

石菖蒲挥发油和水溶性氮酮对鱼用麻醉剂的促皮渗透效果研究

王文豪^{1,2}, 董宏标^{2,3}, 孙彩云^{1,2}, 段亚飞^{2,3}, 李 华^{2,3},
刘青松^{2,3}, 张家松^{2,3}, 曾祥兵²

(1. 水产科学国家级实验教学示范中心(上海海洋大学), 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院南海水产研究所/农业农村部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东广州 510300; 3. 三亚热带水产研究院, 海南 三亚 572000)

摘要: 文章研究了石菖蒲 (*Acorus tatarinowii*) 挥发油和水溶性氮酮 2 种常见透皮促进剂 (PE) 的 4 种不同质量分数 (1%、4%、7%、10% 和 1%、3%、5%、10%) 对中国花鲈 (*Lateolabrax maculatus*) 幼鱼药浴吸收 MS-222 和丁香酚的促透效果。结果显示: 1) 2 种 PE 可显著减少入麻和复苏时间, 并降低丁香酚或 MS-222 的使用剂量以达到相似的麻醉效果; 2) 2 种 PE 的促透效果随质量分数增加先增强后减弱; 3) 石菖蒲挥发油与水溶性氮酮对丁香酚或 MS-222 的最佳促透质量分数分别为 7% 和 3%。分析鳃组织抗氧化指标发现: 1) 丁香酚和 MS-222 浸泡对中国花鲈鳃组织造成一定程度的氧化应激, 表现为鳃组织中过氧化物酶 (POD)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性和谷胱甘肽 (GSH)、丙二醛 (MDA) 浓度显著 ($P<0.05$) 升高; 2) 协同使用 PE, 可减少麻醉剂量, 进而降低鳃组织氧化应激, 表现为麻醉协同组鳃中 SOD、CAT 活性和 MDA、GSH 浓度显著 ($P<0.05$) 低于麻醉对照组。

关键词: 中国花鲈; 麻醉剂; 透皮促进剂; 石菖蒲挥发油; 水溶性氮酮

中图分类号: S 948

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Study on transdermal penetration effects of *Acorus tatarinowii* essential oil and water soluble azone to fish anesthetics

WANG Wenhao^{1,2}, DONG Hongbiao^{2,3}, SUN Caiyun^{1,2}, DUAN Yafei^{2,3}, LI Hua^{2,3},
LIU Qingsong^{2,3}, ZHANG Jiasong^{2,3}, ZENG Xiangbing²

(1. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education (Shanghai Ocean University), Shanghai 201306, China; 2. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences/Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510300, China; 3. Sanya Tropical Fisheries Research Institute, Sanya 572000, China)

Abstract: This study compared the penetration effects of two common penetration enhancers (PE) (*Acorus tatarinowii* essential oil and water soluble azone) with different mass fractions (1%, 4%, 7%, 10% and 1%, 3%, 5%, 10%) on the juvenile *Lateolabrax maculatus* absorbing eugenol and MS-222. The results show that: 1) PEs could reduce the time of anaesthesia and recovery significantly,

收稿日期: 2020-01-13; 修回日期: 2020-04-07

资助项目: 中国水产科学研究院基本科研业务费专项 (2019XT0403; 2020XT0602); 广州市科技计划项目 (201904010169); 中国-东盟海上合作基金项目“中国-东盟现代海洋渔业技术合作及产业化开发示范”; 广东省现代农业产业技术体系创新团队建设项目 (2019KJ150); 中国水产科学研究院南海水产研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助 (2017YB15)

作者简介: 王文豪 (1994—), 男, 硕士研究生, 研究方向为鱼类生理生态学。E-mail: wanghao5889@126.com

通信作者: 张家松 (1971—), 男, 博士, 研究员, 从事水产养殖技术与微生物学研究。E-mail: jiasongzhang@hotmail.com

and reduce the dosage of anesthetics to achieve similar anesthetic effects. 2) With increasing mass fraction of PE, the penetration effect first enhanced and then weakened. 3) The optimal mass fraction of penetration of *A. tatarinowii* essential oil and water soluble azone on eugenol or MS-222 were 7% and 3%, respectively. According to the antioxidant index of the gill tissue, we found that: 1) After soaking the fish in the anesthetics, the activities of peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and the concentrations of malonaldehyde (MDA), glutathione (GSH) increased in the gill tissue of *L. maculatus* ($P<0.05$). 2) The activities of SOD, CAT and the concentrations of MDA and GSH in the gill tissue of the PE anesthesia group were significantly lower than those of the control group ($P<0.05$).

