

· 论著 ·

滚轮微针对人增生性瘢痕裸鼠中醋酸曲安奈德疗效的影响

张娟娟^{1,2}, 于海³, 吴志宏³, 徐顺³, 张立超¹ (1. 上海市中医医院药剂科, 上海 200071; 2. 上海市浦东新区新场社区卫生服务中心, 上海 201314; 3. 上海市第七人民医院烧伤整形科, 上海 200137)

[摘要] 目的 观察滚轮微针对醋酸曲安奈德(TAC)的抗瘢痕疗效影响。方法 将人增生性瘢痕移植于裸鼠背部建立模型。取模型裸鼠72只按随机数字表法分为单纯乳膏组、微针+乳膏组、注射液组, 每组24只。给药后观察裸鼠的瘢痕生长情况, 于15、30、45、60 d 每组随机处死各6只, 切取瘢痕组织行病理学观察, 免疫组织化学法检测处理后跨膜糖蛋白(CD34)和 α -肌动蛋白(α -SMA)表达, 原位末端标记(TUNEL)法检测细胞凋亡。结果 给药60 d, 乳膏组大体形态无明显改变, 微针+乳膏组和注射液组瘢痕缩小、变平、变软, 色泽变淡。给药60 d, 乳膏组瘢痕中CD34、 α -SMA免疫组织化学和细胞凋亡分别为 15.83 ± 1.84 、 47.36 ± 1.95 和 21.50 ± 3.62 , 与给药15 d相比均无显著改变($P > 0.05$); 而微针+乳膏组30 d后、注射液组15 d后即可见CD34和 α -SMA表达减少、发生凋亡的细胞数增加, 有显著改变; 给药60 d后两组的上述指标分别为 7.83 ± 0.75 和 9.87 ± 1.96 、 26.30 ± 8.48 和 27.23 ± 4.68 、 34.00 ± 1.55 和 38.67 ± 3.98 , 均较乳膏组差异显著($P < 0.05$)。而微针+乳膏组与注射液组比较, 60 d后各项指标的差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 在人增生性瘢痕裸鼠模型中, 滚轮微针提高醋酸曲安奈德的抗瘢痕疗效, 与瘢痕内注射给药相当。

[关键词] 增生性瘢痕; 曲安奈德; 滚轮微针; 裸鼠; 经皮给药

[中图分类号] R965 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2019)04-0342-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.04.011

The effect of triamcinolone acetonide delivered by microneedle roller on nude mouse model xenografted with human hypertrophic scar

ZHANG Juanjuan^{1,2}, YU Hai³, WU Zhihong³, XU Shun³, ZHANG Lichao¹ (1. Department of Pharmacy, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China; 2. Department of Pharmacy, Shanghai Pudong New District Xinchang Community Health Service Center, Shanghai 201314, China; 2. Department of Burns and Plastic Surgery, Shanghai Seventh People Hospital, Shanghai 200137, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of triamcinolone acetonide cream (TAC) delivered by microneedle roller on the treatment for human hypertrophic scar. **Methods** The model was established by xenografting human hypertrophic scar onto the back of nude mouse. Seventy-two nude mice were randomly divided into TAC itself, TAC with microneedle and intralesional injection group with 24 mice in each group. Six nude mice from each group were euthanized at 15, 30, 45 and 60 days after treatment. Xenografted scars were harvested for histologic analysis. The expression of CD34 and α -smooth muscle actin (α -SMA) were detected by immunohistochemistry. Cell apoptosis was detected by TUNEL method. **Results** 60 days after the treatment, there was no significant morphology change in TAC group. The scar was shrunk, soft and flat with lighter color in the microneedle and injection groups. The values of CD34 expression, α -smooth muscle actin and cell apoptosis in TAC group were 15.83 ± 1.84 , 47.36 ± 1.95 , and 21.50 ± 3.62 , respectively, which had no significant difference compared with those after 15 days treatment ($P > 0.05$). The decrease of the expression of CD34, α -SMA ($P < 0.05$) and the increase of apoptotic cells ($P < 0.05$) were observed 30 days after the microneedle treatment and 15 days after intralesional injection. 60 days after the administration, the value of CD34 expression, α -SMA, and cell apoptosis in those two groups were 7.83 ± 0.75 , 9.87 ± 1.96 , 26.30 ± 8.48 and 27.23 ± 4.68 , 34.00 ± 1.55 , 38.67 ± 3.98 , respectively, which had significant difference compared to TAC group ($P < 0.05$). There was no significant difference ($P > 0.05$) between the microneedle group and the injection group in the expression of CD34, α -smooth muscle actin, and cell apoptosis. **Conclusion** The anti-scar effect of triamcinolone acetonide delivered by microneedle roller was similar to that by intralesional injection in the nude mouse model.

