名 4-hydroxy-2-benzoxazolone,简称 HBOA),后续也成功合成了老鼠簕生物碱 A。根据所查阅的文献发现,老鼠簕生物碱 A 具有保肝及抗氧化的作用<sup>[11-13]</sup>。但研究内容还存在一定的局限,其它种类的研究比较少,为此本文以老鼠簕生物碱 A 为研究对象,采用微核实验等研究老鼠簕生物碱 A 对环磷酰胺致小鼠生殖系统损伤的影响,观察老鼠簕生物碱 A 是否具有抗突变作用。通过此研究,旨在拓宽老鼠簕生物碱 A 结构修饰新思路,并为老鼠簕的临床用药提供更多、更合理、更可靠的理论和证实依据。

## 1 实验材料与方法

1.1 实验动物 昆明种小鼠(SPF级),体重 18~22 g,雄性,40只。

1.2 实验主要药品及试剂 老鼠簕生物碱 A(实验室自制)、环磷酰胺(江苏恒瑞医药股份有限公司)、氢氧化钠(广东光华科技股份有限公司)、无水甲醇(西陇化工股份有限公司,生产批号:1703051)、无水乙醇(广东光华化学厂有限公司,生产批号:20170630)、丙酮(南

京化学试剂有限公司,生产批号:11071210826)、硫酸(廉江市爱廉化试剂有限公司,生产批号:09080122)、蒽酮(国药集团化学试剂有限公司,生产批号:20170319)、氯化钠(NaCl,西陇化工股份有限公司)、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (国药集团化学试剂有限公司)、香柏油(天津市光复精细化工研究所)、Giemsa(国药集团化学试剂有限公司,生产批号:F20170306)、改良的石炭酸品红染液等。

1.3 主要仪器 HH-2 智能数显恒温水浴锅(巩义市予华仪器有限责任公司)、奥林巴斯正置荧光相差生物显微镜(OLYMPUS公司,型号:BX51·R-32FB3F-01)、电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司)、L420 台式低速自动平衡离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司生产)、Dimension RXL 全自动生化分析仪(美国德灵公司)、光学显微镜、组织切片机及配套刀片、日立牌冷冻冷藏电冰箱等。

### 1.4 主要试剂的制备

1.4.1 老鼠簕生物碱 A 的制备 以 2-氨基间苯二酚盐酸盐为原料,经过高温与尿素环合而成,纯化得白色化合物,并用波谱法(MS、IR、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ )确定结构为老鼠簕生物碱 A,mp:293~294℃。

#### 1.4.2 小鼠微核实验所需试剂的配制

1.4.2.1 0.9%的生理盐水 称取 9 g 的 NaCl,加蒸馏水溶解并定容至 1000 ml,并于 37℃ 保存待用。

1.4.2.2 Giemsa 原液 取 Giemsa 粉末 0.75 g、甘油 50 ml、甲醇 50 ml,先在 Giemsa 粉末中加入少量甘油,用研钵研磨至糊状后将剩余的甘油全部加入并转移至烧杯中。于 60℃ 水溶 2 h,不时搅拌,待冷却后将

甲醇加入,用擦镜纸过滤后倒入棕色瓶中4℃保存,保存时间越长效果越好。

1.4.2.3 磷酸缓冲液(PBS)的配制 贮备液A:0.2 mol/L磷酸二氢钠,称取 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  31.2 g定容至1000 ml;贮备液B:0.2 mol/L磷酸氢二钠,称取 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  71.6 g定容至1000 ml。用时按所需的pH混合。pH=7.5:A液取16 ml,B液取84 ml,定容至200 ml;pH=6.8:A液取51 ml,B液取49 ml,定容至200 ml。