Key words: *Lateolabrax maculatus*; Anesthetic; Penetration enhancers; *Acorus tatarinowii* essential oil; Water soluble azone

透皮促进剂 (Penetration enhancers, PE) 是指通过改变角质层的屏障功能^[1], 以达到增加药物经皮肤到达体内的通透率^[2]和减少给药次数和剂量^[3]的物质, 使用方式通常是将 PE 与药物混匀, 均匀涂抹到表皮组织或喷洒到黏膜组织^[4-5], 或通过药浴给药^[6-7]。常见的 PE 有石菖蒲 (*Acorus tatarinowii*) 挥发油和水溶性氮酮。石菖蒲的主要功能成分为挥发油, 主要活性成分为细辛醚类^[8], 具有抗氧化、抗血栓、抗抑郁和药物促透等作用, 由于其促透效果卓著而备受关注^[9-11]。水溶性氮酮为一种合成的 PE, 因其促透率高、副作用小, 已被广泛应用于医药、农业和日化行业。水产养殖种苗捕捞、运输过程中, 通常使用安全可靠的麻醉剂。丁香酚和间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐 (三卡因、MS-222) 是 2 种常用的麻醉剂^[12-13], 但因其存在安全隐患而被多次报道^[14-19]。目前, PE 在畜禽中使用较多, 而在水产中研究甚少。本文以中国花鲈 (*Lateolabrax maculatus*) 幼鱼为实验对象, 结合鳃组织的抗氧化指标分析, 评价了石菖蒲挥发油和水溶性氮酮对丁香酚或 MS-222 的促透效果, 明确最佳促透剂含量, 以期为鱼类麻醉应激的防护和 PE 在水产上的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

中国花鲈幼鱼购自广东省珠海市某育苗厂。运输至实验室后先经 $1\text{ g}\cdot\text{m}^{-3}$ 的碘制剂消毒, 再置于室内水泥池 ($3\text{ m}\times 4\text{ m}\times 1\text{ m}$) 暂养 2 周以上, 暂养密度为 $10\text{ 尾}\cdot\text{m}^{-3}$ 。暂养期间, 投喂海水鱼配合饲料 (广州海龙饲料有限公司), 每日早晚各 1 次, 投喂质量为鱼体质量的 $(3\pm 1)\%$ 。日换水 1 次, 换水率 30%。水温 $(28\pm 0.5)\text{ }^\circ\text{C}$, 溶解氧始终高于 $6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7.6 ± 0.2 , 自然光周期。实验所用石菖蒲挥发油 (挥发油 $\geq 99\%$) 和水溶性氮酮 (纯度 $\geq 99\%$) 均购自

湖北省康纯香料有限公司; 丁香酚 (纯度 $\geq 98\%$) 购于北京迈瑞达科技有限公司; MS-222 (纯度 $\geq 99\%$) 购于青岛文鼎商贸有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 促透实验 MS-222 与碳酸氢钠以质量比 1:1 溶于纯水, 配制成母液, 为防止光分解, 保存于棕色玻璃瓶中备用^[20]; 以体积比 1:10 将丁香酚溶于乙醇, 制成母液备用 (MS-222 和丁香酚各制备 9 份母液)。参照白一岑等^[11]方法, 将石菖蒲挥发油和水溶性氮酮以 1:10 体积比溶于乙醇, 向配制好的 MS-222 和丁香酚母液中分别加入质量分数为 1%、4%、7% 和 10% 的石菖蒲挥发油和 1%、3%、5% 和 10% 的水溶性氮酮 (PE 与麻醉剂质量比) 配成促透麻醉液, 同时设置乙醇为对照组。参照 Wang 等^[14]的分类标准和麻醉剂量, 将麻醉诱导过程简化为深度镇静阶段 (对强刺激有反应; 鳃盖张合频率减少; 平衡正常) 和麻醉阶段 (完全丧失肌肉张力和平衡; 鳃盖张合频率慢), 复苏评判标准为完全复苏 (对外界刺激有反应; 鳃盖张合和肌肉收缩正常)。选用 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁香酚或 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ MS-222 对幼鱼进行麻醉 (此浓度的 MS-222 或丁香酚可诱导至麻醉阶段, 但不能诱导至深度麻醉阶段)。平均体质量为 $(98.1\pm 7.3)\text{ g}$ 的幼鱼停食 24 h 后用于麻醉实验。先向白色塑料桶中加入 10 L 曝气 2 d 以上的自来水; 然后加入麻醉液或促透麻醉液, 使丁香酚或 MS-222 质量浓度分别达到 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 或 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 最后将幼鱼置于麻醉桶中, 记录每条幼鱼进入镇静和麻醉状态所用时间 (每个处理组 10 次重复, 每尾鱼单独观察并只使用 1 次)。麻醉后幼鱼被转移至无麻醉液的复苏桶中进行复苏, 记录复苏所用时间。此外, 将幼鱼分别置于 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 石菖蒲挥发油和 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 水溶性氮酮溶液 (本实验用到最大剂量的 PE), 观察幼鱼能否进入镇静状态或麻醉状态, 以排除 2 种促皮渗透剂是否对幼鱼具有麻醉效果。