[Key words] hypertrophic scar; triamcinolone; microneedle roller; nude mouse; transdermal drug delivery

[基金项目] 上海市卫计委科研项目(201540294)

[作者简介] 张娟娟, 硕士研究生, 研究方向: 皮肤药理学, Email: 1261@szy.sh.cn

[通讯作者] 张立超, 主任药师, 研究方向: 皮肤药理学, Email: changhaiskin@163.com

醋酸曲安奈德(triamcinolone acetonide acetate cream, TAC)等激素是局部治疗病理性瘢痕的一线药物,但是致密的角质层阻碍其有效透过皮肤,而采用病灶内注射给药,已成为基础疗法之一^[1]。但该方法存在需多点注射、所造成的疼痛感强烈、药物分布不均、注射点药物浓集易致局灶性皮肤萎缩或坏死等不足,限制了在大面积烧伤瘢痕中的应用^[1-2]。

微针促透技术已逐步走向成熟,越来越多蛋白质、疫苗等大分子药物的微针经皮给药已被FDA批准用于临床。数百个微针刺破角质层瞬间形成孔道,药物沿着孔道进入皮肤深层,具有无痛微创、促透均匀、操作简便等特点。但是其给药面积小,仍然不适合大面积瘢痕给药。为此,我们前期引入美容业使用多年的滚轮微针用于增生性瘢痕(HS)的经皮促透,并证实TAC的微针促透效率仅次于注射给药,药物分布相对均匀、无痛且操作方便^[2-4]。本文采用移植的人HSc裸鼠模型,以TAC的抗瘢痕疗效为标准,验证微创滚轮微针对TAC涂布给药抗瘢痕效果的改善作用。

1 材料与方法

1.1 动物、主要试剂和仪器

4~6周龄BALB/c-nu/nu裸鼠,单纯T淋巴细胞缺陷品系,雌雄不拘,体质量18~20g,由第二军医大学动物中心提供。

TAC乳膏(质量分数0.1%,每支4g,批号120602)和TAC注射液(5ml:50mg,批号130106)购自上海通用药业股份有限公司;Masson三色染色试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司);兔抗人 α -SMA单克隆抗体、兔抗人CD34抗体(英国Abcam公司);原位末端标记(TUNEL)试剂盒(美国Trevigen公司);EnVision试剂即用型(丹麦Dako公司);滚轮微针(192针,针长500 μ m,美国Clinical Resolution Laboratory);ASP300S型全自动组织脱水机(德国徕卡公司);CHC-212型光学显微镜(日本Olympus公司);80i显微成像系统(日本尼康公司);自粘性透明贴膜(英国Smithnephry公司)。

1.2 人HS组织的制备

HS组织取自21例在上海市第七人民医院烧伤整形科行早期整形修复的烧伤后HS患者,患者术前均知情同意。待移植的HS肉面组织被修剪,制成厚约0.3cm、大小2.0cm \times 2.0cm的HS皮片,灭菌生理盐水纱布包裹,3h内完成移植。同时切取部分组织行病理学检查,验证HS的形态学特点。

1.3 人HS移植裸鼠模型的制作与验证

1.3.1 模型制作

取裸鼠采用35g/L水合氯醛按0.1ml/10g腹腔注射麻醉。将裸鼠俯卧位固定于无菌操作台上,背部用碘伏消毒两遍,龙胆紫画出2.0cm \times 2.0cm手术切口线,切开皮肤全层至深筋膜浅面,沿此层剪除全层皮肤。将预先制备的HS皮片移植到创面上,5/0丝线间断缝合,打包包扎,3h内完成移植。术后5d拆包,10d拆线,见图1。

