

## 斑蝥素及去甲斑蝥素对小鼠毒性靶器官的影响

范潇婷, 于睿鹏, 董瑞娟, 罗广彬\*, 马志涛\*  
(北京中医药大学 生命科学院, 北京 100029)

**[摘要]** **目的:**比较斑蝥素及去甲斑蝥素对小鼠的毒性作用及两者靶器官损伤程度的差异。**方法:**取 Balb/c 小鼠,采用概率单位法计算获得斑蝥素与去甲斑蝥素的半数致死量(median lethal dose, LD<sub>50</sub>)。以 1/2 LD<sub>50</sub>作为毒性研究给药剂量,连续灌胃给药 2 周。2 周后取血检测血清丙氨酸氨基转移酶(ALT),天冬氨酸氨基转移酶(AST),尿素氮(BUN)水平,取肝、肾、小肠和膀胱进行病理组织学观察比较。**结果:**斑蝥素和去甲斑蝥素 LD<sub>50</sub>分别为 2.045, 20.966 mg·kg<sup>-1</sup>。分别以 1/2 LD<sub>50</sub>给药剂量给小鼠灌胃 2 周后,血清学检测结果表明,与正常组比较,斑蝥素组无显著差异;去甲斑蝥素可导致 ALT, BUN 水平显著性升高。肝、肾病理结果表明,与正常组比较,斑蝥素组肝肾轻微病变,去甲斑蝥素组可见肝脏炎性细胞浸润,肝细胞空泡变样,肾小球和小管弥漫性损伤。小肠病理结果表明,斑蝥素组导致肠道淋巴结肿大并分叶,去甲斑蝥素组症状较轻。膀胱病理表明,斑蝥素组发现血管炎症、膀胱移行上皮或黏膜层炎症反应,去甲斑蝥素组轻微移行上皮炎症反应。**结论:**临床前动物模型结果表明,去甲斑蝥素的毒性主要表现在肝脏和肾脏,斑蝥素的毒性作用主要表现为小肠和膀胱。

**[关键词]** 斑蝥素; 去甲斑蝥素; 急性毒性; 肝肾毒性; 膀胱毒性

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)15-0118-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017150118

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170511.0939.058.html>

**[网络出版时间]** 2017-05-11 9:39

## Toxicity of Cantharidin and Norcantharidin in Mice

FAN Xiao-ting, YU Rui-peng, DONG Rui-juan, LUO Guang-bin\*, MA Zhi-tao\*  
(School of Life Science, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the toxicities and organ injuries of cantharidin and norcantharidin in mice. **Method:** Balb/c mice were treated with cantharidin or norcantharidin at different doses for two weeks to determine their median lethal dose (LD<sub>50</sub>) by the probability unit regression analysis method. Other mice were treated with 1/2 LD<sub>50</sub> of the respective drugs for 2 weeks. At the end of the treatment, tissue samples from livers, intestines, kidneys and bladders were collected for pathological analyses. **Result:** LD<sub>50</sub> of cantharidin and norcantharidin were 2.045 and 20.966 mg·kg<sup>-1</sup>. Norcantharidin caused significant increases in alanine aminotransferase (ALT) and urea nitrogen (BUN). Norcantharidin caused inflammatory cell infiltration and sponge-like change in liver, and injuries in glomeruli and renal tubules. Cantharidin led to increases in intestinal lymph nodes and lobulation in the intestine, vascular, bladder and mucosa inflammations. **Conclusion:** Treatments with 1/2 LD<sub>50</sub> dose of norcantharidin and cantharidin led to distinct organ/tissue-specific injuries in mice. Norcantharidin caused severe injuries in liver and kidney, while cantharidin led to severer injuries in intestinal and bladder than norcantharidin.