1.2.2 麻醉剂减量实验 根据促透实验得出质量分数为7%石菖蒲挥发油和3%水溶性氮酮促进麻醉效果最佳,将 $8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁香酚或 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ MS-222与质量分数为7%石菖蒲挥发油或3%水溶性氮酮混合,同时设置无促透剂的对照组。进行麻醉实验,记录镇静、麻醉和复苏所用时间。

1.2.3 生化指标测定 设置对照组(AC)、 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁香酚(EC)、 $8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁香酚+7%石菖蒲挥发油(ES)、 $8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁香酚+4%水溶性氮酮(ED)、 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ MS-222(MC)、 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ MS-222+7%石菖蒲挥发油(MS)和 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ MS-222+4%水溶性氮酮(MD)共7个处理组。将幼鱼按照不同组处理后进行复苏,复苏后6h[0~1h内丁香酚在罗非鱼(*Oreochromis* spp.)肝脏中的浓度逐渐升高,第1小时达到峰值,之后逐渐降低^[21];MS-222在白斑角鲨(*Squalus acanthias*)血液中的半衰期约为1.5~4h^[22],考虑到药物在不同动物中的代谢动力学未必相同,故选择在复苏后6h取样],采集鳃组织进行抗氧化指标测定。取4℃无菌生理盐水先对鳃组织进行冲洗,再用9倍体积的4℃无菌生理盐水(m/V)将鳃组织匀浆,在低温离心机中以 $6000\times g$ 离心20min,收集上清液备用。酶活检测所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,相应操作参照说明书进行。采用考马斯亮蓝法测定总蛋白浓度(以牛血清为基准);采用黄嘌呤氧化酶法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性(组织中每毫克蛋白在0.24mL反应液中,抑制率达50%时所对应的酶量定为1个酶活力单位);采用比色法测定过氧化物酶(POD)活性(在37℃条件下,每毫升样品每分钟催化 $1\mu\text{g}$ 底物的酶量定义为1个酶活力单位);采用紫外法测定过氧化氢酶(CAT)活性[组织中每毫克蛋白每秒分解 $1\mu\text{mol}$ 的过氧化氢(H_2O_2)的量为1个酶活力单位];采用比色法测定谷胱甘肽(GSH)浓度(二硫代二硝基苯甲酸与巯基化合物反应生成黄色化合物,可进行比色定量测定);采用硫代巴比妥酸法测定丙二醛(MDA)浓度(过氧化脂质降解产物中的MDA可与硫代巴比妥酸缩合,形成红色产物,进行定量测定)。

1.2.4 数据处理 所有数据均以“平均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm\text{SD}$)”表示。使用SPSS 22.0软件对实验数据进行统计学分析。在单因素方差分析的基础上,采用Duncan多重比较法进行分析。显著性水平设定

为 $P<0.05$ 。使用ORIGIN 8.0软件对实验数据进行绘图。

2 结果

2.1 PE对丁香酚和MS-222的促透效果

随着2种PE质量分数的增加,幼鱼进入镇静阶段和麻醉阶段的时间呈现先减少后增加的趋势(质量分数为7%的石菖蒲挥发油和3%的水溶性氮酮达到峰值),完全复苏的时间同样呈现先减少后增加的趋势(质量分数为7%的石菖蒲挥发油和3%的水溶性氮酮达到峰值,图1)。将幼鱼置于 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 石菖蒲挥发油、 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 水溶性氮酮溶液,均未观察到镇静与麻醉状态。

2.2 PE对麻醉剂减量使用效果

向低剂量麻醉剂(麻醉剂减量20%)中加入质量分数为7%的石菖蒲挥发油或3%的水溶性氮酮后,可达到与高剂量麻醉剂相似的麻醉效果(图1)。低剂量麻醉剂加入质量分数为7%的石菖蒲挥发油后,进入麻醉和复苏的时间较其对照组显著降低(图1-a、b)。低剂量麻醉剂加入质量分数为3%的水溶性氮酮后,复苏时间较其对照组显著降低(图1-c、d)。低剂量麻醉剂不加PE,仅进入镇静阶段,无法进入麻醉阶段(图2)。