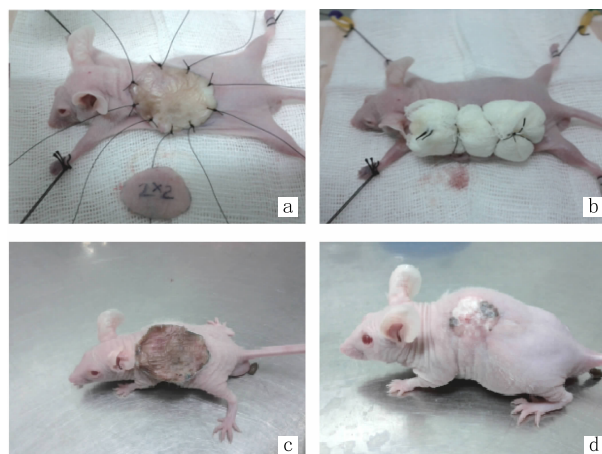


图1 人HS移植裸鼠模型的建立

a. 修剪后的人HSc组织(2cm \times 2cm \times 0.3cm)移植于裸鼠背部;
b. 打包固定;c. 术后10d拆线,可见移植的HS与周围的皮肤愈合良好,色泽转红;d. 拆线25d后,移植的HS增生,表面粗糙,高出周围皮肤,色红,轻度牵缩

1.3.2 模型验证

术后观察并记录移植HS的大体形态,记录HS组织恢复至移植前的大体形态所需时间。90d后将模型裸鼠拉颈处死,测量HS高出切取移植的HS组织裸鼠正常皮肤的高度。将HS组织常规固定、石蜡包埋、切片(厚4 μ m),行HE染色和Masson染色,光镜下观察HS的组织学特点,且与移植前HS组织和建模裸鼠的皮肤对比,以证实模型的可靠性。

1.4 滚轮微针对TAC乳膏抗瘢痕作用的影响

1.4.1 分组处理及标本采集

取72只成功建立人HS移植模型的裸鼠,按照随机数字表法分为以下3组,每组24只,并行相应处理60d。①单纯乳膏组,HS涂TAC乳膏0.2mg/cm²,自粘性透明贴膜密封固定,每日涂药1次。②微针+乳膏组,每日1次用500 μ m滚轮微针在移植的HS上垂直交叉滚动各2个来回,其余处理同单纯乳膏组。③注射液组,HS内注射TAC注射液0.2mg/cm²,每周1次。给药期间观察各组裸鼠大体形态学变化。给药15、30、45、60d每组随机处

死6只裸鼠,取移植的HS组织行组织病理学观察和免疫组织化学检测。

1.4.2 组织病理学观察

常规石蜡包埋切片后行HE染色,于光学显微镜下观察HS组织病理学变化。

1.4.3 免疫组织化学检测

采用生物素-链霉亲和素-过氧化物辣根酶染色(ELPS)法检测HS组织中CD34或 α 肌动蛋白(α -SMA)阳性表达细胞。切片经1:10兔血清封闭非特异性抗原后,按照试剂盒说明书行免疫组织化学染色,兔抗人CD34或 α -SMA的抗体稀释比为1:200。透明封片后行半定量图像分析。

1.4.4 细胞凋亡检测

采用TUNEL法检测HS组织中细胞凋亡情况。切片染色操作按照试剂盒说明书进行,1:100稀释生物素化抗地高辛抗体,DAB显色。对染色切片行半定量图像分析。

半定量图像分析。采用Image-Pro Plus 6.0图像分析系统,由2名病理医师双盲观测3个具有代表性的200倍视野(TUNEL为400倍视野),图像信息摄入图像分析系统,经过增强、去噪、分割、灰度转换、图像识别及分析等步骤,由系统测量出CD34、 α -SMA或TUNEL法阳性染色的细胞数目、平均光密度、微血管记数,进行半定量分析,评定药效学。

1.5 统计学处理

数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用SPSS 13.0统计软件进行析因设计方差分析,组间两两比较行LSD检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 移植的人HS裸鼠模型的组织形态学特征

2.1.1 大体形态特点

12只裸鼠移植了人HS组织,术后10d拆线可见移植的HS与周围的皮肤愈合良好,色泽转红,表皮菲薄,质地较软。随后10d左右,部分表皮逐渐变黄、变黑并形成干痂。伴随干痂脱落,移植的HS从边缘到中央、从深层到浅层逐渐变硬,色红,表面粗糙,高出周围皮肤(图1)。其中10只的HSc组织恢复至移植前的大体形态,需时(34.50 ± 4.06)d。术后90d测量,移植的HS已高出裸鼠正常皮肤平均(1.83 ± 0.49)mm。