**[Key words]** cantharidin; norcantharidin; acute toxicity; hepatorenal toxicity; bladder toxicity

**[收稿日期]** 20170320(020)

**[基金项目]** 北京中医药大学自主选题项目——特聘教授启动基金项目(1040053310002/002)

**[第一作者]** 范潇婷, 硕士, 从事肿瘤转化医学研究, Tel:18810550905, E-mail:15150685602@163.com

**[通讯作者]** \* 罗广彬, 博士, 教授, 从事肿瘤转化医学研究, Tel:010-64286526, E-mail:luol35@hotmail.com;

\* 马志涛, 博士, 助理研究员, 从事肿瘤转化医学研究, Tel:010-64286526, E-mail:mzht@buem.edu.cn

肝癌是一种在全世界范围内发病率一直处于增高趋势的疾病,由于早诊困难,原发性肝癌在早期几乎无症状,大部分肝癌发现时都已属于中晚期,由于合并其他肝脏疾病,如肝硬化和肝功能的异常等,都不能满足接受外科手术的条件。索拉芬尼(Sorafenib)作为到目前为止唯一的得到美国药监局批准的肝癌临床药物,患者产生耐药及不良反应等原因使其疗效尚很不理想<sup>[1]</sup>。因而,研发更有效的抗肝癌新药及新疗法已成为一项极为急迫的任务。中药斑蝥为芫青科昆虫南方大斑蝥或黄黑小斑蝥的干燥全虫,普遍认为其对恶性肿瘤有一定的疗效。目前中成药复方斑蝥胶囊已用于临床癌症治疗,尤其是原发性肝癌、乳腺癌等疾病的治疗<sup>[2-3]</sup>。近年来科学研究表明,其活性成分斑蝥素(cantharidin, CTD)具有显著的抗肿瘤活性<sup>[4-7]</sup>。CTD能够高效的减少癌细胞对氨基酸的摄取,抑制蛋白质合成,增强机体对肿瘤细胞的杀伤作用。其衍生物去甲斑蝥素(norcantharidin, NCTD)是中国食品药品监督管理局CFDA批准的临床抗癌药物,NCTD扩大了安全剂量范围,改变了组织特异性,增加了临床适应证。但两药均有不良反应的限制,临床应用尚很有限。目前,药物诱发胃肠道及泌尿系统毒性的生物学基础研究取得了一定进展,有望通过对这类药物的抗癌和不良反应机制及相应生物学基础进一步了解,达到减毒增效,提高临床疗效的目的。本研究通过对CTD和NCTD的1/2半数致死量(median lethal dose, LD<sub>50</sub>)浓度下毒性靶器官受影响的比较,以期明确两药在治疗时组织特异性的不同,为提高临床治疗效果提供帮助。

## 1 材料

**1.1 动物** 正常5周龄SPF级雌性Balb/c小鼠104只,体重(15±1)g,由北京斯贝福实验动物技术有限公司提供,合格证号SCXK(京)2016-0002。小鼠饲养于北京中医药大学SPF级动物实验室,经北京中医药大学实验动物伦理委员会批准(批号2015BZHYLL0201),符合实验动物伦理委员会规定。

**1.2 药物试剂与试剂盒** CTD(成都曼思特生物科技有限公司,批号MUST-16030502);NCTD(瀚香生物科技有限公司,批号L016032809);羧甲基纤维素钠(国药集团化学试剂有限公司,批号20140520);丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST),尿素氮(BUN)试剂盒(南京建成科技有限公司,批号分别为20160608,20160917,20161208);

糖原PAS染色试剂盒(美国Solarbio公司,批号20161120)。

称取羧甲基纤维素钠5g溶于双蒸水1000mL,加热溶解制成0.5%羧甲基纤维素钠溶液,冷却备用。CTD 20mg溶于0.5%羧甲基纤维素钠溶液5mL中,超声100MHz,20min至药物完全混匀,制成4g·L<sup>-1</sup>混悬液,4℃保存。称取NCTD 100mg,将其溶于0.5%羧甲基纤维素钠溶液10mL,制成10g·L<sup>-1</sup>混悬液,4℃保存备用。