2.3 鳃组织抗氧化指标测定

对鳃组织抗氧化指标分析发现,EC和MC组较AC组POD、SOD、CAT活性和MDA、GSH浓度显著升高($P<0.05$);EC和MC组分别较ES和MS组POD、SOD、CAT活性和MDA、GSH浓度显著升高(除EC组的POD活性,图3-a, $P<0.05$);MC组较MD组SOD活性和MDA浓度显著升高($P<0.05$);ED组较ES组SOD、CAT活性和MDA、GSH浓度出现升高,但不显著($P>0.05$);MD组较MS组CAT活性显著升高($P<0.05$),POD、SOD活性和MDA、GSH浓度也出现升高,但不显著($P>0.05$,图3)。

3 讨论

3.1 PE对丁香酚与MS-222促透分析

本研究将幼鱼单独置于2种PE溶液中均未观察到镇静和麻醉状态,排除了该质量分数的石菖蒲挥发油和水溶性氮酮的麻醉效应。研究发现,麻醉剂加入2种PE,均能缩短中国花鲈镇静、麻醉和

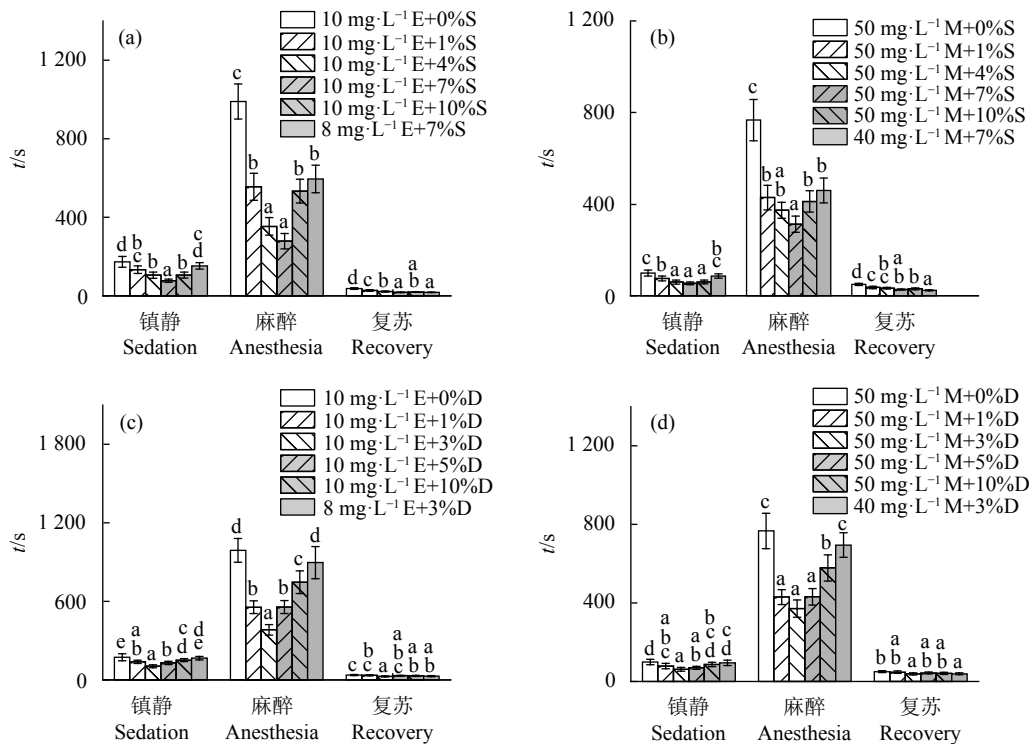


图1 中国花鲈达到镇静、麻醉和完全复苏的时间 (n=10)

a. 丁香酚 (E)+石菖蒲挥发油 (S); b. MS-222 (M)+石菖蒲挥发油 (S); c. 丁香酚 (E)+水溶性氮酮 (D); d. MS-222 (M)+水溶性氮酮 (D); 组间字母不同者差异显著 (P<0.05)

Figure 1 Time to achieve sedation, anesthesia and complete resuscitation of *L. maculatus* (n=10)

a. Eugenol (E) + *A. tatarinowii* essential oil (S); b. MS-222 (M) + *A. tatarinowii* essential oil (S); c. Eugenol (E) + water soluble azone (D); d. MS-222 (M) + water soluble azone (D); values with different letters were significantly different (P<0.05).