2.1.2 组织病理学特点

术后90d移植的HS组织真皮层明显增厚,真皮乳头层和网状层界限不清,胶原呈漩涡状或结节状分布,微血管增多,并可见到细胞核分裂相,与移

植前的HS组织特点相似,见图2a、2b;HS周围的皮肤层次分明,可见大量皮肤附件,胶原排列规则,细胞成分以及血管数量较少,见图2c。Masson染色可见移植后HS组织胶原致密,排列紊乱,见图2d。

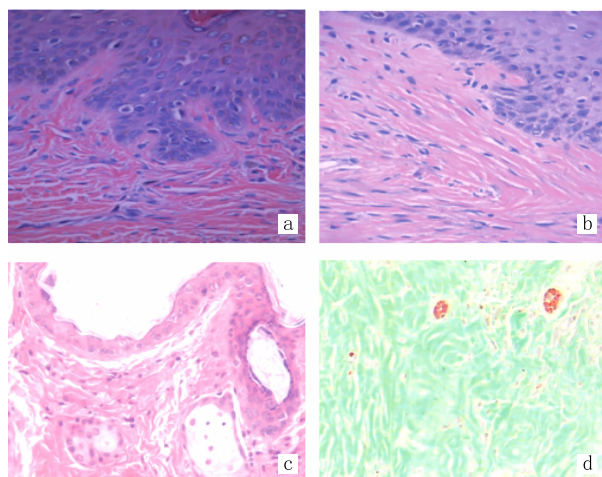


图2 人HS移植裸鼠模型的HE染色结果HE $\times 200$

a. 移植前人HS组织Fb增生明显,胶原密集、排列紊乱,无汗腺、毛囊和皮脂腺;b. 术后90d裸鼠背部的移植人HS组织,组织特征与移植前人HS相似;c. 移植HS周围的裸鼠皮肤,表皮层和真皮层薄,组织结构疏松有序,可见汗腺、皮脂腺和毛囊结构;d. 移植瘢痕组织,胶原束排列紊乱,胶原纤维致密

2.2 滚轮微针对TAC乳膏抗瘢痕作用的影响

2.2.1 裸鼠大体形态学变化

给药60d,注射液组和微针+乳膏组的移植HS表面变平、色淡、质地变柔软;单纯乳膏组的HS多数高出周围皮肤,表面凹凸不平,充血明显,质硬(图3)。

2.2.2 移植的HS组织中CD34阳性细胞表达和微血管数目

高给药30、45和60d,微针+乳膏组和注射液组的CD34阳性细胞表达,主要定位在微血管内皮细胞的胞浆中,呈棕黄色或棕褐色。CD34阳性表达的血管数目均显著低于单纯乳膏组($P < 0.05$)。微针+乳膏组与注射液组比较,30d阳性表达血管数目显著较多($P < 0.05$),45d和60d后无显著差异(见表1)。

2.2.3 移植的HS组织中 α -SMA阳性细胞表达

半定量图像分析结果显示,各组的HS组织中肌成纤维细胞和新生小血管均有 α -SMA阳性表达,呈深棕色或棕黄色。注射液组15d以后各时段 α -SMA阳性表达均较单纯乳膏组显著减少($P < 0.05$)。微针+乳膏组在给药30d以后的时段比单纯乳膏组阳性表达显著减少($P < 0.05$),见

表 2。

2.2.4 移植 HS 组织中细胞凋亡情况

注射液组各时段的细胞凋亡数目均高于单纯乳

膏组($P < 0.05$), 仅 45 d 显著高于微针+乳膏组($P < 0.05$)。微针+乳膏组在给药 30、45、60 d 细胞凋亡数高于单纯乳膏组($P < 0.05$), 见表 3。

