

山茱萸不同部位提取物对急性肝损伤模型小鼠的保肝作用研究^Δ

南美娟*,唐 凯,张化为,崔春利,邓 翀*(陕西中医药大学药学院,陕西 咸阳 712046)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)17-2385-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.17.19

摘要 目的:研究山茱萸不同部位(果肉、果核和全果)提取物对醋氨酚所致小鼠急性肝损伤的保护作用,为其全面开发利用提供参考。方法:将120只小鼠随机分为正常对照组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、联苯双酯组(阳性对照,150 mg/kg)和山茱萸果肉、果核、全果提取物的低、中、高剂量组(以生药量计为1.56、6.24、12.48 g/kg),每组10只。灌胃给药,每天1次,连续7 d。末次给药后6 h,正常对照组小鼠腹腔注射生理盐水,其余各组小鼠腹腔注射醋氨酚300 mg/kg制备肝损伤模型。成模16 h后,测定小鼠血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、丙二醛(MDA)以及肝组织中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)水平,苏木精-伊红染色后观察小鼠肝组织病理变化。结果:与正常对照组比较,模型组小鼠血清中ALT、AST、MDA水平显著升高($P<0.01$),肝组织中SOD、GSH-Px水平显著降低($P<0.01$);肝组织可见炎性细胞浸润,伴随肝细胞变性、片状坏死。与模型组比较,山茱萸果肉提取物中剂量组小鼠血清中ALT、AST、MDA水平和山茱萸果肉提取物高剂量组小鼠血清中ALT、MDA水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),山茱萸果核提取物低剂量组小鼠血清中MDA水平和山茱萸果核提取物中、高剂量组小鼠血清中ALT、AST水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),山茱萸全果提取物中、高剂量组小鼠血清中ALT、AST水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);山茱萸不同部位提取物中、高剂量组小鼠肝细胞坏死均有不同程度减轻,其中山茱萸果核提取物中、高剂量组和山茱萸全果高剂量组小鼠肝小叶结构基本完整,未出现肝细胞片状坏死现象。结论:山茱萸不同部位提取物对醋氨酚所致急性肝损伤模型小鼠均具有保护作用,且以果核提取物作用最好;其保肝机制可能与抗氧化应激反应有关。

关键词 山茱萸;不同部位;醋氨酚;急性肝损伤;保肝作用;氧化应激;小鼠

Study on the Liver-protective Effects of Different Parts Extracts of *Cornus officinalis* on Acute Liver Injury Model Mice

NAN Meijuan, TANG Kai, ZHANG Huawei, CUI Chunli, DENG Chong (College of Pharmacy, Shaanxi University of TCM, Shaanxi Xi'an 712046, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the protective effects of different parts (fruit pulp, fruit core, whole fruit) extracts of *Cornus officinalis* on acetaminophen-induced acute liver injury in mice, and to provide reference for its complete development and utilization. **METHODS:** Totally 120 mice were randomly divided into normal control group (normal saline), model group (normal saline), bifendate group (positive control, 150 mg/kg), low-dose, medium-dose and high-dose groups (1.56, 6.24, 12.48 g/kg, calculated by crude drug) of *C. officinalis* fruit pulp, fruit core, whole fruit extracts, with 10 mice in each group. They were given relevant medicine intragastrically once a day for consecutive 7 d. 6 h after last medication, normal control group was given normal saline intraperitoneally, and other groups were given acetaminophen 300 mg/kg intraperitoneally to induce liver injury model. 16 h after modeling, the levels of ALT, AST and MDA in serum as well as the levels of GSH-Px and SOD in liver tissue were determined. HE staining was used to observe the pathological changes of liver tissue in mice. **RESULTS:** Compared with normal control group, the serum levels of ALT, AST and MDA in model group were increased significantly ($P<0.01$), while the levels of SOD and GSH-Px in liver tissue were decreased significantly ($P<0.01$); the inflammatory cell infiltration was observed in the liver tissue of the model group, accompanied by hepatocyte degeneration and flaky necrosis. Compared with model group, the serum levels of ALT, AST and MDA in *C. officinalis* fruit pulp extracts medium-dose group as well as the serum levels of ALT and MDA in *C. officinalis* fruit pulp extracts high-dose group were decreased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). Serum level of MDA in *C. officinalis* fruit core extracts low-dose group, the serum levels of ALT and AST in *C. officinalis* fruit core extracts medium-dose and high-dose groups were decreased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). The serum levels of ALT and AST were decreased significantly in *C. officinalis* fruit extracts medium-dose and high-dose groups ($P<0.05$ or $P<0.01$). The necrosis of liver cells was relieved in different parts of extracts *C. officinalis* middle-dose and high-dose groups to different extent. The structure of liver lobule was basically intact, and no necrosis of liver cells was observed in *C. officinalis* fruit core medium-dose and

Δ 基金项目:陕西省社会发展科技攻关项目(No.2015SF246)

* 硕士研究生。研究方向:中草药药效物质基础。电话:029-38185165。E-mail:1299634439@qq.com

通信作者:教授,博士。研究方向:中草药药效物质基础及中药炮制。电话:029-38185165。E-mail:fmmudz217@126.com

high-dose groups, *C. officinalis* fruit extracts high-dose group. **CONCLUSIONS:** Different parts extracts of *C. officinalis* have protective effects against acetaminophen-induced acute liver injury model mice, and the effect of *C. officinalis* fruit core extracts is similar to that of *C. officinalis* fruit extracts.

The mechanism of hepatoprotection may be related to anti-oxidative stress reaction.