**1.3 仪器** Centrifuge 5417R型离心机(德国Eppendorf公司),xMark 10092型酶标仪(美国Bio-Rad公司),ASP200S型组织脱水仪,EG1150H型包埋仪,RM2235型切片仪(德国莱卡公司)。

## 2 方法

**2.1 LD<sub>50</sub>测量** 根据预实验结果,CTD的最小全部致死剂量为3.0mg·kg<sup>-1</sup>,NCTD为30mg·kg<sup>-1</sup>。由于LD<sub>50</sub>的求算造成了不必要的动物等资源浪费,受到了广泛的伦理学批评。药物研究通常没有必要求出精确的LD<sub>50</sub>,所关注的是动物出现毒性与剂量间的量效关系<sup>[8]</sup>。概率单位法计算简便易行,无需出现全部致死剂量且各剂量间无需等间隔和等量分组,所得结果与寇氏法及线性回归法无显著性差异,因此结果数据将根据概率单位法来计算<sup>[9]</sup>。设计实验剂量时不再重复预实验中LD<sub>100</sub>的给药剂量,为此设CTD 5个给药剂量(2.4,2.0,1.6,1.2,1.0mg·kg<sup>-1</sup>)组,NCTD 5个给药剂量(24,20,16,12,10mg·kg<sup>-1</sup>)组,小鼠适应性喂养1周后,随机分成10组,每组8只。同时设正常组,小鼠每隔24h灌胃给药1次,连续给药2周。给药期间观察并记录小鼠生存情况。给药结束后,按照概率单位法,将给药剂量及死亡率对应变化成对数剂量和概率单位,计算得两药的LD<sub>50</sub>及置信区间。

### 2.2 毒性靶器官比较

**2.2.1 动物分组和给药** 小鼠适应性喂养1周后,随机分成3组,每组8只。其中包括正常组,给0.5%羧甲基纤维素钠溶液;CTD组,以1/2LD<sub>50</sub>剂量灌胃给药;NCTD组,以1/2LD<sub>50</sub>剂量灌胃给药。每组小鼠每隔24h灌胃1次,同时观察并记录小鼠体重及存活情况。2周后,按照体重腹腔注射5%水合氯醛溶液麻醉小鼠,待小鼠无角膜反射后固定并解剖小鼠。以一次性1mL无菌注射器腹主动脉取血0.6mL左右,转入普通无菌离心管静置,使血液分层,之后4℃,3000r·min<sup>-1</sup>离心15min,进一步分离血清,-80℃保存待用。组织器官取样,取小

鼠全肝、双肾、小肠(十二指肠位置开始 3 cm)、膀胱,小鼠各组织按组别立即放入生理盐水中轻微浸泡后,放入 10% 甲醛溶液固定。

**2.2.2 血清 ALT,AST,BUN 水平检测** 取正常组,CTD 组和 NCTD 组的小鼠血清,按照 ALT,AST,BUN 试剂盒说明书步骤处理血清样品,放入酶标仪检测 ALT,AST,波长设置为 510 nm,检测 BUN,波长设置为 630 nm。读取吸光度 A,分析计算。

**2.2.3 组织病理学检测** 取血后处死小鼠,无菌操作摘取肝、肾、小肠、膀胱。经 10% 甲醛固定、乙醇脱水、石蜡包埋后,制成 4 μm 石蜡切片。HE 染色,组织石蜡切片常规脱蜡到水,苏木素染色 5 min,盐酸乙醇分化,水洗返蓝,待细胞核清晰后,伊红染液 5 min,水洗,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。显微镜下观察组织病理学改变。