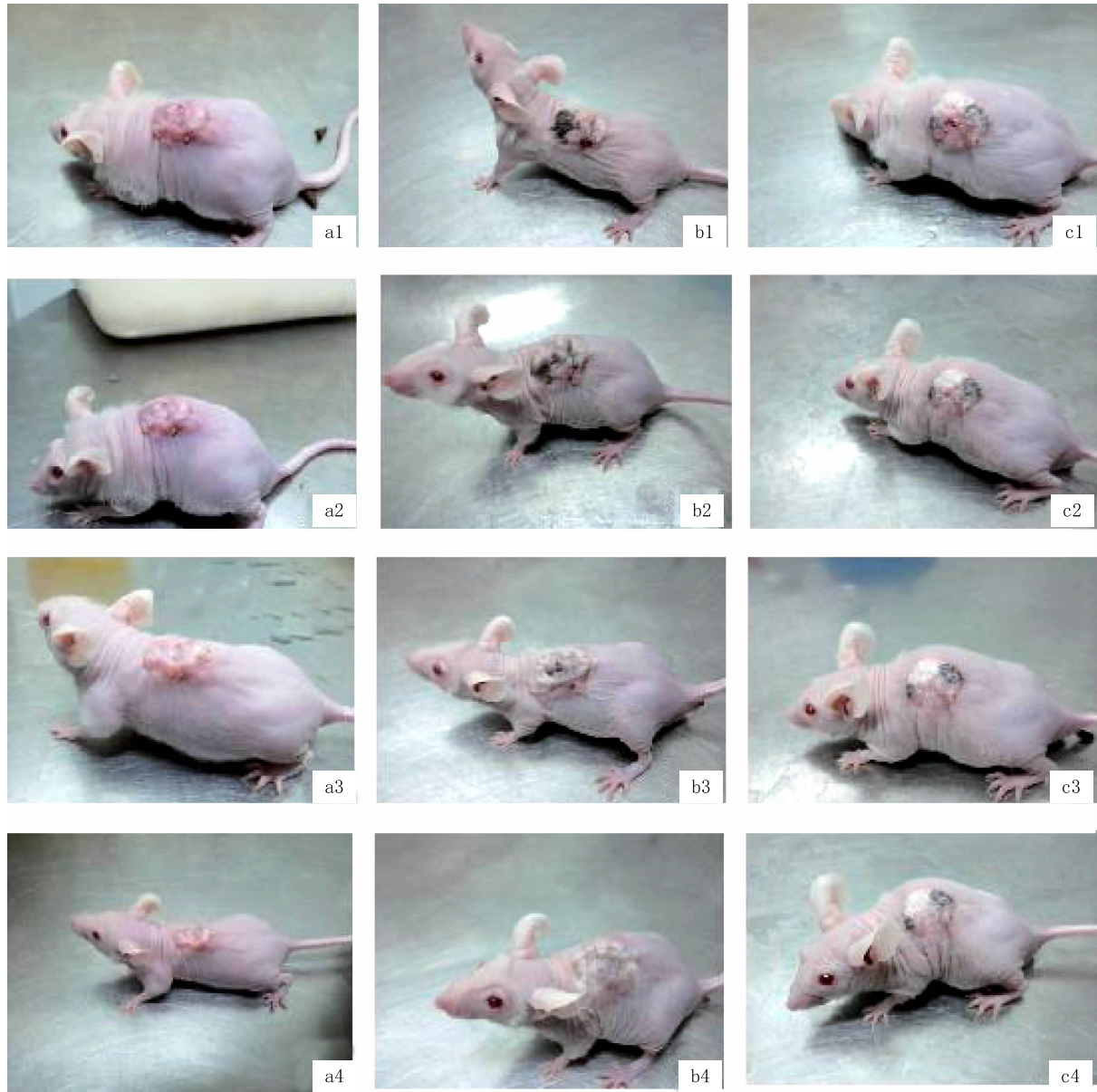


图 3 裸鼠给药期间移植 HS 的大体变化

a. 单纯乳膏组; b. 微针+乳膏组; c. 注射液组; a1~a4、b1~b4、c1~c4 分别为给药 15、30、45、60 d。a4 单纯乳膏组给药 60 d, 瘢痕仍高出皮面, 质硬, 挛缩; b2 和 c2 示微针+乳膏组和注射液组给药 30 d, 瘢痕开始缩小, b4 和 c4 示给药 60 d 瘢痕明显变平、缩小