1.4.2.4 环磷酰胺溶液 取一瓶环磷酰胺0.2 g粉末,用10 ml蒸馏水溶解混匀即得浓度为20 mg/ml,置4℃冰箱保存以备。

1.5 实验方法 将40只小鼠随机分成5组:阴性对照组(生理盐水组)、阳性对照组(环磷酰胺组)、老鼠筋生物碱A高剂量组(200 mg/kg)、老鼠筋生物碱A中剂量组(100 mg/kg)、老鼠筋生物碱A低剂量组(50 mg/kg),每组8只根据本课题组前期的老鼠筋生物碱毒理实验,本实验设计老鼠筋生物碱给药剂量为最大给药的1/10,中、低剂量相继减半给药,按每只小鼠每公斤体重给药。即每天老鼠筋生物碱高、中、低剂量组给药剂量分别为200、100、50 mg/kg,阳性对照组给药剂量为200 mg/kg,给3 d适应喂养后,阴性对照组每只每天灌胃0.4 ml的生理盐水。同等条件下,老鼠筋生物碱A高、中、低剂量组每天灌胃相应剂量的老鼠筋生物碱A。每天上午9点开始灌胃,每组连续灌胃14 d,第13 d给药后,除阴性对照组外,各组小鼠每天腹腔注射200 mg/kg环磷酰胺,按每只小鼠每公斤体重给药,连续2 d,末次给环磷酰胺24 h后处死小鼠,取出小鼠睾丸。

1.5.1 小鼠睾丸细胞微核实验 小鼠睾丸生精细胞微核标本的制作:取下睾丸,置10 ml Tm液中,除去被膜后剪碎,置于磁力搅拌器中低速搅拌15 min后,以4层擦镜纸过滤2次,再离心5 min(1000 r/min),废弃上清液,加适量Tm液(0.5 ml)重悬,取适量细胞悬液(2滴)涂片,自然干燥(放入通风橱中)。用甲醇固定10 min,晾干,将固定晾干后的涂片用Giemsa染液避光染色30 min,然后冲洗掉玻片上的染色液,置晾片架上晾干。先选择用低倍镜进行观察,选择染色较好,分布均匀的区域,再用油镜进行观察并计数,嗜多染红细胞(PCE)细胞呈灰蓝色,正染红细胞(NCE)呈橘黄色。细胞中含有的微核多数呈圆形,边缘光滑整齐,嗜色性与核质一致,呈紫红色或蓝紫色。一个细胞内可出现一个或多个微核。计数1000个PCE中含微核的PCE数,并且计数200个细胞中PCE与NCE的比值。

1.5.2 睾丸组织切片制备 石蜡切片的制作参照陈

业文<sup>[14]</sup>、戚晓利等<sup>[15]</sup>及柏美玲等<sup>[16]</sup>的方法,并稍加改进。①取材:小鼠处死后,取睾丸组织,用10%甲醛固定,脱水后在睾丸器官上,取下组织块(一般厚度不超过0.5 cm),用生理盐水清洗血液,投入预先配好的固定液中(Bouin氏液),固定48 h。②冲水及脱水透明:冲水24 h后,用水冲洗组织块颜色变淡,由低浓度到高浓度酒精作脱水剂,将组织块中的水分逐渐脱去。再将组织块置于透明剂二甲苯(既溶于石蜡,又溶于酒精)中透明,以二甲苯替换出组织块的中酒精,才能浸蜡包埋。③浸蜡包埋:在脱水透明过程中,把各梯度的蜡(52℃~54℃、54℃~56℃、56℃~58℃)充分溶解,后置于63℃或64℃的烘箱中过夜。同时用牛皮纸或广告纸折一定数量的纸盒。次日,将组织块放入充分溶解的蜡中,顺着石蜡从低到高的熔点梯度浸透各1 h。然后倾入适量的56℃~58℃的石蜡于纸盒中,夹入浸透好的相应的组织块,同时用烧过的镊子在组织块周围轻轻搅拌。轻吹蜡液表面,使其凝成一层薄膜后,则放入另一个装有水的盘中,做好标记。④修蜡块:将蜡块放在冷水中浸泡半小时后,拆去纸盒,修整蜡块(有一端要相应留长),长的一端固定在小木块上。⑤切片与贴片:将修整好的蜡块固定于切片机上,切成薄片,一般为6 μm厚。把切好的蜡带用毛笔轻轻挑起,置于报纸上,再用解剖刀选取好的部分(一般3 cm左右),再用钝头镊子取一小滴贴片剂置于洗净滴干的干玻片的一端,用手指涂抹均匀,直至拭得较干,滴几滴水,用镊子夹取一条选好的蜡带,展于水中,每张玻片放2条蜡带。用纸巾把水吸掉一部分,再快速地置于火上微烘,使蜡和组织块都完全展平于载玻片上。⑥脱蜡、染色及脱水:染色前,须用松节油脱去切片中的石蜡,再经由高浓度到低浓度酒精,之后放蒸馏水,就可染色。⑦封片:用玻棒沾取中性树胶,滴一滴于已透明的切片两组织带之间,轻盖上盖玻片。待树胶略干后,贴上标签,切片标本就可观察。

