

文章编号:1001-6880(2015)1-0148-05

黑果枸杞对 X 射线辐射小鼠的保护作用研究

段雅彬¹, 姚星辰¹, 王 财², 陈湘宏¹, 张娟玲¹, 李向阳^{1*}¹青海大学医学院; ²青海大学附属医院, 青海 西宁 810001

摘要:探讨黑果枸杞水提取液对辐射损伤小鼠的保护作用。除正常对照组外各组小鼠接受 5Gy 的 X 射线一次性全身均匀照射。检查各组小鼠外周血中红细胞数(RBC)、白细胞数(WBC)、血小板数(PLT)、血红蛋白数(HGB),计算胸腺和脾脏指数,测定抗氧化酶活力、DNA 和 Caspase-3、Caspase-6 的含量。黑果枸杞水提取液对辐射后小鼠的血象有明显回升,SOD 活力明显增强,DNA 含量增多,CAT、GSH-PX、T-AOC 活力下降,Caspase-3 和 Caspase-6 的含量降低,脏器指数无统计学意义。研究结果显示,黑果枸杞水提取液对 X 射线所致小鼠辐射损伤有一定保护作用。

关键词:黑果枸杞;抗辐射;清除自由基;抗氧化作用

中图分类号:R965.1

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.01.030

Protective Effects of *Lycium ruthenicum* Murr on X-Radiation Injured Mice

DUAN Ya-bin¹, YAO Xing-cheng¹, WANG Cai², CHEN Xiang-hong¹, ZHANG Juan-ling¹, LI Xiang-yang^{1*}¹Medical College of Qinghai University; ²QingHai University Affiliated Hospital, Qinghai Xining 810001, China

Abstract: To study the protective effects of *Lycium ruthenicum* Murr extract against radiation-induced damage on mice. Except the normal control group, mice of other groups were received with 5 Gy of X-radiation. Red blood cell count (RBC), white blood cell count (WBC), platelet count (PLT), hemoglobin count (HGB), thymus index and spleen index, activity of various antioxidant enzymes, DNA and caspase-3, caspase-6 content were observed at 7 d after radiation. The results showed that *L. ruthenicum* extract significantly increased quantity of hemogram, activity of SOD, content of DNA in bone marrow. The activity of CAT, GSH-PX, T-AOC and the content of caspase-3, caspase-6 significantly reduced. In addition, the spleen index, thymus index had no statistical significance in our study. These results indicated that *L. ruthenicum* had protective effects on mice radiation damage.

Key words: *Lycium ruthenicum* Murr; anti-radiation; scavenging free radicals; antioxidant activity

黑果枸杞(*Lycium ruthenicum* Murr)茄科枸杞属,是西北地区特有的一种多棘刺灌木,主要产于青海柴达木盆地,其中含有大量的原花青素、花青素、多糖、维生素等营养成分。具有抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、清除自由基等作用^[1,2]。黑枸杞藏药名“旁玛”,藏医用于治疗心热病、心脏病、月经不调、停经等^[3]。

辐射已是当今社会不容忽视的问题,化疗病人人数逐年增加,高原恶劣的强紫外线环境,以及近年的核泄漏事件都成为威胁人类健康的重要因素。氨磷汀作为世界公认的抗辐射药物能明显保护机体组织,但引起血压降低,恶心,呕吐等症状使得其使用

受限。目前对于黑枸杞的研究主要集中在成分提取与分析上,而其抗辐射作用未见报道。本研究通过黑枸杞对辐射小鼠的抗氧化系统、血液系统、DNA、细胞凋亡通路的保护阐明其抗辐射作用,为黑果枸杞的临床开发提供理论基础。

1 材料与仪器

1.1 实验药物

黑果枸杞(均购自青海九康中藏药批发市场,经青海大学医学院中药教研室袁明教授鉴定);氨磷汀(批号:130306,天津中瑞药业股份有限公司)。

1.2 主要试剂

超氧化物岐化酶(SOD, 批号:20140414);丙二醛(MDA, 批号:20140412);谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX, 批号:20140416);总抗氧化力(T-AOC, 批号: 20140416); 过氧化氢酶(CAT, 批号:

20140417);总蛋白定量 BCA 法(批号:20140508)均购自南京建成生物研究所。小鼠半胱氨酸蛋白酶 3 酶联免疫检测试剂盒(caspase3, 批号:20141227. 60325M);小鼠半胱氨酸蛋白酶 6 酶联免疫检测试剂盒(caspase6, 批号:20141227. 60328M)均购自北京瑞格博科技发展有限公司。血液细胞分析仪用溶血剂(批号:2013111101);三分类探头清洁液(批号:2013112101);血液细胞分析仪用稀释液(批号:2013110701)均购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司。

1.3 主要仪器

医用电子直线加速器(美国 VaRian, 23EX), UV-2550 型紫外分光光度计(美国 LabTech 公司), TGL-16 B 型高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂), KA-1000 型台式离心机(上海安亭科学仪器厂), RE-52A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂), SHZ-IIID 型循环水真空泵(上海亚荣生化仪器厂), DK-2000-ⅢL 型电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司), KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), RT-2100C 酶标仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司), DY89-II 电动玻璃匀浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司), DRT-2N 型电热套(郑州大城科工贸有限公司), YDS-30 东亚液氮容器(乐山市东亚机电工贸有限公司), BT224S 电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司], XW-80A 漩涡混合器(上海医大仪器厂), BC-2300 准全自动三分群血液细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)。

1.4 动物

8 周龄 SPF 级昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重(25 ± 2)g, 购自甘肃中医药大学, 合格证号: SCXK(甘)2011-0001。分笼饲养于青海大学医学院实验动物中心。饲养条件: 光照明暗 12 h 交替; 自由饮水; 温度:(23 ± 2) °C; 适应性喂养 3 d; 每笼 10 只群养。

2 实验方法

2.1 样品制备

采用浸渍法, 溶剂为水, 时间 4 h, 液料比为 1/20, 温度 70 °C。分别称取黑枸杞及枸杞 300 g, 6000 mL 蒸馏水, 70 °C 恒温水浴锅, 避光浸泡 4 h。旋转蒸发仪 70 °C 回收溶剂, 过滤, 定容到 750 mL(终浓度为 400 mg/mL), 4 °C 避光保存备用。

2.2 动物分组

取小鼠 90 只, 随机分为 6 组: 正常对照组(Normal control)、阳性对照组(Positive)(氨磷汀, 150 mg/kg)、辐射模型组(Model)、黑果枸杞高剂量(*L. ruthenicum* high dose group, LH)(8 g/kg)、中剂量(*L. ruthenicum* middle dose group, LM)(4 g/kg)、低剂量(*L. ruthenicum* lower dose group, LL)(2 g/kg)组, 雌雄各半。

2.3 给药方法

给药组每日灌胃给药, 空白对照组、辐射模型组灌胃等容积生理盐水, 剂量为 0.2 mL/10g, 连续 14 d; 阳性组于照射前 30 min 腹腔注射剂量为 150 mg/kg 的氨磷汀溶液。

2.4 辐射条件

将每只小鼠单独固定在自制模具中, 采用美国 VaRian 23EX 医用电子直线加速器 X-Rays 全身一次性照射, 照射剂量 5 Gy, 吸收剂量率 300 cGy/min, 照射时间: 100 s, 视野 40 × 40 cm, 源皮距 100 cm。

2.5 外周血象检测

在照射后第 7 d, 摘眼球取血于含有 EDTA-2Na 抗凝管中制备全血, 取全血 20 μL 用血细胞稀释液稀释, 室温下放置 3 min, 血细胞分析仪进行外周血象检测。

2.6 脏器指数测定

在照射后第 7 d 称重, 颈椎脱臼处死, 解剖取胸腺、脾脏, 除去脂肪及血污, 滤纸吸干, 称重。按公式计算相应的脏器指数(%): 脏器指数(%) = 脏器重量(g)/动物体重(g) × 100%

