

蟾酥化学成分及药理活性研究进展

陈瀛澜¹, 郝艳艳¹, 郭夫江¹, 卞雪莲², 吴迎春^{1*}, 李医明^{1*}

1. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203

2. 上海金蟾健康科技有限公司, 上海 200444

摘要: 蟾酥作为一种重要的传统中药, 其化学成分复杂, 临床用途较广。通过对蟾酥化学成分的分离和鉴定, 已确定其主要的化学成分包括蟾蜍内酯类、吲哚类生物碱、甾醇类等化合物。随着国内外对蟾酥越来越深入的研究, 其化学成分的药理活性机制也日益清晰, 主要被用于抗肿瘤、强心、抗菌、镇痛等方面, 甚至用于局部麻醉, 且治疗效果显著。对蟾酥的化学成分、药理作用等方面进行综述, 为蟾酥的临床安全合理应用提供参考。

关键词: 蟾酥; 蟾蜍内酯; 吲哚类生物碱; 甾醇; 抗肿瘤作用; 强心作用; 抗菌作用

中图分类号: R282.74 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)12-2579-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.12.033

Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Bufois Venenum*

CHEN Ying-lan¹, HAO Yan-yan¹, GUO Fu-jiang¹, BIAN Xue-lian¹, WU Ying-chun¹, LI Yi-ming¹

1. School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

2. Shanghai Jinchan Health Technology Co., Ltd., Shanghai 200444, China

Abstract: *Bufois Venenum*, as an important Chinese traditional natural medicine, has complex chemical composition and has been widely used in clinical treatment with significant effects. The chemical constituents in *Bufois Venenum* mainly included bufadienolides, indole alkaloids, steroids, etc. With the further research on *Bufois Venenum* both at home and abroad, its chemical composition and mechanism of pharmacological activities have been more and more clearly, especially in the aspects of narcotic analgesic, cardiac, and antitumor therapy. This paper reviewed the chemical composition and pharmacology advances of *Bufois Venenum* in order to provide reference to clinical use.

Key words: *Bufois Venenum*; bufadienolide; indolealkylamine; sterol; antitumor effect; cardiac effect; antimicrobial effect

蟾酥 *Bufois Venenum* 是蟾蜍科动物中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans* Cantor 或黑眶蟾蜍 *Bufo melanostictus* Schneider 的干燥分泌物, 多于夏、秋二季捕捉蟾蜍, 洗净, 挤取耳后腺和皮肤腺的白色浆液, 加工, 干燥而成。蟾酥是攻毒杀虫止痒药的一种, 出自于《药性论》, 有清热解毒功效^[1]。近10余年来, 对于蟾酥有效成分的研究不断深入, 其中的单体成分在抗肿瘤及防治心血管疾病方面有显著药理活性。但是蟾酥在某些方面还有很多问题需要解决, 如不同国家的药典对其质量规定不一致,

《中国药典》2015年版蟾酥中的指标成分华蟾酥毒基和脂蟾毒配基, 两者之和大于6%, 《日本药局方》和《韩国药典》则规定蟾酥中蟾毒灵、华蟾酥毒基和脂蟾毒配基三者之和为5.8%以上, 标准的不一致导致国内很多蟾酥无法达到《中国药典》要求而被当作废品, 导致资源的极大浪费。另外, 蟾酥中主要活性成分的药理活性也有较明显的差异, 如蟾毒灵、蟾毒它灵、沙蟾毒精等蟾酥中量较高的成分的药理活性有一定的差异, 有些强心作用较强, 有些抗肿瘤作用较强, 那么蟾酥的质量标准是否应当按

收稿日期: 2016-12-12

基金项目: 上海市教委预算内项目 (2016YSN09)

作者简介: 陈瀛澜 (1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础。

*通信作者 吴迎春 (1982—), 男, 讲师, 博士, 研究方向为中药药效物质基础。Tel: (021)51322207 E-mail: wuyingchun2013@163.com
李医明 (1966—), 男, 教授, 博士, 研究方向为中药药效物质基础。Tel: (021)51322191 E-mail: ymlius@163.com

照其不同的用药途径去制定? 这些问题都有待于进一步研究。

基于以上一些问题, 本文对蟾酥中化学成分以及药理活性进行梳理, 为进一步优化蟾酥质量标准以及开发、利用蟾酥提供理论依据和文献支持。

1 蟾酥的化学成分

蟾酥中所含的化学成分复杂, 通过对蟾酥的分离和鉴定, 已确定其主要的化学成分为蟾蜍内酯类、蟾毒色胺类、甾醇类及其他类化合物。本文主要针对《中国药典》2015 年版中收录的中华大蟾蜍和黑框蟾蜍的蟾酥中所分离得到的化学成分进行总结。

1.1 蟾蜍内酯类

1.1.1 蟾蜍二烯羟酸内酯类 这类化合物依据是否与有机酸相连还可细分为蟾蜍毒素类和蟾毒配基类化合物。蟾蜍毒素类化合物又分为蟾毒、蟾毒配基脂肪酸酯和蟾毒配基硫酸酯^[2]。蟾毒配基类多为蟾

酥毒素在加工炮制过程中的分解产物, 结构类似强心苷元而有毒性。目前蟾蜍内酯类化合物根据配基母核上取代基不同分为 5 类, 分别为蟾毒灵类 (I)、脂蟾毒配基类 (II)、沙蟾毒精类 (III)、假蟾毒精类 (IV)、环氧酯蟾毒配基类 (V), 母核结构^[3]见图 1, 分离得到的化合物见表 1。

1.1.2 20,21-环氧蟾蜍内酯类 目前从蟾酥中分离得到的 20,21-环氧蟾蜍内酯类化合物有 5 种, 包括 20S, 21-环氧脂蟾毒配基 (20S,21-epoxyresibufogenin, **60**)、20R,21-环氧脂蟾毒配基 (20R,21-epoxyresibufogenin, **61**)、3-甲酰氧基-20R,21-环氧脂蟾毒配基 (3-O-formyl-20R,21-epoxyresibufogenin, **62**)、3-O-20S,21-环氧脂蟾毒配基 (3-O-20S,21-epoxyresibufogenin, **63**)、3-甲酰氧基-20S,21-环氧脂蟾毒配基 (3-O-formyl-20S,21-epoxyresibufogenin, **64**), 见表 2。