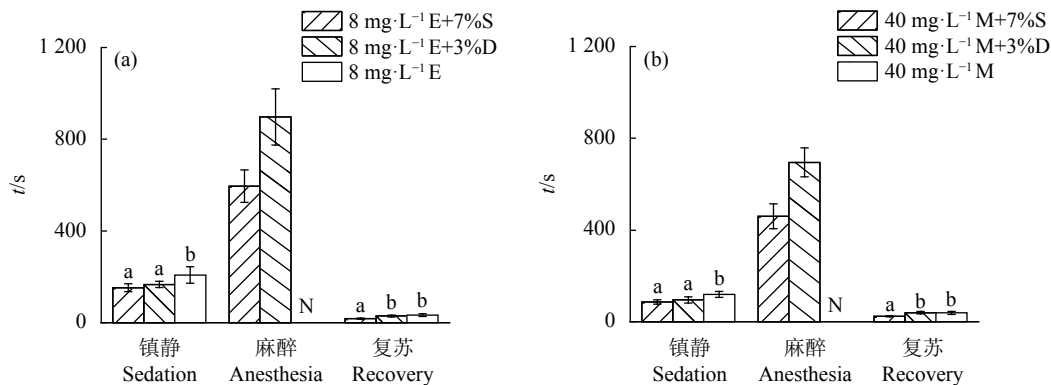


图2 中国花鲈达到镇静、麻醉和完全复苏的时间 (n=10)

E. 丁香酚; S. 石菖蒲挥发油; D. 水溶性氮酮; M. MS-222; 组间字母不同者差异显著 (P<0.05); N. 未观察到

Figure 2 Time to achieve sedation, anesthesia and complete resuscitation of *L. maculatus* (n=10)

E. Eugenol; S. *A. tatarinowii* essential oil; D. Water soluble azone; M. MS-222; values with different letters were significantly different (P<0.05); N. Not observed

复苏的时间, 这可能是因为石菖蒲挥发油和水溶性氮酮对 2 种麻醉剂的吸收具有促进作用, 或是麻醉剂和 PE 具有协同作用, 亦或是 PE 对麻醉效果具有加成作用。

质量分数为 7% 的石菖蒲和 3% 的氮酮促透效

果最佳, 且促透倍数相似, 该结果与王建新和郭力^[23]、白一岑等^[11]的相似。王建新和郭力^[23]研究表明, 质量分数为 3% 的水溶性氮酮对如意巴布剂能达到最大促透效果, 质量分数过低或过高促透效果均出现减弱, 表明 PE 并非质量分数越大效果越

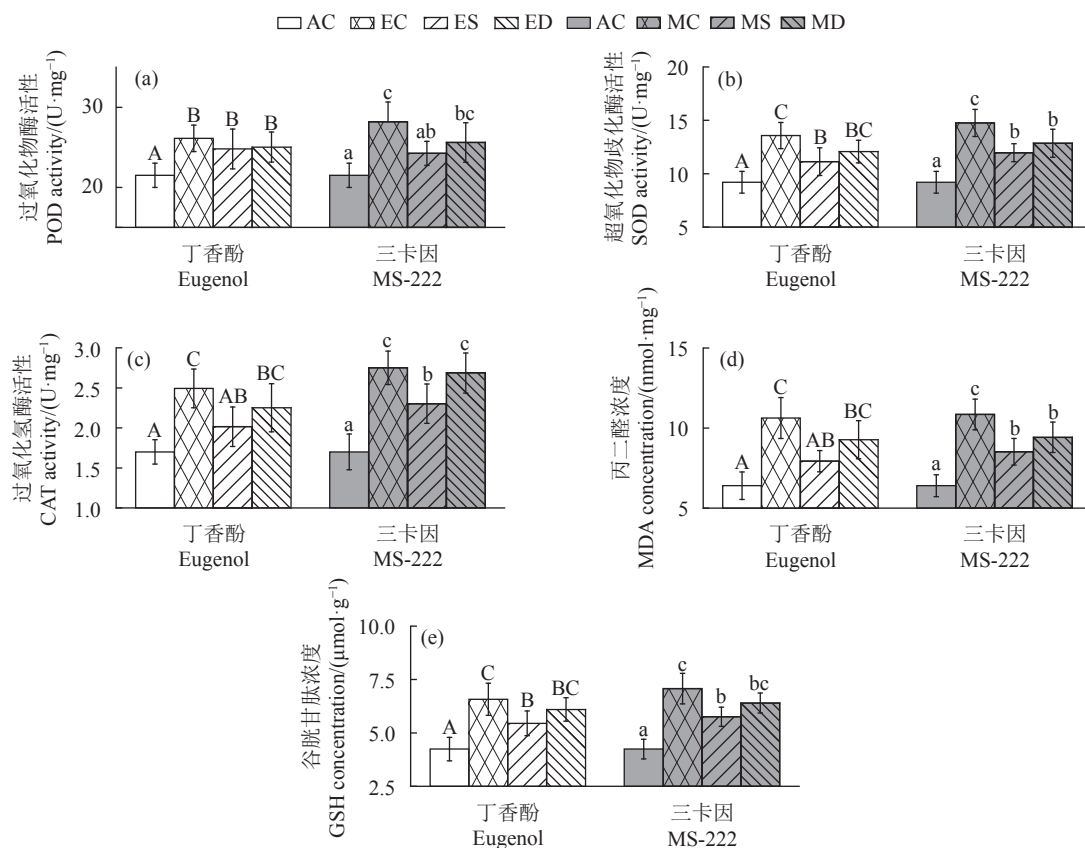


图3 鳃组织抗氧化指标 ($n=5$)