2.7 骨髓 DNA 含量测定

分别在照射后第 7 d 颈椎脱臼处死剥离右侧股骨, 除净组织及污血; 剪断第二股骨, 用 10 mL 0.005 mol/L CaCl₂ 将全部骨髓冲入离心管中, 反复冲洗直至股骨冲成白色为止。冲好的骨髓液置于 4 °C 冰箱 30 min, 取出后 2500 rpm 离心 15 min, 弃上清液, 沉淀中加入 5 mL 0.2 mol/L HClO₄ 酸化, 将沉淀物充分混匀, 90 °C 水浴加热 15 min, 流水冷却, 滤纸过滤, 滤液用紫外可见分光光度计在 260 nm 处测定吸光度 A 值。

2.8 肝脏抗氧化酶活性测定

在照射后第 7 d 称重, 颈椎脱臼处死, 解剖取肝脏, 精密称取 0.2 g 组织, 用电动匀浆机制备 10% 匀浆, 2000 rpm 离心 10 min 取上清, SOD、GSH、CAT、

MDA、T-AOC 及总蛋白检测参照试剂盒方法。

2.9 Caspase-3 和 Caspase-6 的测定

在照射后第 7 d, 摘眼球取血于 EP 管, 3000 rpm, 10 min, 分离血清。向酶标板中加入样品及标准品, 生物素标记的二抗和酶标试剂, 37 °C 反应 60 min, 洗板 5 次, 加入显色液 A、B, 37 °C 显色 10 min, 加终止液, 酶标仪读 OD 值。

2.10 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计处理, 所有数据均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组比较采

用单因素 ANOVA 方差分析, 组间两两比较采用 LSD 法, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

3 实验结果

3.1 黑果枸杞对辐射小鼠血象的影响

表 1 显示空白组 WBC、RBC、HGB、明显高于辐射组 ($P < 0.01$), 说明造模成功。黑枸杞高中低剂量组 RBC、HGB 高于辐射组 ($P < 0.01$), 而 WBC、PLT 无统计学意义。黑枸杞能增加 RBC、HGB 的量但效果不如阳性药物 ($P < 0.05, P < 0.01$)。

表 1 黑果枸杞对辐射小鼠血象的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of *L. ruthenicum* on the hemogram of mice after radiation ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	白细胞 WBC ($10^9/L$)	红细胞 RBC ($10^{12}/L$)	血红蛋白 HGB (g/L)	血小板 PLT ($10^9/L$)
空白 Control		4.17 ± 1.56 **##	7.03 ± 0.83 * *##	125.40 ± 12.60 * *##	552.40 ± 92.40
模型 Model		0.69 ± 0.15	5.37 ± 0.90 ##	100.50 ± 14.61 ##	328.30 ± 86.94
阳性 Positive	0.15	1.14 ± 0.37	8.26 ± 0.41 * *	151.00 ± 7.23 * *	388.87 ± 94.95
高剂量 LH	8	0.45 ± 0.16 #	7.63 ± 0.38 * *	139.80 ± 7.97 * *	453.30 ± 71.69
中剂量 LM	4	0.74 ± 0.31	7.49 ± 0.59 * *#	131.80 ± 10.60 * *##	551.00 ± 65.63
低剂量 LL	2	1.08 ± 0.65	7.73 ± 0.83 * *	138.10 ± 17.57 * *#	611.00 ± 84.26

注: 与模型组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与阳性组比较 # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

Note: vs model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs positive group # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

3.2 黑果枸杞对辐射小鼠脏器指数与 DNA 含量的影响

高于辐射组 ($P < 0.01, P < 0.05$), 但低于阳性药物 ($P < 0.01$) 胸腺指数与脾脏指数无明显差别 ($P > 0.05$)。说明黑枸杞对免疫系统无明显影响。