Masson 染色,肝脏组织石蜡切片常规脱蜡到水,Masson 复合染液染色,梯度酒精脱水、二甲苯透明、中性树脂封片。显微镜下观察组织胶原纤维变化。

PAS 染色,肾脏组织石蜡切片常规脱蜡到水,置于过碘酸溶液中 8 min。自来水冲洗 1 次,再用蒸馏水浸洗 2 次。Schiff Reagent 浸染 20 min。自来水冲洗 10 min。苏木素染色液 2 min。盐酸乙醇分化,水洗返蓝。逐级常规乙醇脱水。二甲苯透明,中性树脂封固。显微镜下观察组织炎症反应变化。

**2.3 统计学方法** 采用 SPSS 16.0 统计软件进行数据分析,结果采用  $\bar{x} \pm s$  表示。多组样本均数间比较采用 One-way ANOVA 检验, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 CTD 与 NCTD 不同给药剂量对小鼠存活的影响** Balb/c 小鼠给药剂量和死亡率情况根据概率单位法计算,分别得 CTD 和 NCTD 的 LD<sub>50</sub> 及 95% 置信区间(95% CI)。CTD LD<sub>50</sub> 2.045 mg·kg<sup>-1</sup>,95% CI(1.826, 2.264)。NCTD LD<sub>50</sub> 20.966 mg·kg<sup>-1</sup>,95% CI(18.608, 24.158)。NCTD LD<sub>50</sub> 约为 CTD 的 10 倍左右。

后续两药毒性实验中,两药的给药剂量为 1/2 LD<sub>50</sub>,为小鼠可耐受剂量,即 CTD 为 1 mg·kg<sup>-1</sup>,NCTD 为 10 mg·kg<sup>-1</sup>,用来比较 CTD 和 NCTD 引起小鼠生存状态,血清学水平,毒性靶器官,和各器官病理变化的差异。各组不同给药剂量对小鼠存活的影响见表 1。

表 1 CTD 与 NCTD 不同给药剂量对小鼠存活的影响(n=8)

Table 1 Different doses of cantharidin and norcantharidin on survival of mice(n=8)

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	死亡数/只	死亡率/%
空白	0	0	0
CTD	2.4	7	87.5
	2.0	4	50
	1.6	0	0
	1.2	0	0
	1.0	0	0
NCTD	24	6	75
	20	4	50
	16	0	0
	12	0	0
	10	0	0

**3.2 CTD 和 NCTD 1/2 LD<sub>50</sub> 剂量给药对小鼠生存状态的影响** 正常组小鼠自主活动正常,毛发正常生长。与正常组比较,CTD(1 mg·kg<sup>-1</sup>)组小鼠可见脖颈部毛发稀疏,皮肤依稀可见,胡须生长旺盛,自主活动减少。与正常组比较,NCTD(10 mg·kg<sup>-1</sup>)组可见四足、口耳鼻部皮肤颜色青紫,四肢厥冷。结果表明,CTD 和 NCTD 在 1/2 LD<sub>50</sub> 给药剂量下,小鼠中毒表现存在差异,并不完全相同。

**3.3 CTD 和 NCTD 1/2 LD<sub>50</sub> 剂量给药对小鼠血清 ALT,AST,BUN 水平的影响** 与正常组比较,CTD(1 mg·kg<sup>-1</sup>)组 ALT,BUN 水平无差异,NCTD(10 mg·kg<sup>-1</sup>)组 ALT,BUN 水平显著升高( $P < 0.01$ ),CTD(1 mg·kg<sup>-1</sup>)组和 NCTD(10 mg·kg<sup>-1</sup>)组 AST,BUN 水平均无差异。结果表明,1/2 LD<sub>50</sub> 剂量 NCTD 引起小鼠血清中 ALT,BUN 含量异常升高,AST 水平变化不明显。1/2 LD<sub>50</sub> 剂量 CTD 对小鼠 ALT,AST 和 BUN 均无显著影响。见表 2。

表 2 CTD 与 NCTD 对小鼠血液 ALT,AST,BUN 水平的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