a. 过氧化物酶; b. 超氧化物歧化酶; c. 过氧化氢酶; d. 丙二醛; e. 谷胱甘肽; AC. 对照组; EC. 10 mg·L⁻¹ 丁香酚; ES. 8 mg·L⁻¹ 丁香酚+7% 石菖蒲挥发油; ED. 8 mg·L⁻¹ 丁香酚+3% 水溶性氮酮; MC. 50 mg·L⁻¹ MS-222; MS. 40 mg·L⁻¹ MS-222+7% 石菖蒲挥发油; MD. 40 mg·L⁻¹ MS-222+3% 水溶性氮酮; 组间大写或小写字母不同者差异显著 ($P < 0.05$)

Figure 3 Antioxidant indices of gill tissue ($n=5$)

a. POD; b. SOD; c. CAT; d. MDA; e. GSH; AC. Control group; EC. 10 mg·L⁻¹ eugenol; ES. 8 mg·L⁻¹ eugenol + 7% *A. tatarinowii* essential oil; ED. 8 mg·L⁻¹ eugenol + 3% water soluble azone; MC. 50 mg·L⁻¹ MS-222; MS. 40 mg·L⁻¹ MS-222 + 7% *A. tatarinowii* essential oil; MD. 40 mg·L⁻¹ MS-222 + 3% water soluble azone; values with different uppercase or lowercase letters were significantly different.

好。本研究中,随着2种PE质量分数增加,麻醉剂的麻醉效果呈先增强后减弱的趋势,这一结果说明PE对2种麻醉剂具有促透效果(若无促透效果,随PE质量分数增加,麻醉剂的麻醉效果不会出现减弱),但不排除存在协同和加成作用。目前,PE的增效方式暂不清晰,未来可根据麻醉剂在体内的浓度进行更深入的研究。

3.2 PE减少麻醉剂剂量分析

本研究显示,8 mg·L⁻¹的丁香酚和40 mg·L⁻¹的MS-222不能使幼鱼进入麻醉状态,加入质量分数为7%的石菖蒲挥发油或3%的水溶性氮酮后,幼鱼能顺利进入麻醉状态(图2),并且与10 mg·L⁻¹丁香酚和50 mg·L⁻¹MS-222的麻醉效果相似(图1),表明通过向麻醉剂加入PE可以减少麻醉剂使用剂量。这可能是由于PE改变了细胞脂质双

分子层结构,提高了麻醉剂的通透率和吸收速率,从而降低了对麻醉剂的需求。杨晓春等^[3]报道PE能减少给药剂量,这一结论与本研究结果一致。此外,有研究提出PE可增加经皮到达体内药物的有效治疗浓度^[24]。因此,通过向麻醉剂中加入PE,降低麻醉剂使用剂量可行。

3.3 鳃组织氧化应激比较分析

鳃是参与呼吸、酸碱平衡、离子平衡、含氮废物排泄、渗透调节等多功能的组织^[25-26],也被认为是衡量水质的生物指标^[27-28],是鱼体与外界水环境互动的重要通道。此外,鳃也是吸收麻醉剂的重要器官。当细胞受到氧化应激时,SOD和CAT是第一道抗氧化防线。SOD和CAT将超氧化物转化为水(H₂O)和氧气(O₂),消除了自由基的不利影响^[29-30],在此过程中POD调节H₂O₂的水平^[31]。因此,POD、SOD和CAT活性是衡量细胞抗氧化能