表 2 显示黑枸杞中剂量与低剂量组 DNA 含量

表 2 黑果枸杞对辐射小鼠脏器指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of *L. ruthenicum* on the organ weight index and DNA content of mice after radiation ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	胸腺指数 Thymus index (%)	脾脏指数 Spleen index (%)	DNA
空白 Control		0.26 ± 0.08 * *##	1.08 ± 0.40 * *##	1.66 ± 0.45 * *##
模型 Model		0.12 ± 0.04	0.13 ± 0.03	0.53 ± 0.22 ##
阳性 Positive	0.15	0.16 ± 0.03	0.16 ± 0.04	1.32 ± 0.32 * *
高剂量 LH	8	0.08 ± 0.02 ##	0.12 ± 0.03	0.56 ± 0.30 ##
中剂量 LM	4	0.07 ± 0.02 ##	0.10 ± 0.02	0.99 ± 0.45 * *##
低剂量 LL	2	0.14 ± 0.04	0.15 ± 0.07	0.81 ± 0.20 * ##

注: 与模型组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与阳性组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

Note: vs model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs positive group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

3.3 黑果枸杞对辐射小鼠抗氧化酶活性影响

表 3 显示黑枸杞能提高辐射小鼠 SOD 活力 ($P < 0.01$), 甚至优于阳性药物 ($P < 0.01$) 减少脂质过氧化产物 MDA 的量 ($P < 0.01$) 但是 CAT、CSH-PX 的活力降低 ($P < 0.05$), 尤以低剂量明显 ($P < 0.01$), 对 T-AOC 无明显影响。

3.4 黑果枸杞对辐射小鼠 caspase-3 及 caspase-6 的影响

表 4 显示黑枸杞低剂量组 Caspase-3 的含量与模型组相比明显降低 ($P < 0.01$), 空白组 Caspase-3 的含量比辐射模型组低 ($P < 0.05$)。Caspase-6 的空白组、黑枸杞中、低剂量组的含量要低于模型组 (P

<0.01)。但高剂量组 Caspase-3 和 Caspase-6 的含

量升高,但无统计学差异。

表 3 黑果枸杞对辐射小鼠抗氧化酶活力的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of *L. ruthenicum* on the activity of antioxidant enzyme of mice after radiation($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	谷胱甘肽过 氧化物酶 GSHPX (U/mgprot)	过氧化氢酶 CAT (U/mgprot)	超氧化物歧化酶 SOD (U/mgprot)	总抗氧化能力 T-AOC (U/mgprot)	丙二醛 MDA (nmol/mgprot)
空白 Control		167.41 ± 9.03	61.87 ± 16.73 * * #	0.164 ± 0.06	0.65 ± 0.16	0.33 ± 0.18 **
模型 Model		102.71 ± 8.24	30.67 ± 4.68	0.108 ± 0.01	0.41 ± 0.07	2.07 ± 0.52
阳性 Positive	0.15	125.09 ± 10.00	37.42 ± 3.79	0.09 ± 0.01	0.33 ± 0.09	0.51 ± 0.11 **
高剂量 LH	8	68.15 ± 13.96	17.39 ± 4.58 *	0.43 ± 0.14 * * ##	0.30 ± 0.05	0.45 ± 0.16 **
中剂量 LM	4	71.48 ± 5.77	13.96 ± 5.41 *	0.28 ± 0.09 * * ##	0.33 ± 0.04	0.37 ± 0.12 **
低剂量 LL	2	32.11 ± 15.89 * #	11.31 ± 3.75 * * #	1.13 ± 0.10 * * ##	0.23 ± 0.08	0.85 ± 0.11 **

注:与模型组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与阳性组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

Note: vs model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs positive group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

表 4 黑果枸杞对辐射小鼠凋亡因子的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of *L. ruthenicum* on the caspase-3 and caspase-6 of mice after radiation($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	半胱氨酸蛋白酶 3 Caspase-3 (ng/mL)	半胱氨酸蛋白酶 6 Caspase-6 (ng/mL)
空白 Control		5.10 ± 1.54 *	5.02 ± 1.59 **
模型 Model		6.57 ± 0.84 ##	8.10 ± 1.92 #
阳性 Positive	0.15	4.83 ± 1.57 * *	5.77 ± 1.29 *
高剂量 LH	8	6.12 ± 0.83 #	6.78 ± 0.94
中剂量 LM	4	5.86 ± 1.15	5.72 ± 1.49 **
低剂量 LL	2	4.79 ± 1.21 * *	4.69 ± 1.11 **