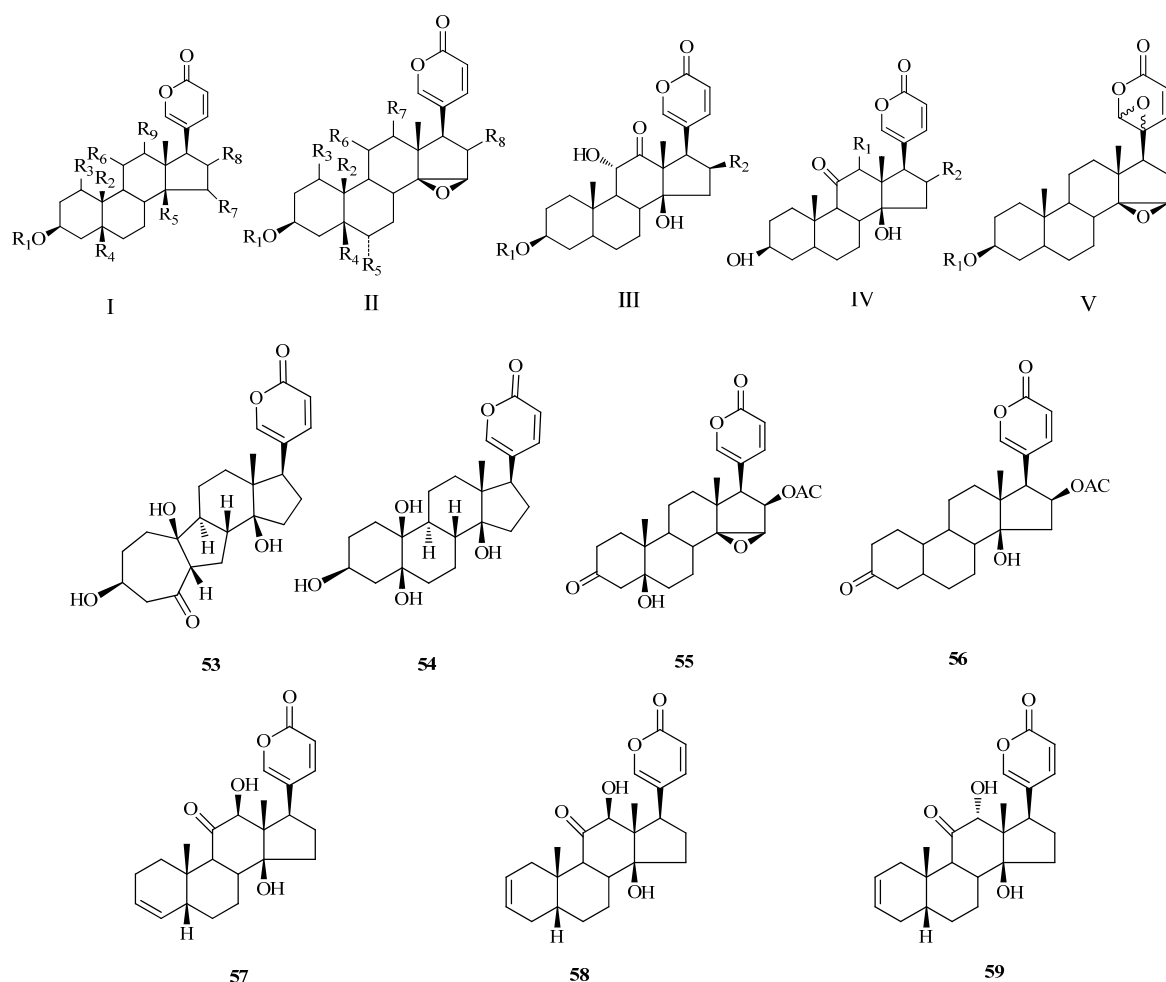


图 1 蟾酥中蟾蜍内酯类化合物的结构母核 I~V 及化合物 53~59 结构式

Fig. 1 Skeletons of bufanolides and compounds 53—59 in *Bufonis Venenum*

表 1 蟾酥中的蟾蜍二烯羟酸内酯类化合物

Table 1 Bufadienolides in *Bufo venenum*

编号	化合物	母核	取代基	动物基原	文献
1	蟾毒灵 (bufalin)	I	$R_1=R_3=H, R_2=CH_3, R_5=OH, R_4=R_6=R_7=R_8=$ $=R_9=H,$	1, 2	4-7
2	15 β -羟基蟾毒灵 (15 β -hydroxybufalin)	I	$R_1=R_3=R_4=R_6=R_8=R_9=H, R_2=CH_3, R_5=OH,$ $R_7=\beta-OH$	2	4-5
3	1 β -羟基蟾毒灵 (1 β -hydroxybufalin)	I	$R_1=R_4=R_6=R_7=R_8=R_9=H, R_2=CH_3, R_3=\beta-OH,$ $R_5=OH$	1	6,8
4	19-氧代蟾毒灵 (19-oxo-bufalin)	I	$R_1=R_3=R_4=R_6=R_7=R_8=R_9=H, R_2=CHO,$ $R_5=OH$	1	6,8
5	19-羟基蟾毒灵 (19-hydroxybufalin)	I	$R_1=R_3=R_4=R_6=R_7=R_8=R_9=H, R_2=CH_2OH,$ $R_5=OH$	1	4-6
6	蟾毒灵 3-单辛酸酯 (bufalin 3- <i>O</i> -suberate)	I	$R_1=a, R_2=CH_3, R_5=OH, R_3=R_4=R_6=R_7=R_8=$ $R_9=H$	1	4-6
7	日蟾毒它灵 (gamabufotalin)	I	$R_1=R_3=R_4=R_7=R_8=R_9=H, R_2=CH_3, R_5=OH,$ $R_6=\alpha-OH$	1, 2	4-6,8-10
8	蟾毒它灵 (bufotalin)	I	$R_1=R_3=R_4=R_6=R_7=R_9=H, R_2=CH_3, R_5=OH,$ $R_8=\beta-OAc$	1, 2	4-6,8
9	去乙酰蟾毒它灵 (desacetylbufotalin)	I	$R_1=R_3=R_4=R_6=R_7=R_9=H, R_2=CH_3, R_5=OH,$ $R_8=\beta-OH$	1	4-5,8
10	5 β -羟基蟾毒它灵 (5 β -hydroxybufotalin)	I	$R_1=R_3=R_6=R_7=R_9=H, R_2=CH_3, R_4=R_5=OH,$ $R_8=\beta-OAc$	1	8
11	嚏根草配基 (hellebrigenin, bufotalidin)	I	$R_1=R_3=R_6=R_7=R_8=R_9=H, R_2=CHO, R_4=$ $R_5=OH$	1	4-5,11
12	嚏根草醇 (hellebrigenol)	I	$R_1=R_3=R_6=R_7=R_8=R_9=H, R_2=CH_2OH,$ $R_4=R_5=OH$	1	4-5
13	远华蟾毒精 (telocinobufagin)	I	$R_1=R_3=R_6=R_7=R_8=R_9=H, R_2=CH_3, R_4=R_5=OH$	1	4-6,8,10
14	远华蟾毒精 3-辛酸酯 (telocinobufagin 3- <i>O</i> -hemisuberate)	I	$R_1=a, R_3=R_6=R_7=R_8=R_9=H, R_2=CH_3,$ $R_4=R_5=OH$	1	4-5
15	hellebrigenol-3- <i>O</i> -sulfite	I	$R_1=SO_3H, R_2=CH_2OH, R_4=OH, R_3=R_6=R_7=$ $R_8=R_9=H$	2	12
16	hellebrigenin-3- <i>O</i> -sulfite	I	$R_1=SO_3H, R_2=CHO, R_4=OH, R_3=R_6=R_7=$ $R_8=R_9=H$	2	12
17	19-hydroxybufalin-3- <i>O</i> -sulfite	I	$R_1=SO_3H, R_2=CHO, R_3=R_4=R_6=R_7=R_8=$ $R_9=H$	2	12
18	desacetylbufotalin-3- <i>O</i> -sulfite	I	$R_1=SO_3H, R_2=CH_3, R_8=OH, R_3=R_4=R_6=R_7=$ $R_9=H$	2	12
19	telocinobufagin-3- <i>O</i> -sulfite	I	$R_1=SO_3H, R_2=CH_3, R_4=OH, R_3=R_6=R_7=R_8=$ $R_9=H$	2	12
20	脂蟾毒配基 (resibufogenin)	II	$R_1=R_3=R_4=R_5=R_6=R_7=R_8=H, R_2=CH_3$	1, 2	4-5,7
21	脂蟾毒精 (resibufagin)	II	$R_1=R_3=R_4=R_5=R_6=R_7=R_8=H, R_2=CHO$	1	4-5