力的关键标志物^[32-33]。Ma等^[34]研究发现将鲤(*Cyprinus carpio*)暴露于草甘膦后, 鳃组织中的SOD和CAT活性升高; 姜会民^[35]研究发现, 鲤暴露于低剂量氯化汞(HgCl₂) POD活性出现升高。GSH是细胞中重要的抗氧化剂, 可以中和自由基或氧化剂, 从而对抗过氧化损伤^[36-37]; MDA是脂质氧化损伤的重要生物标志物^[38-39]。Jiao等^[26]发现将鲤暴露于毒死婢后, 鳃组织中GSH和MDA浓度显著增加。本研究中, 2种麻醉对照组较乙醇对照组POD、SOD、CAT活性和MDA、GSH浓度显著升高($P<0.05$), 可能是MS-222和丁香酚对幼鱼的鳃细胞造成了氧化应激, 导致鳃细胞抗氧化酶活性和抗氧化剂浓度升高。MS-222和丁香酚造成的麻醉应激是否会对鳃细胞造成损伤, 还有待进一步研究。此外, 2种麻醉对照组较促透麻醉组的抗氧化物显著上升($P<0.05$), 这可能是通过使用PE减少了MS-222或丁香酚的使用剂量, 降低了鳃组织所接触麻醉剂浓度, 进而减轻了MS-222或丁香酚对鳃组织造成的氧化应激。因此, 通过PE降低麻醉剂的使用剂量来减少对鳃的氧化应激可行。

石菖蒲挥发油和水溶性氮酮对丁香酚和MS-222有明显的促麻醉效果, 并能缩短中国花鲈的入麻时间和复苏时间, 但石菖蒲挥发油和水溶性氮酮用于水产品的食品安全性尚有待论证。

参考文献:

- [1] RUAN S F, WANG Z X, XIANG S J, et al. Mechanisms of white mustard seed (*Sinapis alba* L.) volatile oils as transdermal penetration enhancers[J]. *Fitoterapia*, 2019, 138: 104195.
- [2] PRAUSNITZ M R, LANGER R. Transdermal drug delivery[J]. *Nature Biotechnol*, 2008, 26(11): 1261-1268.
- [3] 杨晓春, 张强, 吴镭. 目前我国透皮给药系统研究的基本思路[J]. *中国新药杂志*, 2001, 10(5): 321-324.
- [4] 何治芬, 汤湛, 尹丽娜, 等. 氧化苦参碱凝胶体外经皮渗透及大鼠药动学研究[J]. *中国现代应用药学*, 2015, 32(11): 1336-1342.
- [5] 李希, 易晓霞, 黄嫣, 等. 天麻素经鼻给药剂型的吸收促进剂筛选[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(24): 25-28.
- [6] 刘开永, 汪开毓. 促渗剂——氮酮在水产中应用的可行性探讨[J]. *河北渔业*, 2007(5): 1-4.
- [7] 陈锡强, 韩利文, 刘可春, 等. 水溶性氮酮对斑马鱼胚胎药物渗透及致畸性作用的影响[J]. *实验动物与比较医学*, 2011, 31(2): 108-110.
- [8] FENG X L, YU Y, QIN D P, et al. *Acorus linnaeus*: a review of traditional uses, phytochemistry and neuropharmacology[J]. *RSC Adv*, 2015, 5(7): 5173-5182.
- [9] LU Y, XUE Y, CHEN S, et al. Antioxidant lignans and neolignans from *Acorus tatarinowii*[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22909.
- [10] ZHANG F H, WANG Z M, LIU Y T, et al. Bioactivities of serotonin transporter mediate antidepressant effects of *Acorus tatarinowii* Schott[J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 241: 111967.
- [11] 白一岑, 李艳杰, 马云淑. 石菖蒲等3种挥发油对雪上一枝蒿甲素经皮渗透的影响[J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(5): 513.
- [12] 李朝, 柯常亮, 古小莉, 等. 麻醉剂丁香酚对斑马鱼抑菌效果初步研究[J]. *南方水产科学*, 2019, 15(2): 60-65.
- [13] 王文豪, 董宏标, 孙永旭, 等. MS-222和丁香酚在大口黑鲈幼鱼模拟运输中的麻醉效果[J]. *南方水产科学*, 2018, 14(6): 54-60.
- [14] WANG W, DONG H, SUN Y, et al. The efficacy of eugenol and tricaine methanesulphonate as anaesthetics for juvenile Chinese sea bass (*Lateolabrax maculatus*) during simulated transport[J]. *J Appl Ichthyol*, 2019, 35(2): 551-557.
- [15] SOLTANIAN S, HOSEINIFAR S H, GHOLAMHOSSEINI A. Modulation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cutaneous mucosal immune responses following anesthesia: a comparative study on different anesthetic agents[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2018, 80: 319-324.
- [16] National Toxicology Program. NTP toxicology and carcinogenesis studies of methyleugenol (CAS NO. 93-15-2) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies)[J]. *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser*, 2000, 491: 1-412.
- [17] 刘双凤, 蔡勋. 鱼用麻醉剂的研究进展[J]. *黑龙江水产*, 2008(6): 40-43.
- [18] 张丽, 汪之和. MS-222对大黄鱼成鱼麻醉效果的研究[J]. *科技与产业*, 2010(18): 38-40.
- [19] PAWAR H B, SANAYE S V, SREEPADA R A, et al. Comparative efficacy of four anaesthetic agents in the yellow seahorse, *Hippocampus kuda* (Bleeker, 1852)[J]. *Aquaculture*, 2011, 311(1/2/3/4): 155-161.
- [20] COOKE S J, SUSKI C D, OSTRAND K G, et al. Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Aquaculture*, 2004, 239(1/2/3/4): 509-529.
- [21] 孙宇航, 王绿洲, 李锋刚. 丁香酚在罗非鱼体内的药物代谢动力学研究[J]. *水产科技情报*, 2018, 45(4): 218-222.
- [22] HUNN J B, ALLEN J L. Movement of drugs across the gills of fishes[J]. *Annual Rev Pharmacol*, 1974, 14(1): 47-54.
- [23] 王建新, 郭力. 如意巴布剂中透皮促进剂的筛选研究[J]. *中国中药杂志*, 1998, 23(2): 90-91.
- [24] 李扬, 王阳, 刘科攀. 中药挥发油作为透皮吸收促进剂的研究进展[J]. *药物评价研究*, 2011, 34(6): 474-477.
- [25] EVANS D H, PIERMARINI P M, CHOE K P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste[J]. *Physiol Rev*, 2005, 85(1): 97-177.
- [26] JIAO W, HAN Q, XU Y, et al. Impaired immune function and structural integrity in the gills of common carp (*Cyprinus carpio*