表 1 不同给药组间 HS 组织内 CD34 阳性血管数比较 (200 倍视野, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	给药 15 d	给药 30 d	给药 45 d	给药 60 d
乳膏组	6	20.33±1.97	19.33±1.13	17.17±1.60	15.83±1.84
微针+乳膏组	6	19.00±0.75	15.17±0.75*	10.31±0.89*	7.83±0.75*
注射液组	6	18.33±1.07	12.13±1.23*·#	10.67±1.06*	9.87±1.96*
F_1 值(P_1 值)		159.085(0.001)			
F_2 值(P_2 值)		156.50(0.001)			
F_3 值(P_3 值)		13.317(0.001)			

注: F_1 、 P_1 值为不同时段多重比较; F_2 、 P_2 值为不同组间多重比较, F_3 值、 P_3 值为不同给药方式与各检测时段间的交互效应; * $P < 0.05$, 与乳膏组比较; # $P < 0.05$, 与微针组比较

表2 不同给药组 HS 组织内 α -SMA 阳性细胞表达比较(200 倍视野, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	给药 15 d	给药 30 d	给药 45 d	给药 60 d
乳膏组	6	56.6 \pm 2.4	53.4 \pm 1.9	51.0 \pm 1.9	47.4 \pm 2.0
微针+乳膏组	6	52.2 \pm 8.6	43.2 \pm 6.5*	32.3 \pm 8.5*	26.3 \pm 8.5*
注射液组	6	42.2 \pm 4.6*#	34.6 \pm 4.6*#	31.7 \pm 4.7*	27.2 \pm 4.7*
F_1 值(P_1 值)		39.954(0.001)			
F_2 值(P_2 值)		89.727(0.001)			
F_3 值(P_3 值)		3.521(0.005)			

注: F_1 、 P_1 值为不同时段多重比较; F_2 、 P_2 值为不同组间多重比较, F_3 值、 P_3 值为不同给药方式与各检测时段间的交互效应;* $P < 0.05$,与单纯乳膏组比较;# $P < 0.05$,与微针+乳膏组比较

表3 不同给药组 HS 组织内细胞凋亡数比较(400 倍视野, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	治疗后 15 d	治疗后 30 d	治疗后 45d	治疗后 60d
乳膏组	6	22.83 \pm 4.57	23.83 \pm 3.76	21.33 \pm 4.68	21.50 \pm 3.62
微针+乳膏组	6	25.33 \pm 1.97	29.50 \pm 2.07*	28.67 \pm 1.97*	34.00 \pm 1.55*
注射液组	6	29.00 \pm 2.83*	30.17 \pm 2.86*	37.17 \pm 3.87*#	38.67 \pm 3.98*
F_1 值(P_1 值)		15.093(0.001)			
F_2 值(P_2 值)		86.694(0.001)			
F_3 值(P_3 值)		7.643(0.001)			

注: F_1 、 P_1 值为不同时段多重比较; F_2 、 P_2 值为不同组间多重比较, F_3 值、 P_3 值为不同给药方式与各检测时段间的交互效应;* $P < 0.05$,与乳膏组比较;# $P < 0.05$,与微针组比较

3 讨论

TAC 通过抑制成纤维细胞(Fb)增殖,促进其成熟或凋亡,阻止其向肌成纤维细胞转化;抑制血管内皮细胞增殖和迁移,减少新生血管形成,使瘢痕组织内的营养物质和氧运输减少;降低胶原、纤维黏连蛋白、蛋白多糖等细胞外基质(ECM)的合成,促使胶原降解或向成熟胶原转化等机制抑制瘢痕增生,是公认的抗瘢痕标准药物,但注射给药的弊端限制其在大面积烧伤瘢痕中的应用^[1,5-6]。

微针由单晶硅、不锈钢等材料制成,数百微米长、数百微针/cm²贴片组成阵列,通过短暂、可逆地破坏角质层形成数百个孔道,实现高效促透。胰岛素微针透皮,疗效与皮下注射相当^[7]。此外,由于皮肤的弹性阻力,针长 500 μ m 的微针并未完全刺入皮肤。我们前期采用石蜡切片、HE 染色法考察针长 500 μ m 的微针,使用力度 2.5~20.0 N,微针孔深度仅为 60~110 μ m,相当于进入表皮,并未触及真皮神经和血管,因此无痛、不出血^[4]。这与文献^[8]报道一致。我们认为,微针高效促透、无痛、操作方便等特性,恰巧可避免瘢痕内注射给药的诸多不足。