续表 1

编号	化合物	母核	取代基	动物基源	文献
22	3 β -甲酸基脂蟾毒配基 (3 β -formyloxyresibufogenin)	II	R ₁ =HCO, R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =R ₈ =H, R ₂ =CH ₃	1	4-5,8
23	12 β -羟基脂蟾毒精醇 (12 β -hydroxyresibufaginol)	II	R ₁ =R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₈ =H, R ₂ =CH ₃ , R ₇ = β -OH	1	4-5,8
24	脂蟾毒精醇 (resibufaginol)	II	R ₁ =R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =R ₈ =H, R ₂ =CH ₂ OH	1	4-5,8
25	脂蟾毒配基 3-单辛酸酯 (resibufogenin 3- <i>O</i> -suberoyl suberate)	II	R ₁ =a, R ₂ =CH ₃ , R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =R ₈ =H	1	4-6
26	脂蟾毒配基 3-辛二酰精氨酸 (resibufogenin 3- <i>O</i> -suberoyl arginine)	II	R ₁ =b, R ₂ =CH ₃ , R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =R ₈ =H	1	4-5
27	脂蟾毒配基 3-庚二酰精氨酸 (resibufogenin 3- <i>O</i> -pimeloyl arginine)	II	R ₁ =c, R ₂ =CH ₃ , R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =R ₈ =H	1	4-5
28	脂蟾毒配基 3-己二酰精氨酸 (resibufogenin 3- <i>O</i> -adipoyl arginine)	II	R ₁ =d, R ₂ =CH ₃ , R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =R ₈ =H	1	4-5
29	华蟾酥毒基 (cinobufagin)	II	R ₁ =R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =H, R ₂ =CH ₃ , R ₈ = β -OAc	1, 2	4-5,7,10
30	19-氧代华蟾毒精 (9-oxo-cinobufagin)	II	R ₁ =R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =H, R ₂ =CHO, R ₈ = β -OAc	1	4-5,13
31	去乙酰华蟾毒精 (desacetylcinobufagin)	II	R ₁ =R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =H, R ₂ =CH ₃ , R ₈ = β -OH	1	4-5,8,10
32	华蟾毒精醇 (cinobufaginol)	II	R ₁ =R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =H, R ₂ =CH ₂ OH, R ₈ = β -OAc	1	4-5
33	去乙酰华蟾毒精醇 (desacetylcinobufaginol)	II	R ₁ =R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =H, R ₂ =CH ₂ OH, R ₈ = β -OH	1	4-5,8
34	19-氧代去乙酰华蟾毒精 (19-oxo-desacetylcinobufagin)	II	R ₁ =R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =H, R ₂ =CHO, R ₈ = β -OH	1	8
35	6 α -羟基华蟾毒精 (6 α -hydroxycinobufagin)	II	R ₁ =R ₃ =R ₄ =R ₆ =R ₇ =H, R ₂ =CH ₃ , R ₅ = α -OH, R ₈ = β -OAc	1	8
36	1 β -羟基华蟾毒精 (1 β -hydroxycinobufagin)	II	R ₁ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =H, R ₂ =CH ₃ , R ₃ = β -OH, R ₈ = β -OAc	2	7
37	12 β -羟基华蟾毒精 (12 β -hydroxycinobufagin)	II	R ₁ =R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =H, R ₂ =CH ₃ , R ₇ = β -OH, R ₈ = β -OAc	1, 2	7-8
38	5 β ,12 β -二羟基华蟾毒精 (5 β ,12 β -dihydroxycinobufagin)	II	R ₁ =R ₃ =R ₅ =R ₆ =H, R ₂ =CH ₃ , R ₄ =OH, R ₇ = β -OH, R ₈ = β -OAc	1	14
39	华蟾毒精 3-单辛酸酯 (cinobufagin 3- <i>O</i> -suberate)	II	R ₁ =a, R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =H, R ₂ =CH ₃ , R ₈ = β -OAc	1	4-5
40	去乙酰华蟾毒精 3-单辛酸酯 (desacetylcinobufagin 3- <i>O</i> -hemisuberate)	II	R ₁ =a, R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =H, R ₂ =CH ₃ , R ₈ = β -OH	1	4
41	华蟾毒它灵 (cinobufotalin)	II	R ₁ =R ₃ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =H, R ₂ =CH ₃ , R ₄ =OH, R ₈ = β -OAc	1	5,8
42	去乙酰华蟾毒它灵 (desacetylcinobufotalin)	II	R ₁ =R ₃ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =H, R ₄ =OH, R ₂ =CH ₃ , R ₈ = β -OH	1	8,10
43	19-氧代华蟾毒它灵 (19-oxocinobufotalin)	II	R ₁ =R ₃ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =H, R ₂ =CHO, R ₄ =OH, R ₈ = β -OAc	1	4-5
44	华蟾毒它灵 3-辛二酸半酯 (cinobufotalin 3- <i>O</i> -hemisuberate)	II	R ₁ =a, R ₃ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =H, R ₂ =CH ₃ , R ₄ =OH, R ₈ = β -OAc	1	4-5
45	南美蟾毒精 (marinobufagin)	II	R ₁ =R ₃ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =R ₈ =H, R ₂ =CH ₃ , R ₄ =OH	1	4-5
46	蟾蜍他里宁 (bufotalinin)	II	R ₁ =R ₃ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =R ₈ =H, R ₂ =CHO, R ₄ =OH	1	4-5,13
47	沙蟾毒精 (arenobufagin)	III	R ₁ =R ₂ =H	1	4-5,13