- L.) caused by chlorpyrifos exposure: through oxidative stress and apoptosis[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2019, 86: 239-245.
- [27] de DOMENICO E, MAUCERI A, GIORDANO D, et al. Biological responses of juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) exposed to contaminated sediments[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2013, 97: 114-123.
- [28] CAPPELLO T, BRANDÃO F, GUILHERME S, et al. Insights into the mechanisms underlying mercury-induced oxidative stress in gills of wild fish (*Liza aurata*) combining ¹H NMR metabolomics and conventional biochemical assays[J]. *Sci Total Environ*, 2016, 548: 13-24.
- [29] KOHEN R, NYSKA A. Invited review: oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification[J]. *Toxicol Pathol*, 2002, 30(6): 620-650.
- [30] 段亚飞, 董宏标, 王芸, 等. 干露胁迫对日本囊对虾抗氧化酶活性的影响 [J]. *南方水产科学*, 2015, 11(4): 102-108.
- [31] XU Y, LIANG Y, YANG M. Effects of composite LED light on root growth and antioxidant capacity of *Cunninghamia lanceolata* tissue culture seedlings[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 9766.
- [32] SHIAU S Y, GABAUDAN J, LIN Y H. Dietary nucleotide supplementation enhances immune responses and survival to *Streptococcus iniae* in hybrid tilapia fed diet containing low fish meal[J]. *Aquacult Rep*, 2015, 2: 77-81.
- [33] 王海锋, 成永旭, 李京昊, 等. 干露和再入水对克氏原螯虾抗氧化应激能力的影响 [J]. *南方水产科学*, 2019, 15(5): 69-76.
- [34] MA J, ZHU J, WANG W, et al. Biochemical and molecular impacts of glyphosate-based herbicide on the gills of common carp[J]. *Environl Poll*, 2019, 252: 1288-1300.
- [35] 姜会民. 氯化汞对鲤幼鱼鳃组织抗氧化系统和组织损伤研究 [J]. *生态毒理学报*, 2014, 9(5): 998-1003.
- [36] MING J, YE J, ZHANG Y, et al. Dietary optimal reduced glutathione improves innate immunity, oxidative stress resistance and detoxification function of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) against microcystin-LR[J]. *Aquaculture*, 2019, 498: 594-605.
- [37] 区又君, 陈世喜, 王鹏飞, 等. 低氧环境下卵形鲳鲹的氧化应激响应与生理代谢相关指标的研究 [J]. *南方水产科学*, 2017, 13(3): 120-124.
- [38] MIRGHAED A T, FAYAZ S, HOSEINI S M. Effects of dietary 1,8-cineole supplementation on serum stress and antioxidant markers of common carp (*Cyprinus carpio*) acutely exposed to ambient ammonia[J]. *Aquaculture*, 2019, 509: 8-15.
- [39] 朱筛成, 龙晓文, 向朝林, 等. 复合蛋白源替代鱼粉对中华绒螯蟹幼蟹生长性能, 生理代谢和生化组成的影响 [J]. *南方水产科学*, 2019, 15(2): 83-92.