注:与模型组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与阳性组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

Note: vs model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs positive group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

4 讨论

血液系统是辐射敏感的靶器官,辐射后小鼠的血象明显降低,而黑枸杞增加了 RBC 与 HGB 的含量,RBC 和 HGB 都是运输氧气的重要介质,说明黑枸杞是通过增加辐射后小鼠体内的氧气来对血液系统进行保护的。白细胞是机体的免疫因子,能间接反映机体的免疫力,而黑枸杞无明显调节作用,说明其对机体的免疫系统影响不是通过增加白细胞数量来调节的,这一点在表 2 中的脏器指数也得到证实,胸腺与脾脏是重要的免疫器官,而胸腺指数与脾脏指数无明显变化,更加说明黑枸杞可能对机体的免疫系统无明显影响,这一具体机制,需进一步研究。辐射后 DNA 含量黑枸杞中剂量与低剂量组明显增高,提示其对 DNA 具有保护作用。

细胞凋亡因子与 DNA 的修复关系密切,其中 Caspase-3 和 Caspase-6 是 Caspase 家族的凋亡执行因子,二者同源性高,并且活化的 Caspase-6 可以激

活 Caspase-3。Caspase-3 作为 Caspase 家族的最重要成员,它的活化标志着细胞凋亡进入不可逆的阶段^[4]。Caspase-3 的激活可以切割参与 DNA 修复的 PARP(聚腺苷二磷酸核糖聚合酶),而 PARP 可以催化二磷酸腺苷核糖聚合物从异柠檬酸脱氢酶向靶蛋白的转移,激活重要的修复因子,从而达到 DNA 修复的目的^[5-7]。辐射对 DNA 造成严重的损伤,而前述已提到黑枸杞对 DNA 有保护作用,并且黑枸杞能降低 Caspase-3 的量,那么就能减少 Caspase-3 对 PARP 的切割,从而提高机体对 DNA 的修复能力,减少细胞的凋亡。Caspase-6 是唯一一个可以剪切层蛋白的 Caspase 成员,在细胞凋亡过程中,切割片层素蛋白,导致核纤层崩解,继而使染色体凝集,细胞死亡^[8]。黑枸杞能降低 Caspase-6 的量,减少片层素蛋白的切割,保护染色体。辐射造成 DNA 损伤,可能会引起细胞的癌变,那么这时降低 Caspase-3 和 Caspase-6 的量则导致肿瘤细胞的大量增殖。本实验阳性药物氨磷汀具有对细胞凋亡的双重调节作

用,即对肿瘤细胞增加凋亡因子的活性,对正常细胞抑制凋亡因子的活性^[9]。表2及表4中可看出氨磷汀具有明显的保护DNA和降低caspase-3,caspase-6活性的作用,说明此实验照射条件下的小鼠在第七天未发生癌变。那么黑枸杞降低细胞凋亡因子的作用是对机体有益的。

辐射后体内的活性氧(ROS)自由基大量增加,而ROS是Caspase激活的上游信号^[10],黑枸杞水提物含有花青素与原花青素,这两个物质含有酚羟基,可以直接使自由基熄灭,这可能是黑枸杞降低Caspase-3和Caspase-6的机制。机体主要通过5种途径来提高抗氧化的能力:1.熄灭自由基;2.抑制氧化应激和凋亡的生物学改变;3.增加抗氧化酶活性;4.降低膜的流动性,抑制脂质过氧化;5.增加抗氧化蛋白的表达。表3结果表明黑枸杞水提取液是通过增强SOD活性来清除辐射所引起的自由基,MDA含量明显减少,但其他抗氧化酶活性降低,T-AOC尤以低剂量降低明显,反而辐射组的T-AOC较强,可能自由基的产生能使机体代偿的增强抗氧化能力,但由于辐射对DNA的损伤,使代偿作用无法比空白组的酶活性强,而黑枸杞含有酚羟基,直接熄灭自由基,使机体的代偿减弱或消失,从而会抑制到CAT、GSH-PX、T-AOC的活性。自由基的产生是一个动态平衡的过程,过多会损伤机体,而适量的自由基又有益于机体,所以当黑枸杞水提取物熄灭自由基后,机体的抗氧化酶活性降低,使得自由基达到动态平衡,这可能也是酶活性降低的一个原因。