续表 1

编号	化合物	母核	取代基	动物基源	文献
48	16-乙酰氧基沙蟾毒精 [16-acetyloxy-3,11,14-trihydroxy-12-oxo-(3 β ,5 β ,11 α ,16 β)-bufa-20,22-dienolide]	III	R ₁ =H, R ₂ = β -OAc	2	12
49	假蟾毒精 (<i>psi</i> -bufarenogin)	IV	R ₁ = α -OH, R ₂ =H	1	6
50	异沙蟾毒精 (bufarenogin)	IV	R ₁ = β -OH, R ₂ =H	1	6,13
51	12 α -羟基蟾蜍灵 (12 α -hydroxyl-bufalin)	I	R ₁ =R ₃ =R ₄ =R ₆ =R ₇ =R ₈ =H, R ₂ =CH ₃ , R ₅ =R ₉ =OH	2	15
52	华蟾蜍精 3-辛二酰甲酯 (cinobufagin 3-hemisuberate)	II	R ₁ =CO(CH ₂) ₆ COOCH ₃ , R ₈ =OAc, R ₂ =CH ₃ , R ₂ =R ₃ =R ₄ =R ₅ =R ₆ =R ₇ =H	2	15
53	bufogargarizin			2	16
54	19-norbufadienolide			2	16
55	3-氧代华蟾毒它灵 (3-oxocinobufotalin)			2	13
56	蟾毒配基烯酮 (bufotalon)			2	17
57	5 β ,12 β -12,14-dihydroxy-11-oxobufa-3,20,22-trienolide			2	18
58	5 β ,12 β -12,14-dihydroxy-11-oxobufa-2,20,22-trienolide			2	18
59	5 β ,12 α -12,14-dihydroxy-11-oxobufa-3,20,22-trienolide			2	18

1-黑眶蟾蜍 2-中华大蟾蜍 a-CO(CH₂)₆COOH b-CO(CH₂)₆COArgOH c-CO(CH₂)₅COArgOH d-CO(CH₂)₄COArgOH
1-*B. melanosticus* 2-*B. bufo gargarizans* a-CO(CH₂)₆COOH b-CO(CH₂)₆COArgOH c-CO(CH₂)₅COArgOH d-CO(CH₂)₄COArgOH

表 2 蟾酥中 20,21-环氧蟾蜍内酯类化合物
Table 2 20,21-Epoxybufenolide series in *Bufois Venenum*

编号	化合物	母核	取代基	动物基源	文献
60	20S,21-环氧脂蟾毒配基 (20S,21-epoxyresibufogenin)	V	R ₁ =OH	2	6,19
61	20R,21-环氧脂蟾毒配基 (20R,21-epoxyresibufogenin)	V	R ₁ =OH	2	6,19
62	3-甲酰氧基-20R,21-环氧脂蟾毒配基 (3- <i>O</i> -formyl-20R,21-epoxyresibufogenin)	V	R ₁ =HCO	2	6,19
63	3- <i>O</i> -20S,21-环氧脂蟾毒配基 (3- <i>O</i> -20S,21-epoxyresibufogenin)	V	R ₁ =HCO	2	6,19
64	3-甲酰氧基-20S,21-环氧脂蟾毒配基 (3- <i>O</i> -formyl-20S,21-epoxyresibufogenin)	V	3-羰基	2	6,19

1.2 吲哚生物碱类

此类化合物含有吲哚环,是具有一定生物活性的水溶性吲哚生物碱(图 2)。张屏等^[20]从蟾酥水提取物中分离得到 6 个生物碱,分别鉴定为 5-羟色胺 (serotonin, **65**)、*N*-甲基-5-羟色胺 (**66**)、蟾毒色胺 (bufotenine, **67**)、bufobutanoic acid (**68**)、蟾毒色胺内盐 (bufotenidine, **70**)、蟾毒色胺氮氧化物 (bufotenine *N*-oxide, **71**)。代英辉等^[21]对蟾酥的水溶性成分进行了系统研究,分离得到了 1 个新的蟾毒色胺类化合物蟾毒丁酰胺 (**72**)。此外, Yoshiaki 等^[22]还从蟾酥中分离得 bufopyramide (**69**)、蟾蜍绿啉 (**73**)和蟾蜍噻啉 (**74**) 3 个吲哚类生物碱。

1.3 甾醇类

蟾酥中所含的甾醇类化合物包括胆甾醇、7 α -羟基胆甾醇、 β -谷甾醇、7 β -羟基胆甾醇、菜油甾醇及麦角甾醇等^[23]。

1.4 其他类

蟾酥中所含的其他类化合物包括氨基酸、有机

酸、肾上腺素、吗啡、多肽及多糖等^[24-26]。

2 蟾酥的药理作用

《本草汇言》中记载:“蟾酥,疗疳积,消膨胀,解疗毒之药也。”现代药理研究表明,蟾酥具有极强的镇痛、强心、抗感染、抗肿瘤等作用,临床应用广泛,可用于治疗多种恶性肿瘤、慢性乙型肝炎、急慢性呼吸道感染、心脏病等,还可以用于局部麻醉、表面麻醉等^[27]。

2.1 抗肿瘤作用

蟾酥具有确切的抗肿瘤活性,能够诱导肿瘤细胞的凋亡、抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞的分化,还有逆转耐药性、抑制肿瘤血管形成、抑制肿瘤细胞侵袭转移、阻滞细胞周期及增强免疫的作用。蟾酥中蟾毒灵、华蟾毒精和脂蟾毒配基等成分均为抗癌有效单体,用于多种癌症治疗。研究证实蟾毒灵有很好的抗肿瘤活性,对多种肿瘤细胞均有效果,能够抑制肝癌、肺癌、肠癌、胃癌、妇科肿瘤、胰腺癌等多种实体瘤生长;另有研究发现华蟾蜍精、

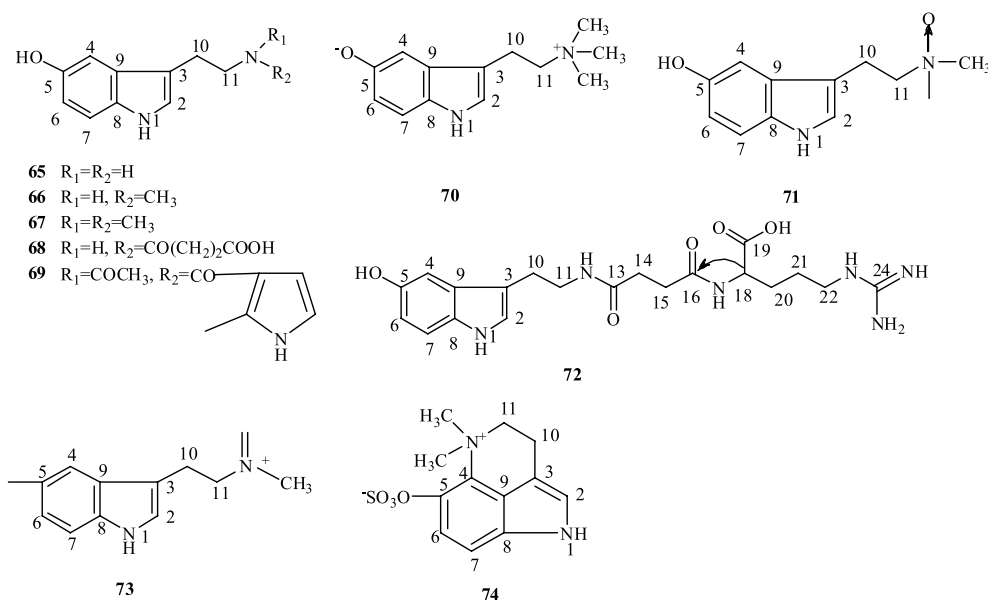


图 2 蟾酥中吲哚生物碱类化合物

Fig. 2 Indolealkylamines in *Bufo venenum*

蟾毒它灵、沙蟾毒精 (arenobufagin) 和脂蟾毒配基具有同样的功效。因此, 以蟾毒灵和华蟾毒基为代表的蟾毒配基类化合物被认为是蟾酥抗肿瘤作用的主要活性成分。