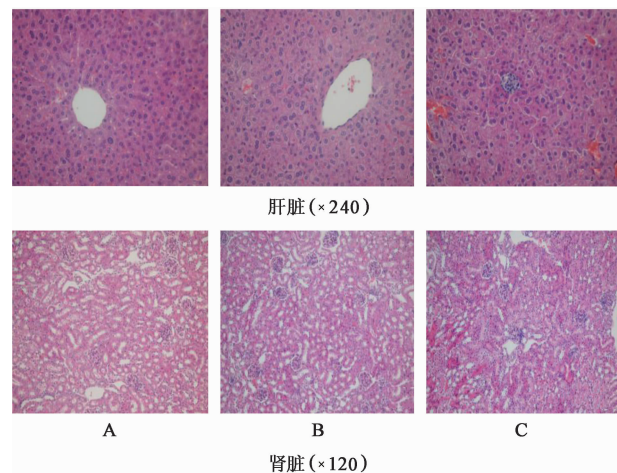
Table 2 Effect of CTD and NCTD on serum ALT, AST and BUN levels in mice( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	1/2 LD <sub>50</sub> 剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	ALT /U·L <sup>-1</sup>	AST /U·L <sup>-1</sup>	BUN /mmol·L <sup>-1</sup>
空白	-	27.57 ± 2.27	24.638 ± 0.851	4.608 ± 0.362
CTD	1	26.10 ± 2.45	25.005 ± 2.219	4.229 ± 0.470
NCTD	10	78.42 ± 17.55 <sup>1)</sup>	22.727 ± 0.917	7.111 ± 0.744 <sup>1)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ 。

**3.4 CTD 和 NCTD 1/2 LD<sub>50</sub> 剂量给药对小鼠肝、肾**

病理变化的影响 与正常组比较,CTD 给药组肝细胞呈轻微空泡样变化,细胞核位置居中,整体检查无炎性细胞浸润。NCTD 组肝细胞结构模糊,并伴有多处局灶性淋巴细胞聚集,炎性明显。与正常组比较,CTD 组肾组织结构正常,肾小球结构清晰,肾小管近曲小管轻微异变,远曲小管结构正常。NCTD 组肾小球囊膜结构不清,只见球细胞聚集,近曲小管管壁结构损坏,可见管壁细胞核散落管腔,远曲小管大部分结构不清,管壁细胞肿胀,以致管腔狭窄。结果表明,去甲斑蝥素组造成了更严重的肝肾病理变化,重于 CTD 组。见图 1。



A. 空白组;B. CTD( $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组;C. NCTD( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组(表 2~4 同)

图 1 CTD 与 NCTD 对小鼠肝脏、肾脏病理的影响(HE)

Fig. 1 Pathological changes in liver and kidney in mice after treatment with CTD and NCTD(HE)

**3.5 CTD 和 NCTD  $1/2 \text{ LD}_{50}$  剂量给药对小鼠小肠和膀胱病理变化的影响** 与正常组比较,CTD 组小肠淋巴小结因炎性反应不断发展而分叶,NCTD 组未出现此状况,只可见轻微炎性细胞聚集。CTD 组膀胱移行上皮细胞水肿,并伴有脱落新生,血管与移行上皮部分均出现炎性反应,NCTD 组膀胱组织则仅轻微炎性反应,接近正常。结果显示,相较于 NCTD,CTD 所引起的肠道、膀胱炎症反应则更为明显。见图 2。

**3.6 CTD 和 NCTD  $1/2 \text{ LD}_{50}$  剂量给药对小鼠肝脏胶原纤维变化的影响** 与正常组比较,两组给药组均未出现肝间质纤维化,但在 NCTD 组血管周围胶原丝增生明显,综合 2 次染色结果及血清中 ALT,AST 的水平检测结果表明,相较于 CTD,NCTD 所造成的肝组织损坏更为明显。见图 3。