辐射对机体的最重要损伤是DNA,而引起DNA损伤的“元凶”就是自由基,并且自由基对免疫系统也有破坏,但是机体也需要适量的自由基,其可激活体内的一些合成酶和解毒酶^[11,12],但是自由基是否也能增强抗氧化酶的活性,以及激活酶的机制是如何,这都有待进一步研究。

参考文献

- Lin L(林丽),Zhang FS(张菲斯),Jin L(晋玲),et al. Research advance of *Lycium ruthenicum Murr.* *China Pharm*(中国药房),2013,24:4493-4496.
- Plump GW,De Pascual-Teresa S,Santos-Buelga C,et al. Antioxidant properties of catechins and proanthocyanidins;effect of polymerisation, galloylation and glycosylation. *Free Radic Res*,1998,29:351-358.
- Di Ma Er DZPC(帝玛尔·丹增彭措). *Jing Zhu Ben Cao*(晶珠本草). Chengdu:Sichuan science and technology publishing house,1986. 438-440.
- Cryns V,Yuan J. Protease to die for. *Genes Dev*,1998,12:1551-1570.
- Choi HN,Chung MJ,Park JK,et al. Neuroprotective effects of N-acetylglucosamine against hydrogen peroxide-induced apoptosis in human neuronal SK-N-SH cells by inhibiting the activation of caspase-3,PARP and p38. *Food Sci Biotechnol*,2013,22:853-858.
- Rouleau M,Patel A,Hendzel MJ,et al. PARP inhibition:PARP1 and beyond. *Nat Rev Cancer*,2010,10:293-301.
- Ferraris DV. Evolution of poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) inhibitors. From concept to clinic. *J Med Chem*,2010,53:4561-4584.
- Faleiro L,Kobayashi R,Fearnhead H,et al. Multiple species of CPP32 and Mch2 are the major active caspases present in apoptotic cells. *EMBO J*,1997,16:2271-2281.
- Majsterek I,Gloc E,Blasiak J,et al. A comparison of the action of amifostine and melatonin on DNA-damaging effects and apoptosis induced by idarubicin in normal and cancer cells. *J Pineal Res*,2005,38:254-263.
- Chan WH,Yu JS. Inhibition of irradiation-induced oxidative stress and apoptotic biochemical changes in human epidermal carcinoma A431 cells by genistein. *Cell Biochem*,2000,78:73-84.
- Valavanidis A,Vlahogianni T,Dassenakis M,et al. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol Environ Saf*,2006,64:178-189.
- Valdez LB,Arnaiz SL,Bustamante J,et al. Free radical chemistry in biological systems. *Biol Res*,2000,33(2):65-70.
- silkworm (*Bombyx mori*) extracts in the db/db mice. *Planta Med*,2012,78:1246-1246.
- Slowing II,Vivero-Escoto JL,Wu CW,et al. Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers. *Adv Drug Delivery Reviews*,2008,60:1278-1288.

(上接第172页)

- 9 Lad VJ,Shende VR,Gupta AK. Effect of catanospermine,1-deoxynojirimycin or 1-deoxymannojirimycin on biological and functional activities of Japanese encephalitis virus in porcine stable kidney cells. *Microbiol Res*,2013,4:12.
- 10 Ryu KS,Lee HS,Kim KY, et al. Anti-diabetic effects of the