2.1.1 抑制肿瘤细胞增殖 从蟾酥中分离出的抗癌有效单体, 如蟾毒灵、华蟾毒精和脂蟾毒配基等对肿瘤细胞增殖具有抑制作用或直接杀伤作用。通过采用活性追踪分离方式, 从蟾酥中分离得到可抑制肿瘤细胞生长, 同时对小鼠急性毒性较低的化合物蟾毒它灵, 其对非小细胞肺癌 A549 细胞具有较好的生长抑制作用^[28]。有研究表明蟾酥对肝癌细胞增殖有抑制作用, 其中有效单体蟾毒灵对人肝癌 BEL-7402 细胞增殖的抑制作用最强, 其次是华蟾毒基, 脂蟾毒配基的作用最弱^[29]。

2.1.2 诱导肿瘤细胞凋亡 蟾酥及其有效成分作用于细胞后, 可转化为细胞凋亡信号, 并可通过细胞内和细胞外信号转导途径, 导致细胞凋亡。王贺双等^[30]研究蟾酥的活性成分华蟾毒配基对人胃癌 BGC-823 细胞增殖和凋亡的影响, 发现华蟾毒配基能够有效诱导 BGC-823 细胞凋亡, 其作用机制可能与核转录因子- κB (NF- κB) 信号通路有关。同时华蟾毒基对骨肉瘤 U-2OS 细胞的生长也有显著抑制作用, 并能够促使细胞凋亡, 其作用机制可能与激活含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 (caspase) 依赖的凋亡途径有关^[31]。于海涛^[32]研究发现酯蟾毒配基可能通过激活

P53 蛋白及其他凋亡因子, 触发骨肉瘤细胞发生凋亡, 从而抑制肿瘤细胞的生长。

蟾毒灵可以选择性地诱导一系列不同来源的肿瘤细胞凋亡, 但对正常宿主细胞则无明显杀伤作用。蟾毒灵可以时间-剂量依赖性地抑制肺癌 A549 细胞增殖, 同时诱导其凋亡。蟾毒灵在低浓度、短时间作用时表现为细胞周期阻滞; 高浓度、长时间作用时表现为促进细胞凋亡^[33]。

2.1.3 促进恶性肿瘤细胞分化 蟾酥及其有效成分主要通过降低拓扑异构酶 II、蛋白激酶 A 和蛋白激酶 C 活性, 抑制酪蛋白激酶-2 活力等诱导肿瘤细胞分化; 通过抑制细胞膜上 Na^+, K^+ -ATP 酶诱导肿瘤细胞分化以及通过增加抑癌基因的表达抑制细胞增殖, 促进细胞分化^[34]。Amano 等^[35]的研究表明蟾毒灵通过激活 MAPK 级联反应信号及增加维生素 D 受体 (VDR) 的表达, 从而产生与活性维生素 D-3 [1,25(OH)-2D-3] 等分化诱导剂的协同诱导作用。

2.1.4 逆转肿瘤细胞多药耐药性 王珏莲等^[36]研究发现蟾酥对白血病细胞有抑制作用, 可降低其 mRNA 的表达, 机制可能是通过下调 MDR1 基因的表达水平进而逆转白血病细胞耐药性。

2.1.5 抑制肿瘤血管的形成和内皮细胞的增殖 血管新生是肿瘤生长、侵袭、转移过程中的 1 个重要环节。因此抑制肿瘤的血管生成是肿瘤治疗的新策略。王南瑶等^[37]研究发现华蟾毒基在体外可以抑

制内皮细胞生长,在体内、外均可下调血管内皮生长因子和表皮生长因子的表达,表明华蟾酥毒基具有抗肿瘤血管生成的作用。

2.1.6 直接杀伤恶性肿瘤细胞 华蟾酥毒基对细胞膜有直接破坏作用,研究表明华蟾酥毒基能使人肝癌 HepG2 细胞膜通透性改变,继而引起细胞器水肿变性从而死亡。辛秀兰等^[38]运用蟾酥粗提物对荷瘤小鼠肿瘤细胞形态超微结构电镜观察显示,使用蟾酥提取物后,肿瘤细胞核膜皱缩、断裂,线粒体出现肿胀和空泡样改变,表明蟾酥提取物对肿瘤细胞有直接杀伤作用。

2.2 对心血管系统作用

2.2.1 强心作用 蟾酥中的蟾毒配基类和蟾蜍毒素类成分有类似洋地黄的强心作用,属强心甙类化合物,前者作用更明显,能直接增强心肌收缩力。对蟾酥的三氯甲烷提取物进行研究,并分离得到脂蟾毒配基、华蟾毒配基、蟾毒灵等 6 个强心甙类化合物,其强心作用类似洋地黄,能直接增强心肌的收缩力。在一定范围内,蟾蜍的心率随着蟾酥浓度的增大而加快。李华等^[39]的研究显示,蟾酥发挥强心作用的机制可能是其中的有效成分抑制了心肌细胞膜上的 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性(心肌细胞膜 Na^+ , K^+ -ATP 酶的主要作用是心肌细胞兴奋后 Na^+ 、 K^+ 的恢复,帮助 K^+ 由细胞膜外进入细胞膜内, Na^+ 从细胞内运输到细胞膜外,使细胞膜外 K^+ 的浓度轻度升高)。通过抑制 Na^+ , K^+ -ATP 酶的活性,使心肌更容易兴奋,造成心肌提前去极化,引起舒张压升高,表现为心率加快^[40-41]。蟾酥和毒毛花苷元 G 增进犬心肌收缩力程度及作用时间的机制基本相似^[42]。

2.2.2 对血压的作用 蟾酥的升压作用与肾上腺素相似,升压作用主要来自于外周血管的收缩,部分来自心动作用。动物实验表明^[43],蟾毒配基类化合物对失血性休克大鼠有明显的升压作用,其强度随剂量增大而增强。脂蟾毒配基、华蟾毒配基及蟾毒灵等均具有显著的呼吸兴奋和升压等中枢性兴奋作用,其呼吸兴奋作用较洛贝林和可拉明强。蟾酥中蟾毒配基类等亲脂性成分为强心、升高血压作用的主要物质;同时蟾酥中亲水性成分又有降血压作用。蟾酥还具有增加心肌供氧量等作用。

2.2.3 抗心肌缺血作用 蟾酥可以延长纤维蛋白原液的凝固时间,其抗凝作用与尿激酶类似,从而增加冠状动脉灌流量。对于血栓导致的冠状动脉血管狭窄而引起的心肌梗死等缺血性心肌障碍,蟾酥