**3.7 CTD 和 NCTD  $1/2 \text{ LD}_{50}$  剂量给药对小鼠肾脏炎症反应的影响** CTD 组肾小球结构正常,NCTD

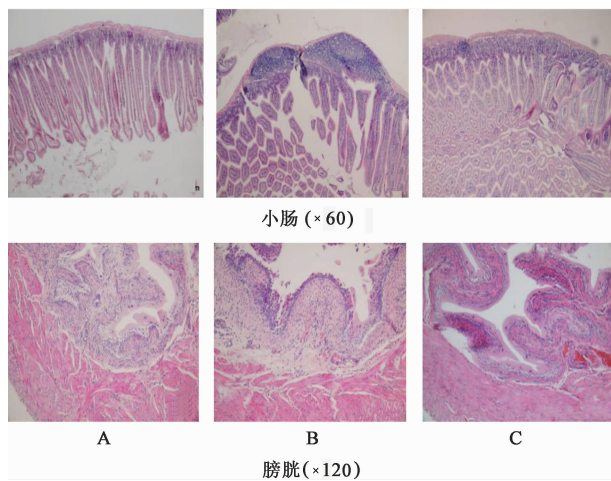


图 2 CTD 与 NCTD 对小鼠小肠和膀胱病理变化的影响(HE)

Fig. 2 Pathological changes in small intestine and bladder mice after treatment with CTD and NCTD(HE)

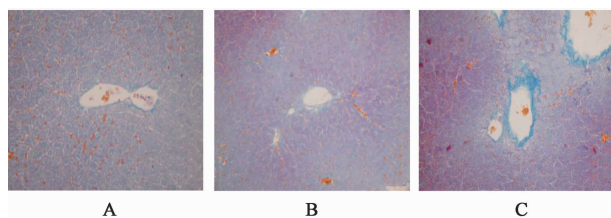


图 3 CTD 与 NCTD 对小鼠肝脏胶原纤维的影响(Masson,  $\times 120$ )

Fig. 3 Pathological changes in liver in mice after treatment with CTD and NCTD(Masson,  $\times 120$ )

组肾小球可见膜性细胞增生形成的新月体,肾小球周围小管内充满黏性物质。整体检查后表明,3 次检查 40 个肾小球,有 0,2,5 个肾小球出现新月体。综合 2 次染色结果及血清中尿素氮的水平检测结果表明,相较于 CTD,NCTD 所造成的肾组织损坏更为明显,提示有急性肾小球肾炎的可能。见图 4。

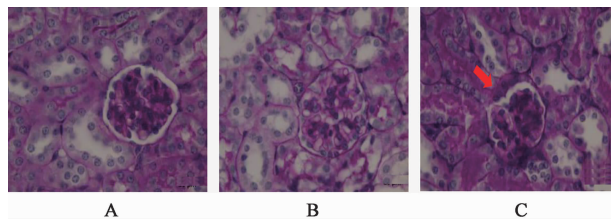


图 4 CTD 与 NCTD 对小鼠肾脏炎症反应的影响(PAS,  $\times 600$ )

Fig. 4 Pathological changes in kidney in mice after treatment with CTD and NCTD(PAS,  $\times 600$ )

#### 4 讨论

《中国药典》记载药斑蝥有破血消癥,功毒蚀疮,引赤发泡等作用,有大毒。复方斑蝥临床研究表明其对肝癌有抑制作用的主要有效成分为 CTD<sup>[10-12]</sup>。NCTD 自研发以来,以大大降低 CTD 的膀胱刺激性,并且具有升高白细胞的作用,被广泛