1.5.3 小鼠精子畸形试验 用颈椎脱臼法处死小鼠,取出并分离睾丸,称重。然后分离两只附睾,用生理盐水冲洗,放入盛有4 ml生理盐水烧杯剪碎。通过4层擦镜纸滤除组织碎片,滤液离心(1000 r/min,离心5 min)弃除上清液,将剩余少量液体与沉淀摇匀制片。干燥后,甲醇固定7 min,干后用改良石炭酸品红染色1 h,制片在高倍镜下检查精子形态,每只小鼠检查完整精子1000只。凡出现双头或者头部无钩、香蕉状、无定形、肥胖以及双尾巴、尾巴折叠等现象定为畸形。求出畸形率(%)。

1.6 统计学方法 采用SPSS 17.0对数据进行分析,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 $q$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有

统计学意义。

## 2 实验结果

2.1 老鼠筋生物碱 A 对环磷酰胺致小鼠睾丸细胞微核的保护 与阴性对照组相比,老鼠筋生物碱 A 剂量组、阳性对照组睾丸微核率都有明显升高 ( $P < 0.01$ )。但与阳性对照组相比,老鼠筋生物碱 A 剂量组微核率有明显降低,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),并且存在一定的量-效关系,见表 1。此结果说明老鼠筋生物碱 A 对环磷酰胺注射液引起的小鼠睾丸损伤具有一定程度的保护作用。

2.2 小鼠睾丸组织切片图与分析 阴性对照组:光镜下,小鼠睾丸组织内各级生精细胞排列紧密规则,管壁基膜完整,管腔内充满成熟的精子,见图 1。阳性对照组:小鼠睾丸内生精小管生精上皮明显变薄,生精细胞层数明显减少,管腔内成熟精子明显减少甚至没有,各生精小管形状不规则,管腔间隙增大,见图 2。老鼠筋生物碱 A 剂量组:光镜下,小鼠睾丸组织生精小管内