能增加心肌营养性血流量、改善微循环、增加心肌供氧。蟾酥能对家兔缺血再灌注损伤起到保护作用,有效改善其心肌能量代谢,减轻心肌损伤^[43]。

2.3 抗菌作用

2.3.1 抑制金黄色葡萄球菌 郭满^[44]将蟾酥溶液作用于金黄色葡萄球菌,在加入蟾酥溶液 3~9 h 菌体细胞发生明显细胞质渗透,随着蟾酥溶液浓度的增加电解质的渗透效果越明显,待到 9 h 之后,电解质渗透程度变化平稳,未有加重趋势,说明蟾酥可以改变金黄色葡萄球菌生物被膜通透性,使菌内物质外渗,其作用随着蟾酥溶液浓度增加而增强。该实验初步检测到蟾酥对金黄色葡萄球菌生物被膜的抑制作用,其作用机制可能是蟾酥抑制菌体相关基因的表达或者降低其酶的活性,阻断了金黄色葡萄球菌二元信号系统、群体感应系统的调控作用,抑制了金黄色葡萄球菌生物被膜的形成。

2.3.2 抑制大肠杆菌 闫兵等^[45]研究了蟾酥对活体家兔体内大肠杆菌抑制作用,向家兔耳缘 iv 1 mL 质量浓度为 2 mg/mL 的蟾酥药液后,观察活体家兔体内大肠杆菌菌落的变化。结果显示,给带菌家兔 iv 蟾酥药液后,大肠杆菌的平均菌落数由 17.66 个降到 1.5 个,由于蟾酥毒素中含有不饱和内脂环及抗菌肽等物质,抗菌肽主要作用于膜脂质的基质,通过物理、化学机制作用于细胞骨架,使膜的通透性增大,形成贯通膜的离子通道,破坏了细胞膜的通透性,抑制了菌体的生长。

2.3.3 抑制痢疾杆菌 闫兵^[46]对蟾酥抑制痢疾杆菌的作用进行研究,发现不同浓度的蟾酥对痢疾杆菌的抑制作用不同,在质量浓度为 1~12 mg/mL 时,作用逐渐减弱,可能是蟾酥中的抗菌肽影响细菌细胞膜通透性,造成细菌不易产生抗药性。因此,蟾酥将成为防治痢疾杆菌的新药来源。

2.3.4 抑制柠檬色葡萄球菌 孙沛颖等^[47]将蟾酥配制成不同浓度梯度的蟾酥药液,运用琼脂扩散法研究蟾酥对柠檬色葡萄球菌的作用,测定其抑菌圈直径。实验结果表明,蟾酥对柠檬色葡萄球菌具有抑菌作用,随着蟾酥药液浓度的增高,抑菌作用变化不大。蟾酥发挥抑菌作用的机制为阻碍其核酸的合成,或直接作用于 DNA 结构阻碍其正常发挥功能,使细胞内各种生命活动受到影响,从而抑制其生长和繁殖;通过改变柠檬色葡萄球菌可溶性蛋白的量起到抑菌作用;诱导柠檬色葡萄球菌菌体产生降解细胞膜的酶,提高了细胞膜的通透性或使细胞

膜破裂,胞内物质外泄,使菌体不能正常生长繁殖,达到抑菌作用;使柠檬色葡萄球菌细胞质固缩,空腔增大,细胞代谢无法正常进行,最终导致菌体死亡;通过抑制柠檬色葡萄球菌的蛋白质、胞外多糖和胞外淀粉酶、蛋白酶、脂酶等的合成而产生抑菌作用;通过抑制菌体的呼吸代谢而产生抑菌作用。

2.3.5 其他 余道军等^[48]研究了蟾酥对携带多种耐药基因的大肠埃希菌的作用,结果显示蟾酥可以逆转耐药大肠埃希菌的耐药性,作用机制可能与其抑制耐药基因表达有关。有实验表明蟾酥对甲型溶血性链球菌感染的家兔抑菌效果明显,对一些抗生素不敏感或对抗生素已产生耐药性的化脓性疾患亦有抑制效果,并能抑制毛细血管通透性的增高,减少药性溢出,益于肿胀的消除。蟾酥的抑菌作用仍然在研究中,可能会有更多的抑制菌种被发现。

2.4 镇痛和麻醉作用

蟾酥具有良好的止痛作用,历代医家将其作为麻醉药物之一,内服或外用于手术前局部麻醉。通常认为是由于蟾酥内含有作用较强的局麻成分脂蟾毒配基类物质,其中蟾毒灵的表面麻醉效力接近可卡因的 90 倍。研究发现,蟾酥能直接抑制神经纤维动作电位的形成、传导,产生神经阻滞麻醉作用。蟾酥 80%乙醇水提取物具有表面麻醉作用,主要通过选择性作用于感觉神经末梢而产生局部麻醉作用,将其涂于宫颈内及宫颈表面,为 6~12 周孕妇做人工流产,结果显示其镇痛效果、宫颈松弛程度、流产后综合征发生率、出血量、子宫收缩程度各指标均优于利多卡因对照组。近年来临床应用蟾酥治疗癌性疼痛疗效显著,如复方制剂蟾酥膏对肺、肝、胃等多种癌症疼痛患者的止痛作用强于 WHO 三阶梯药物,有效率为 93.2%,显效率为 75%。

杨琳等^[49]以蟾酥的脂溶性提取物(20% 1,2-丙二醇溶液溶解)作用于小鼠,以扭体法和热板法来检测其对化学刺激引起的疼痛和热板刺激引起的疼痛的影响,结果表明,与对照组相比,蟾酥脂溶性提取物能显著降低小鼠扭体次数,显著提高小鼠热板痛阈值。

2.5 其他作用

蟾酥还具有抗炎、抗病毒、抗辐射、镇咳、利尿、调节免疫等多方面药理活性,可广泛用于相关疾病的治疗^[50]。

3 安全性评价

Chan 等^[51]研究发现,鼠胚处于器官形成期的孕

鼠在 ip 蟾酥后,当剂量高于 50 mg/kg 时,出现孕鼠肝脏、肾脏的结构异常和体质量下降,并增加胚死亡率。上述研究结果提示,孕妇或需长期服用蟾酥的患者,应注意用药期间的不良反应。

李兴平等^[52]经实验证实小鼠蟾酥中毒的表现与临床试验相似,小鼠 ig 给予蟾酥 14 d 的急性毒性半数致死量(LD₅₀)为 600.6 mg/kg。人服用蟾酥的 LD₅₀为 0.359 mg/kg,一般内服量为 3~5 mg/d,最大不能超过 135 mg/d。赵明芳等^[53]研究发现 0.5~5 mg/kg 的蟾蜍毒素混合物可以明显抑制荷瘤小鼠体内 H₂₂ 肿瘤细胞的生长,当其混合物达到 5 mg/kg 时则会损伤肝脏。