国内外微针研究集中于实现自身无法透皮的蛋白质或多肽、疫苗、DNA 等药物的促透给药^[3,8]。

国内已有蔡景龙课题组采用全身麻醉下将滚轮微针刺入真皮层,导入 TAC 治疗 HS 的临床报道,但该法是疼痛和有创的,不利于临床应用^[8]。

近年我们系统考察了滚轮微针在仅穿透角质层的情况下,TAC 在离体和在体 HS 中的促透特性和皮肤刺激性^[2-4]。HPLC 法结果表明微针+乳膏组显示了与注射液组不同的药物释放特性。注射液组药物进入皮肤后滞留量快速下降且分布不均匀,而微针+乳膏组则相对缓慢持久且分布均匀,12 h 后药物透过量达到涂布药量的 60.64%,组织中 TAC 滞留量高出直接涂布 4.18 倍。激光多普勒血流量法显示注射液组的皮肤刺激性高于微针+乳膏组 8.40 倍。因此,本课题进一步采用人移植 HS 裸鼠模型,采用 TAC 作为抗瘢痕治疗的标准药物,模拟临床给药量进行了疗效观察,验证仅穿透角质层的滚轮微针用于抗瘢痕药物促透给药的疗效。

本课题采用的人 HS 移植裸鼠模型,制作成功率较高(83%),平均需时 34.5 d,90 d 后仍可见移植的 HS 组织中 Fb 增生明显,胶原密集堆积、排列紊乱,无汗腺、毛囊和皮脂腺,较好地保持移植前的组织形态学特征,适用于瘢痕防治的研究。建模过程中,我们观察到术后 10 d 移植的人 HS 质地柔软且色泽红润,建立了血供。但随后的 15 d 左右,表

皮逐渐出现变黄、变黑并形成薄层干痂,随着干痂脱落,移植的 HS 组织恢复了原有的大体形态特征,提示移植的 HS 表层细胞经历了一次坏死和更新的过程,推测与瘢痕基底胶原致密、早期血供相对不足有关。亦不排除瘢痕浅层细胞成分多、抗原性较强,出现类似于人全厚皮肤移植给裸鼠时的排斥反应^[10]。

本研究结果显示单纯乳膏组整个过程均未能观察到对 HS 的作用效应,提示 TAC 受到角质层阻挡,HS 组织中未能达到效应浓度,与我们的前期研究结果^[2-4]呼应。而微针+乳膏组可见移植的 HS 缩小、变平、变软,色泽变淡,用药 30 d 其 CD34 和 α -SMA 表达减少,细胞凋亡数增加,用药 45、60 d 各项指标均达到注射液组水平,提示微针使组织中 TAC 达到的浓度对瘢痕增生产生了显著的抑制作用,有效地强化了涂布给药的效果。尽管微创、无痛地使用滚轮微针导入 TAC 的方法,起效时间稍迟,但疗效与注射液组相当,为临床合理应用滚轮微针治疗 HS 提供了依据。

【参考文献】

- [1] GAUGLITZ GG. Management of keloids and hypertrophic scars: current and emerging options[J]. Clin Cosmet Investig Dermatol, 2013, 6: 103-114.
- [2] 李雅,张娟娟,张立超,等. 改装滚轮微针促进人增生性瘢痕皮

肤对醋酸曲安奈德的吸收[J]. 第二军医大学学报, 2015, 36(1): 58-64.

- [3] 张娟娟,张立超,朱全刚,等. 改装滚轮微针用于醋酸曲安奈德经皮给药的特性试验[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(4): 292-296.
- [4] 张娟娟,朱全刚,张立超,等. 不同密度滚轮微针对曲安奈德的透皮促渗作用[J]. 药学实践杂志, 2013, 31(6): 415-417.
- [5] DAROUGHEH A, ASILIAN A, SHARIATI F. Intralesional triamcinolone alone or in combination with 5-fluorouracil for the treatment of keloid and hypertrophic scars[J]. Clin Exp Dermatol, 2009, 34(2): 219-223.
- [6] REISH R G, ERIKSSON E. Scar treatments: preclinical and clinical studies[J]. J Am Coll Surg, 2008, 206(4): 719-730.
- [7] MARTANTO W, DAVIS S P, HOLIDAY N R, et al. Transdermal delivery of insulin using microneedles in vivo[J]. Pharm Res, 2004, 21(6): 947-952.
- [8] BAL S M, KRUIHOF A C, ZWIER R, et al. Influence of microneedle shape on the transport of a fluorescent dye into human skin in vivo[J]. J Control Release, 2010, 147(2): 218-224.
- [9] 马常明,蔡景龙,牛扶幼,等. 皮肤滚针导入曲安奈德治疗增生性瘢痕效果观察[J]. 中华整形外科杂志, 2012, 28(3): 185-189.
- [10] MOMTAZI M, KWAN P, DING J, et al. A nude mouse model of hypertrophic scar shows morphologic and histologic characteristics of human hypertrophic scar[J]. Wound Repair Regen, 2013, 21(1): 77-87.