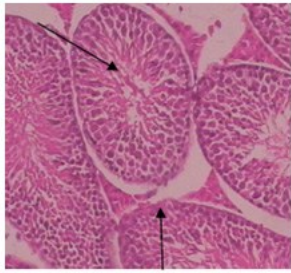


图 1 阴性对照组

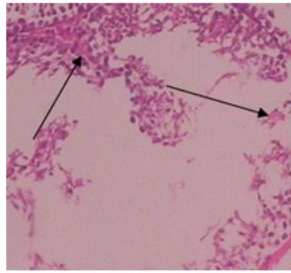


图 2 阳性对照组

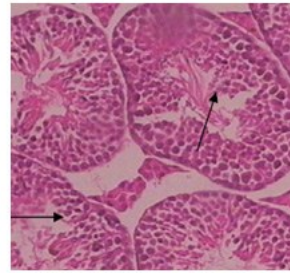


图 3 老鼠筋生物碱 A 高剂量组

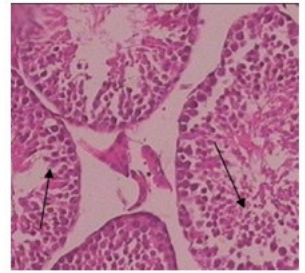


图 4 老鼠筋生物碱 A 中剂量组

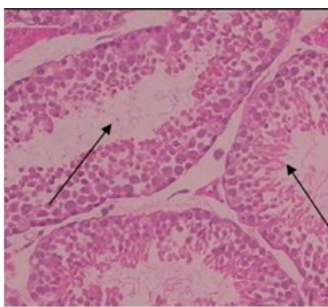


图 5 老鼠筋生物碱 A 低剂量组

2.3 老鼠筋生物碱 A 对环磷酰胺致小鼠睾丸细胞畸形的影响 与阴性对照组相比,阳性对照组、老鼠筋生物碱 A 剂量组小鼠睾丸细胞精子畸形率有明显升高 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。与阳性对照组相比,老鼠筋生物碱 A 剂量组睾丸细胞精子畸形率有明显降低,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),并且降低有一定的量效关系。此结果说明老鼠筋生物碱 A 对环磷酰胺注射液引起的小鼠睾丸损伤具有一定程度的保护作用。

细胞出现病理改变,见图 3。随着老鼠筋生物碱 A 剂量的降低,病理改变越来越明显,小鼠睾丸生精小管内的生精细胞变性坏死,主要表现为于精原细胞和初级精母细胞,细胞质减少、固缩,细胞膜破裂、坏死脱落,见图 4、图 5。

表 1 各实验组小鼠细胞微核率比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量 ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	睾丸微核率 (%)
阴性对照组	—	$2.40 \pm 1.12$
阳性对照组	—	$19.20 \pm 1.58^a$
老鼠筋生物碱 A		
高剂量组	200	$5.20 \pm 1.38^{ab}$
中剂量组	100	$7.32 \pm 1.17^{ab}$
低剂量组	50	$11.34 \pm 1.56^{ab}$

注:与阴性对照组比, a:  $P < 0.01$ ; 与阳性对照组比, b:  $P < 0.01$

表 2 老鼠筋生物碱 A 对环磷酰胺诱导小鼠睾丸细胞精子畸形的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量 ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	精子畸形率 (%)
阴性对照组	—	$87.45 \pm 32.32$
阳性对照组	200	$363.54 \pm 66.12^b$
老鼠筋生物碱 A		
高剂量组	200	$104.58 \pm 46.74^{ac}$
中剂量组	100	$175.45 \pm 32.15^{bc}$
低剂量组	50	$221.12 \pm 64.21^{bc}$

注:与阴性对照组比, a:  $P < 0.05$ , b:  $P < 0.01$ ; 与阳性对照组比, c:  $P < 0.01$

## 3 讨论

环磷酰胺(CP)是一种临床常见的抗肿瘤药物,广泛应用于各种血液系统和实体肿瘤的治疗,具有诱导肿瘤细胞凋亡和抑制肿瘤细胞增殖的显著作用。CP能够显著地引起大鼠精子数量减少,精子活力下降。研究结果同时提示,引起包括精原干细胞在内的多种

精子前体细胞凋亡,可能是CP引起生殖毒性的重要原因。微核是染色体畸变在间期细胞中的一种表现形式。可以通过检测小鼠睾丸细胞的微核出现率,反映睾丸细胞染色体畸变的高低,进而判定受试物是否具有致突变作用。生殖系统对化学毒物的作用十分敏感,在其他系统还未出现毒性反应之前,生殖系统可能已受损害。精子畸形率的高低,可反映该化学毒物的生殖毒性和对生殖细胞潜在的致突变性。

本实验通过将一定剂量的环磷酰胺注射给小鼠,诱发其生殖系统的病变,通过实验研究老鼠筋生物碱A对小鼠生殖系统受损的修复作用。实验结果表明:对组织切片观察,与阴性对照组相比,阳性对照组、老鼠筋生物碱A剂量组小鼠睾丸组织结构都出现了病理改变。而老鼠筋生物碱A剂量组与阳性对照组相比,阳性对照组出现了明显的病理改变,随着老鼠筋生物碱A剂量的减少,病理改变愈加严重。与阴性对照组相比,阳性对照组、老鼠筋生物碱A剂量组小鼠睾丸细胞诱发微核率、精子畸形率均高于阴性对照组( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ );与阳性对照组相比,老鼠筋生物碱A剂量组小鼠的睾丸细胞诱发微核率、精子畸形率均低于阳性对照组( $P < 0.01$ ),在实验剂量范围内,随着给药剂量的增加,微核率以及精子畸形率均有所降低。这说明小鼠生殖系统在受环磷酰胺注射损伤的影响下,通过老鼠筋生物碱A的作用能显著地降低生殖系统的损伤程度,并随着老鼠筋生物碱A浓度的增加,生殖系统损伤程度减弱,存在一定的量-效关系。