急性毒性实验结果表明,蟾酥各种成分对小鼠 LD₅₀: 蟾酥为 41.0 (iv)、96.6 (sc)、36.24 (ip) mg/kg; 蟾毒灵为 2.2 mg/kg (ip); 华蟾毒精为 4.38 mg/kg (ip); 脂蟾毒配基为 4.25 (快速 iv)、15 (慢速 iv)、14 (ip)、124.5 (sc)、64 (ig) mg/kg。蟾蜍它灵对狗的 LD₅₀ 接近 0.36 mg/kg (iv), ig 最小致死量接近 0.98 mg/kg。iv 或 ip 蟾酥注射液,小鼠急性中毒特征为呼吸急促、肌肉痉挛、心律不齐,最后麻痹而死,阿托品对此有一定的解毒作用,肾上腺素则无作用。蟾酥经煮沸后毒性大减。蟾蜍毒素类化合物长期或过量服用也可出现消化及神经系统中毒症状。蟾毒色胺类化合物有致幻作用。儿茶酚类化合物可引起各器官组织的微小血管剧烈收缩,导致组织缺血缺氧^[54]。

4 结语

综上所述,蟾酥含有多种活性成分并具有多种药理作用。脂溶性的蟾酥配基既是有效成分又具有毒性成分,需要深入探讨其有效性与毒性的剂量阈值,开发出更加严密有效的提取工艺和定量测定方法。目前有关蟾酥药理作用的研究热点主要集中于其抗肿瘤和强心作用的机制方面。随着分子生物学、药物化学和药物代谢研究的不断深入,可更加科学准确地阐明蟾毒甾烯类成分的活性和毒性机制,研制低毒、高效、稳定、质量可控的蟾酥药品,促进蟾酥在临床上更广泛和安全合理的应用。

参考文献

- [1] 赵威. 蟾酥清热解毒作用研究进展 [J]. 临床军医杂志, 2016, 44(1): 105-107.
- [2] 秦姿凡, 王保和. 中药蟾酥的研究进展概况 [J]. 中国药物评价, 2014, 31(5): 306-309.
- [3] 吴喜燕, 高慧敏, 王智民. 蟾蜍类药材化学成分研究进

- 展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14): 207-214.
- [4] Krenn L, Kopp B. Bufadienolides from animal and plant sources [J]. *Phytochemistry*, 1998, 48(1): 1-29.
- [5] Steyn P S, Heerden F R V. Bufadienolides of plant and animal origin [J]. *Nat Prod Rep*, 1998, 15(4): 397-413.
- [6] 张英, 邱鹰昆, 刘珂, 等. 中华大蟾蜍的研究进展 [J]. 中草药, 2006, 37(12): 1905-1908.
- [7] 乔莉, 段文娟, 姚遥. 蟾酥中强心甙类化学成分的分离与鉴定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 10(24): 611-614.
- [8] Nogawa T, Kamano Y, Yamashita A, et al. Isolation and structure of five new cancer cell growth inhibitory bufadienolides from the Chinese traditional drug Chansu [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64(9): 1148-1152.
- [9] Tashmukhamedov M S, Mirzaakhmedov S Y, Ibragimov B T, et al. Arenobufagin and gamabufotalin from the venom of the Central Asian green toad *Bufo viridis*. Introduction, structural functional features [J]. *Chem Nat Comp*, 1995, 31(2): 214-220.
- [10] Kamano Y, Nogawa T, Kotake A, et al. Separation of toad poison bufadienolides by hydrophobic gel [J]. *J Liquid Chromatogr Related Technol*, 1999, 22(16): 2455-2465.
- [11] 张英, 邱鹰昆, 陈继勇, 等. 中华大蟾蜍皮的化学成分 [J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(8): 484-487.
- [12] Gao H M, Zehl M, Kaehlig H, et al. Rapid structural identification of cytotoxic bufadienolide sulfates in toad venom from *Bufo melanostictus* by LC-DAD-MS_n and LC-SPE-NMR [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(4): 603-608.
- [13] Ye M, Guo H, Guo H Z, et al. Simultaneous determination of cytotoxic bufadienolides in the Chinese medicine Chan Su by high-performance liquid chromatography coupled with photodiode array and mass spectrometry detections [J]. *J Chromatogr B*, 2006, 838(2): 86-95.
- [14] Xin X L, Lan R, Huang J, et al. A new cytotoxic bufadienolide from Chinese medicine Chansu [J]. *Chin Chem Lett*, 2008(19): 1445-1446.
- [15] 张鹏伟, 江仁望, 叶文才, 等. 中华大蟾蜍蟾酥中蟾毒内酯类化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(5): 841-845.
- [16] Chen H, Meng Y H, Guo D A, et al. New cytotoxic 19-norbufadienolide and bufogargarizin isolated from Chan Su [J]. *Fitoterapia*, 2015, 104: 1-6.
- [17] Höriger N, Živanov D, Linde H H A, et al. Weitere bufadienolide aus Chan Su. Über krötengifte, 39. Mitteilung [J]. *Helvetica Chimica Acta*, 1972, 55(7): 2549-2562.
- [18] Tian H Y, Zhang P W, Liu J S, et al. New cytotoxic C-3 dehydrated bufadienolides from the venom of *Bufo bufo gargarizans* [J]. *Chin Chem Lett*, 2014, 25(7): 1104-1106.
- [19] Kamano Y, Nogawa T, Yamashita A, et al. Isolation and structure of a 20, 21-epoxy bufenolide series from "chansu" [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65(7): 1001-1005.
- [20] 张屏, 崔征, 刘雅姝, 等. 蟾酥中吡啶烷胺类生物碱的分离与结构鉴定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(4): 216-219.
- [21] 代英辉, 沈博, 等. 蟾酥中一个新的蟾毒色胺类化合物 [A] // 第一届《药学报》药学前沿论坛暨 2015 年中国药学会中药与天然药物专业委员会会议论文摘要集 [C]. 天津: 中国药学会中药与天然药物专业委员会, 2015.
- [22] Yoshiaki K, Ayano K, Rui T, et al. Structure of the new alkaloids bufobutanoic acid and bufopyramide in Chan Su, and conformation of bufarenogin and X-bufarenogin [J]. *TennenYuki Kagobutsu Toronkai Koen Yoshishu*, 1998, 40: 395-400.
- [23] 冯秀娟, 陈大健, 李忠生, 等. 蟾蜍的化学成分及其临床应用 [J]. 中兽医学杂志, 2007(3): 36-38.
- [24] Zhang Y, Tang X, Liu F, et al. Simultaneous determination of three bufadienolides in rat plasma after intravenous administration of bufadienolides extract by ultra performance liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2008(610): 224-231.
- [25] 朱全飞. 蟾酥和西藏胡黄连化学成分的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.
- [26] 周莹, 吉爱国, 宋淑亮. 蟾酥的应用研究 [J]. 中国生化药物杂志, 2009, 30(3): 203-205.
- [27] 高瑞霖, 邵义祥. 蟾酥的临床应用 [J]. 中国临床康复, 2006, 30(35): 142-144.
- [28] 于垂亮, 侯惠民. 蟾酥抗肿瘤有效成分的活性追踪分离及急性毒性研究 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 307-311.
- [29] 韩欣汝, 吴世福, 张超, 等. 脂蟾毒配基、华蟾酥毒基、蟾毒灵配伍对 BEL-7402 人肝癌细胞的抑制作用 [J]. 山东中医药大学学报, 2014, 38(3): 266-269.
- [30] 王贺双. 华蟾毒配基抗肿瘤作用研究及安全性评价 [D]. 大连: 大连理工大学, 2010.
- [31] 曹飞, 康小红, 曹向军, 等. 华蟾酥毒基诱导人骨肉瘤细胞 U-2OS 凋亡的实验研究 [J]. 中医学报, 2015, 30(7): 945-947.
- [32] 于海涛. 脂蟾毒配基抑制骨肉瘤临床前实验研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2014.
- [33] 寇冠军, 秦姿凡, 邓雅芳, 等. 蟾酥的研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(21): 3185-3189.
- [34] 殷佩浩. 中药蟾酥的研究进展 [J]. 上海医药, 2015, 36(10): 3-6.
- [35] Amamo Y, Cho Y, Matsunawa M, et al. Increased nuclear expression and transactivation of vitamin D receptor by the cardiotonic steroid bufalin in human myeloid leukemia cells [J]. *Steroid Biochem Mol Biol*, 2009, 114(35): 144-151.
- [36] 王珏莲, 古学奎, 刘安平, 等. 蟾酥逆转人白血病 K562/DOX 细胞多药耐药的实验研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(3): 280-283.