【收稿日期】 2019-02-24 【修回日期】 2019-06-25

【本文编辑】 陈盛新

(上接第 341 页)

【参考文献】

- [1] 鞠建华. 中国特有药用植物铁破锣化学成分及生物活性的研究[D]. 北京:中国协和医科大学, 2000.
- [2] SAKURAI N, NAGAI M, GOTO T, et al. Studies on the constituents of *Beesia calthae folia* and *Souliea vaginata*. IV; Beesioside I, a cyclolanostanol xyloside from the rhizome of *Beesia calthae folia* [J]. Chem Pharm Bull, 1993, 41(2): 272-275.
- [3] SAKURAI N, NAGAI M, NAGASE H, et al. Studies on the constituents of *Beesia calthae folia* and *Souliea vaginata*. II; Beesioside II, a cyclolanostanol xyloside from rhizome of *Beesia calthae folia* [J]. Chem Pharm Bull, 1986, 34(2): 582-589.
- [4] INOUE T, SAKURAI T, NAGAI M, et al. Beesioside III, a cyclolanostanol xyloside from rhizome of *Beesia calthae folia* and *Souliea vaginata* [J]. Chem Pharm Bull, 1985, 24(6): 1329-1331.
- [5] INOUE T, SAKURAI N, GOTO T, et al. Studies on the constituents of *Beesia calthae folia* and *Souliea vaginata*. II; Beesioside IV, a cyclolanostanol xyloside from rhizome of *Beesia calthae folia* and *Souliea vaginata* [J]. Heterocycles, 1990, 30(2): 897-904.
- [6] JU J H, LIU D, LIN G, et al. Beesiosides A-F, six new cycloartane triterpene glycosides from *Beesia calthae folia* [J]. J Nat Prod, 2002, 65(1): 42-47.

- [7] JU J H, LIU D, LIN G, et al. Beesiosides G, H and J-N, seven new cycloartane triterpene glycosides from *Beesia calthae folia* [J]. J Nat Prod, 2002, 65(2): 147-152.
- [8] 鞠建华,林耕,杨峻山,等. 铁破锣皂苷 O 和 P 的结构及其药理活性[J]. 药学学报, 2002, 37(10): 788-792.
- [9] 鞠建华,杨峻山,刘铁东. 铁破锣化学成分的研究 II [J]. 中国药学杂志, 2000, 35(3): 157-160.
- [10] 周静,苗彩云,姚韵茜. HPLC 法快速测定早产儿血清中茶碱的含量[J]. 中国临床药学杂志, 2016, 25(6): 360-362.
- [11] 梁晓东,张茜,边月娟,等. HPLC 测定还脑益聪方及配伍前后何首乌肝毒性成分含量变化[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(7): 1557-1561.
- [12] 张博闻,姚奇志,文晓娟,等. HPLC 测定加味升降散中 5 种大黄蒽醌类成分含量[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(6): 1399-1402.
- [13] XIA D Z, YU X F, ZHU Z Y, et al. Antioxidant and antibacterial activity of six edible wild plants (*Sonchus* spp.) in China [J]. Nat Prod Res, 2011, 25(20): 1893-1901.
- [14] 田崇梅,夏道宗,邢梦雨. 土茯苓总黄酮与亚硝酸钠联用对铅离子螯合能力及体外抗氧化性的研究[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(6): 1392-1395.
- [15] 郑丹俊. 铁破锣化学成分的研究[D]. 杭州:浙江大学, 2015.

【收稿日期】 2018-12-20 【修回日期】 2019-05-31

【本文编辑】 陈盛新