研究和使用的<sup>[13]</sup>。

本实验中,CTD 和 NCTD 在同样 1/2 LD<sub>50</sub> 下,2 周时间后小鼠产生了不同的毒性反应和不同的毒靶器官损伤程度。两药组中毒表现不同,CTD 在中药古方曾有促进毛发生长的作用<sup>[14]</sup>,在本实验中 CTD 组小鼠发生明显的胡须生长旺盛。NCTD 有不同的中毒反应,与血流颜色及温度相关。肝脏、肾脏为主要造血相关器官<sup>[15-16]</sup>,根据文献分析此中毒表现最大可能的相关为肝脏、肾脏所受的损害。

ALT 是衡量肝损伤程度的一个重要指标,当肝细胞变性、细胞膜通透性增加时,ALT 首先从细胞内逸出,释放入血<sup>[17]</sup>。肝细胞受损严重,疾病进一步恶化,破坏线粒体等结构,AST 也会随之进入血中。结果表明 NCTD 在此剂量此时间段内已经造成肝脏损伤,体现在 ALT 水平升高上,而 AST 并无差异,推测两周给药时间内,肝细胞损伤还未及发展到破坏线粒体。CTD 没有表现出对肝脏的损害,原因可能是 CTD 在此剂量下对肝脏组织损伤较轻。BUN 是衡量肾功能的重要指标,肾小球滤过率降低导致血清中尿素氮升高,提示存在肾脏功能衰竭、肾炎、泌尿道梗阻等病理变化。结果显示 NCTD 对肾脏组织的急性损害更为明显,CTD 在 BUN 水平上并未表现出对肾脏的损害。结合各项生化指标推测,一是 NCTD 的毒性靶器官为肝脏和肾脏,二是 NCTD 大剂量导致肝肾代谢负荷加重,造成损害<sup>[18]</sup>。CTD 没有表现出对肾脏的损害,原因可能是 CTD 在此剂量下对肾脏组织损伤较轻。在病理层面 NCTD 同样表现出明显的肝肾损害,CTD 主要毒性在于小肠和膀胱的刺激性作用。

此结果除了药物的组织器官靶向性原因外,可能与时间因素所导致的药物干预影响尚未出现或损害程度较轻,还未继续发展相关,但在 NCTD 口服给药中,2~3 个月可出现疗效,患者的不良反应出现的评价时间点也为 3 个月<sup>[19]</sup>。在拟临床试验中,带瘤小鼠模型一般在肿瘤 3 d 后开始给药,到肿瘤 2 周左右剥取肿瘤进行药效及其他方面药物反应的评价<sup>[20]</sup>。因而,本实验在评价两药的毒性反应时,也在 2 周的给药时间后进行比较两药毒性反应。故可得在 1/2 LD<sub>50</sub> 剂量下,急性时间内 NCTD 主要毒性靶器官为肝肾组织,CTD 为小肠和膀胱的刺激作用。后续还应进一步在不同剂量和更长时间内验证 NCTD 和 CTD 对各组织器官的损害程度,来比较两药的毒效和组织特异性。

近年来在蛋白水平层面也对两药组织特异性

有所认识,CTD 及其衍生物 NCTD 是通过抑制 PP1 和 PP2A 发挥抗肿瘤作用<sup>[21]</sup>。相较于 NCTD,CTD 不仅是更强有力的 PP2A 抑制剂,而且由于 CTD 在两位点的甲基化使其更特异于 PP2A<sup>[22]</sup>。这一点提示 CTD,NCTD 在体内组织器官靶向性方面可能存在显著差别。本研究发现 CTD,NCTD 在体内表现出显著的不同组织器官特异性毒性。