综上所述,老鼠筋生物碱A能拮抗环磷酰胺对小鼠生殖系统的损伤,在一定剂量下,老鼠筋生物碱A对环磷酰胺诱导小鼠生殖系统损伤具有一定程度的修复和保护作用,可为老鼠筋生物碱A进一步的结构优化开发提供依据,从而也拓宽了老鼠筋生物碱A的研究领域。

#### 参考文献:

- [1] 中国科学院华南植物研究所. 海南植物志:第2卷[M]. 北京:科学出版社,1965:180.
- [2] 刘林,林军,侯软玲,等. 老鼠筋对大鼠中毒性肝纤维化的影响[J]. 广西医科大学学报,2009,26(5):708-711.
- [3] 梅燕,侯软玲,刘林,等. 老鼠筋乙醇提取物对肝纤维化大

鼠COX-2和TGF $\beta$ 1表达的影响[J]. 时珍国医国药,2012,23(4):888-890.

- [4] 胡忠,吴奕瑞,黎宝荣,等. 老鼠筋类黄酮的提取及生理活性研究[J]. 汕头大学学报(自然科学版),2007,22(3):49-55.
- [5] Babu BH,Shylesh BS,Padikkala J. Antioxidant and hepatoprotective effect of Acanthus ilicifolius [J]. Fitoterapia,2001,72(3):272-277.
- [6] Babu BH,Shylesh BS,Padikkala J. Tumour reducing and anticarcinogenic activity of Acanthus ilicifolius in mice [J]. Journal of Ethnopharmacology,2002,79(1):27-33.
- [7] Ravikumar S,Raja M,Gnanadesigan M. Antibacterial potential of benzoate and Phenylethanoid derivatives isolated from Acanthus ilicifolius L. leaf extracts [J]. Nat Prod Res,2012,26(23):2270-2273.
- [8] Phan VK,Tran HQ,Tran TH,et al. Chemical constituents of Acanthus ilicifolius L. and effect on osteoblastic MC3T3E1 cells [J]. Archives of Pharmacal Research,2008,31(7):823-829.
- [9] 彭兴,龙盛京. 老鼠筋提取成分的抗氧化活性[J]. 华西药学杂志,2006,21(1):14-17.
- [10] 彭兴,龙盛京. 老鼠筋的化学成分研究[J]. 中草药,2006,37(7):971-973.
- [11] 王宗英,陈永好,郑广进,等. 老鼠筋生物碱A及其衍生物乙酰老鼠筋生物碱A的抗炎镇痛作用[J]. 中国医院药学杂志,2011,31(10):807-810.
- [12] 韦明中,莫思燕,邱金慧,等. 老鼠筋生物碱A对肝纤维化大鼠I、III型胶原表达的影响[J]. 广西医科大学学报,2015,32(6):891-894.
- [13] 周丽娟,蔡丽萍,陈小英,等. 老鼠筋生物碱A及其衍生物对免疫性肝纤维化大鼠的保护作用[J]. 中国药学杂志,2013,48(20):1744-1747.
- [14] 陈业文. 制作石蜡组织切片标本的体会[J]. 咸宁学院学报(医学版),2006,20(3):210-211.
- [15] 戚晓利,高艳华,徐秀芳,等. 石蜡切片制作中小鼠某些器官三维结构变化的数据测试[J]. 动物学杂志,2001,36(4):51-53.
- [16] 柏美玲,宋昱,林群凡,等. 实验动物肝组织石蜡切片制作中易发问题探讨[J]. 中国现代药物应用,2012,6(20):121-122.

收稿日期:2018-04-09