- [37] 初京波, 赵丽梅, 李 蕾. 蟾酥的抗肿瘤作用及作用机制 [J]. 山西中医, 2012, 28(7): 54-55.
- [38] 辛秀兰, 张宝璟, 苏东海, 等. 中药蟾酥的药理作用研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(3): 588-590.
- [39] 李 华, 王仁俊, 欧阳菲, 等. 蟾酥对蟾蜍心电活动的影响 [J]. 吉林师范大学学报, 2014(3): 142-144.
- [40] Xia X L, Jin H Z, Yan S K, *et al.* Analysis of the bioactive constituents of Chansu in rat plasma by high Performance liquid chromatography with mass spectrometric detection [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53(3): 646-654.
- [41] 蒋洁君, 周 婧, 马宏跃, 等. 蟾酥对豚鼠心脏电生理的影响 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2011, 25(3): 307-309.
- [42] 王浩天. 蟾酥中有效成分的提取分离及抗肿瘤效果的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2007.
- [43] 刘彦彦. 蟾酥药理作用研究进展 [J]. 河南农业, 2014, 18(9): 59-60.
- [44] 郭 满. 蟾酥对金黄色葡萄球菌抑菌作用及机理的初步研究 [D]. 牡丹江: 牡丹江师范学院, 2015.
- [45] 闫 兵, 郑险峰. 蟾酥对活体家兔体内大肠杆菌抑制作用研究 [J]. 牡丹江师范学院学报: 自然科学版, 2011(1): 11-12.
- [46] 闫 兵. 蟾酥对痢疾杆菌抑菌作用的影响 [J]. 牡丹江师范学院学报: 自然科学版, 2010(4): 30-31.
- [47] 孙沛颖, 潘一鸣, 闫 兵. 蟾酥对柠檬色葡萄球菌的抑菌作用 [J]. 牡丹江师范学院学报: 自然科学版, 2015(4): 46-48.
- [48] 余道军, 徐叶艳. 蟾酥逆转大肠埃希菌耐药性的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(5): 1033-1035.
- [49] 杨 琳, 段鹏飞, 王 琼, 等. 蟾酥脂溶性提取物的分离分析及其镇痛、抗肿瘤作用研究 [J]. 氨基酸和生物资源, 2007, 29(1): 64-67.
- [50] 马珊珊. 蟾酥总内酯脂质体制备及其体外释放特性 [D]. 广州: 华南农业大学, 2012.
- [51] Chan W Y, Ng T B, Yeung H W. Examination for toxicity of a Chinese drug, the toad glandular secretory product chan su, in pregnant mice and embryos [J]. *Biol Neonate*, 1995, 67(5): 376-380.
- [52] 李兴平, 雷 玲, 胡竞一, 等. 蟾酥的急性毒性和丹羚心舒胶囊急性毒性研究 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(6): 127-129.
- [53] 赵明芳. 蟾蜍毒素和华蟾素对 H22 和 S180 荷瘤小鼠的疗效及毒副作用的实验研究 [D]. 南京: 中国医科大学, 2003.
- [54] 张慧卿, 殷子斐, 盛佳钰, 等. 蟾酥的临床应用与研究现状 [J]. 临床军医杂志, 2012, 40(2): 477-480.

.....

(上接第 2578 页)

- [56] 魏 伟, 吴希美, 李园建, 等. 药理实验方法学 [M]. 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [57] 田翠平, 瞿伟青, 孙 斌, 等. 甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠的降血糖作用研究 [J]. 营养学报, 2003, 25(1): 29-32.
- [58] 柳俊辉, 周小雷, 翁铭钻, 等. 广西甜茶多酚对四氧嘧啶致糖尿病小鼠的降血糖作用 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(6): 51-54.
- [59] 吴燕春, 吴 冬, 谢金鲜, 等. 广西甜茶总黄酮的体外抗肿瘤作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 165-167.
- [60] 黄荣岗, 杨家庆, 何家靖, 等. 广西甜茶提取物体内抗肿瘤实验研究初探 [J]. 广东药学院学报, 2012, 28(2): 173-175.
- [61] 钟正贤, 周桂芬, 陈学芬, 等. 广西甜茶提取物药理研究 [J]. 时珍国医国药, 2000, 11(10): 867-868.
- [62] 刘鸿雁, 何克新, 李 莉. 甜茶皂甙对口腔变形链球菌的粘附性影响 [J]. 临床口腔医学杂志, 2009, 25(2): 67-68.
- [63] 黄丽微, 何克新. 甜茶甙和木糖醇对变形链球菌合成水不溶性胞外多糖的对比研究 [J]. 广西医学, 2010, 32(3): 265-266.
- [64] 何克新, 黄丽微, 陈文霞, 等. 甜茶甙对变形链球菌葡萄糖基转移酶的影响 [J]. 广东牙痛防治, 2010, 18(5): 230-233.
- [65] 刘延昌. 甜茶护齿含片对口腔 4 种常驻菌的体外实验研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2012.
- [66] 梁 坚, 赵 鹏, 李 彬, 等. 甜茶致突变作用的研究 [J]. 癌变·畸变·突变, 2003, 15(2): 107-108.
- [67] 郑 华, 计可为, 周莲清, 等. 甜茶素对棕榈酸诱导 INS-1 细胞超微结构及 CytC 易位表达的保护作用 [J]. 中国民族民间医药, 2015, 24(24): 16-26.
- [68] 梁 坚, 赵 鹏, 李 彬, 等. 甜茶的急性和长期毒性研究 [J]. 广西医学, 2003, 25(12): 2394-2397.
- [69] 胡 楠. 甜叶悬钩子苷的分离纯化及功能研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2013.