#### [参考文献]

- [1] Honkanen R E. Cantharidin, another natural toxin that inhibits the activity of serine/threonine protein phosphatases types 1 and 2A [J]. *Febs Letters*, 1993, 330(3):283-286.
- [2] 陈绍俊. 原发性肝癌的内科治疗现状 [J]. *中国肿瘤*, 2013, 22(2):115-119.
- [3] 陈军,陈典. 复方斑蝥胶囊联合三维适形放疗治疗中晚期原发性肝癌临床观察 [J]. *现代肿瘤医学*, 2012, 20(1):114-116.
- [4] 曾瑶波,刘晓玲,李创军,等. 斑蝥化学成分及体外抗肿瘤活性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(5):859-863.
- [5] LI Y M, Mackintosh C, Casida J E. Protein phosphatase 2A and its [3H] cantharidin/[3H] endothall thioanhydride binding site: inhibitor specificity of cantharidin and ATP analogues [J]. *Biochem Pharmacol*, 1993, 46(8):1435-1443.
- [6] Huh J E, Kang K S, Chae C, et al. Roles of p38 and JNK mitogen-activated protein kinase pathways during cantharidin-induced apoptosis in U937 cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2004, 67(67):1811-1818.
- [7] 刘健,高建辉,刘晓秋. 斑蝥素及其衍生物的研究进展 [J]. *中药材*, 2003, 26(6):453-455.
- [8] 顾兵,张政,李玉萍,等. 半数致死量及其计算方法概述 [J]. *中国职业医学*, 2009, 36(6):507-508.
- [9] 李翠萍,吴民耀,王宏元. 3 种半数致死浓度计算方法之比较 [J]. *动物医学进展*, 2012, 33(9):89-92.
- [10] 胡和平,张俊平,应康,等. 基因芯片技术分析斑蝥素对肝癌细胞细胞毒作用的分子机制 [J]. *第二军医大学学报*, 2003, 24(6):645-649.
- [11] Kim Y M, Ku M J, Son Y J, et al. Anti-metastatic effect of cantharidin in A549 human lung cancer cells [J]. *Arch Pharmres*, 2013, 36(4):479-484.
- [12] 李晓飞,侯晓晖,陈祥盛. 芫菁斑蝥素对喉癌细胞和胃癌细胞的抑制作用 [J]. *昆虫学报*, 2009, 52(9):946-951.
- [13] 张泰松,陈萍. 去甲斑蝥素的临床研究进展 [J]. *中国药业*, 2004, 13(10):74-75.
- [14] 赵松华,张卫国,付家华. 气相色谱法测定育发类保健用品中斑蝥素含量 [J]. *中华预防医学杂志*, 2002,

- 36(4):269-270.
- [15] 马月香. 肝主藏血机制新探[J]. 中华中医药学刊, 2005,23(1):189-190.
- [16] 郑在根,郑洪新. 肾主血的理论探讨[J]. 中华中医药杂志,2014,2(11):3553-3554.
- [17] Giannini E, Botta F, Fasoli A, et al. Progressive liver functional impairment is associated with an increase in AST/ALT ratio [J]. *Digest Dis Sci* 1999, 44 (6): 1249-53.
- [18] 胡森,盛志勇. 去甲斑蝥素致大鼠腹腔炎症与多脏器功能失常综合征[J]. 中华危重病急救医学,1998(10):603-605.
- [19] 王广生,仲怀玉,黄谨逵,等. 去甲斑蝥素治疗原发性肝癌 244 例[J]. 中国药学杂志,1986,21(2):90-93.
- [20] 王勇,王宗伟,黄兆胜,等. 芦荟多糖对肿瘤化疗的增效和减毒作用研究[J]. 中药新药与临床药理,2002,13(2):13-15.
- [21] LI W, XIE L, ZHENG C, et al. Cantharidin, a potent and selective PP2A inhibitor, induces an oxidative stress-independent growth inhibition of pancreatic cancer cells through G<sub>2</sub>/M cell-cycle arrest and apoptosis [J]. *Cancer Sci*,2010,101(5):1226-1233.
- [22] Hill T A, Stewart S G, Sauer B, et al. Heterocyclic substituted cantharidin and norcantharidin analogues—synthesis, protein phosphatase(1 and 2A) inhibition, and anti-cancer activity[J]. *Bioorg Med Chem Lett*,2007,17(12):3392-3397.

[责任编辑 张丰丰]