KEYWORDS *Cornus officinalis*; Different parts; Acetaminophen; Acute liver injury; Liver protection; Oxidative stress; Mice

山茱萸来源于山茱萸科山茱萸属植物山茱萸(*Cornus officinalis* Sieb.et Zucc.)的干燥成熟果肉,味酸、涩,性微温,归肝、肾经,具有补益肝肾、涩精固脱的功效^[1]。山茱萸果核约占其全果质量的2/3,临床应用多以山茱萸果肉入药,而果核长期以来被当作废弃物丢弃,造成资源的极大浪费。有研究表明,山茱萸果核中部分成分与果肉相似,只是含量有所差异^[2-3]。现代药理研究表明,山茱萸果肉具有保肝、抗氧化、神经保护、心肌保护等功效^[4-6],而山茱萸果核同样具有抗氧化、抗衰老、抗疲劳、神经保护、心肌保护、抗菌、消炎等作用^[7-11],这提示山茱萸果核具有潜在的开发利用价值。因此,本研究将围绕开发利用山茱萸果核来探讨山茱萸不同部位的保肝作用。

醋氨酚,学名对乙酰氨基酚,具有解热镇痛的功效,过量使用有可能导致急性药物性肝损伤,且因其引起的肝损伤比例要远高于其他原因所致的肝损伤^[12]。故本研究采用醋氨酚制备小鼠急性药物性肝损伤模型,研究山茱萸果肉、果核及全果对小鼠的保肝作用,为山茱萸的全面开发利用提供参考。

1 材料

1.1 仪器

AL204电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司, $d=0.1\text{ mg}$]; ELx808吸收光酶标仪(美国伯腾仪器有限公司);DZKW-4电子恒温水浴锅(北京中兴伟业仪器有限公司);TDL-60B低速离心机(上海安亭科学仪器厂);e200生物显微镜[尼康仪器(上海)有限公司]。

1.2 药品与试剂

山茱萸药材采集于陕西中医药大学药用植物园(由陕西中医药大学胡本祥教授鉴定为山茱萸科植物山茱萸);醋氨酚标准品(上海源叶生物科技有限公司,批号:S31044,纯度:99.0%);联苯双酯滴丸(万邦德制药集团股份有限公司,批号:A02J151215,规格:1.5 mg/丸);丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号依次为20171230、20171230、20180103、20180103、20180103);乙醇、甲醛等均为分析纯。

1.3 动物

KM小鼠120只,清洁级,♀♂各半,体质量18~22 g,由成都达硕实验动物有限公司提供,实验动物生产合格证号:SCXK(川)2015-30。小鼠购入后,饲养于温度为18~23℃、相对湿度为45%~65%的动物房内。

2 方法

2.1 山茱萸不同部位提取物的制备

2.1.1 山茱萸果肉提取物 取山茱萸果肉,50℃烘干,取出,粉碎,过60目筛。精密称定果肉粉末约100 g,用8倍量70%乙醇回流提取2次,每次1 h。过滤,合并2次滤液,旋转蒸发溶剂,得山茱萸果肉提取物,得率为38.12%。

2.1.2 山茱萸果核提取物 取山茱萸果核,50℃烘干,取出,粉碎,过60目筛。精密称定果核粉末约100 g,用12倍量60%乙醇回流提取2次,每次1.5 h。过滤,合并2次滤液,旋转蒸发溶剂,得山茱萸果核提取物,得率为39.94%。

2.1.3 山茱萸全果提取物 取山茱萸全果,50℃烘干,取出,粉碎,过60目筛。精密称定全果粉末约100 g,用10倍量50%乙醇回流提取3次,每次1 h。过滤,合并3次滤液,旋转蒸发溶剂,得山茱萸全果提取物,得率为37.11%。

2.2 分组、给药与造模

将120只小鼠随机分为12组,分别为正常对照组、模型组、联苯双酯组(阳性对照)和山茱萸果肉、果核、全果提取物的低、中、高剂量组,每组10只。山茱萸果肉、果核、全果提取物的低、中、高剂量组小鼠分别灌胃按生药量计为1.56、6.24、12.48 g/kg的提取物[剂量参照2015年版《中国药典》(一部)中山茱萸用法用量及预实验结果设置]。正常对照组和模型组小鼠灌胃等体积的生理盐水,联苯双酯组小鼠灌胃联苯双酯150 mg/kg^[13]。每天给药1次,连续给药7 d。正常对照组小鼠于末次给药后6 h腹腔注射生理盐水;其余各组小鼠于末次给药后6 h腹腔注射醋氨酚300 mg/kg,复制肝损伤模型^[14]。

2.3 标本采集与处理

造模后各组小鼠均禁食不禁水,16 h后小鼠眼球取血,在4℃条件下以3 000 r/min离心10 min,分离血清,进行生化指标检测;剪取适量相同位置的肝组织标本,用10%的多聚甲醛溶液固定,进行肝组织形态学考察;取适量的肝组织于-70℃冷冻待用,用时取出,按肝质量(g):体积(mL)=1:9的比例加入生理盐水制备成10%肝组织匀浆。

2.4 生化指标检测

血清中ALT、AST、MDA水平的测定及肝组织中SOD、GSH-Px水平的测定均按照相应试剂盒说明书步骤操作。

2.5 肝组织病理学观察

取小鼠相同位置肝组织,用生理盐水冲洗干净后,滤纸拭干,浸泡于10%的多聚甲醛溶液中固定,常规石蜡包埋、切片(厚度4 μm),苏木精-伊红(HE)染色,显微镜下观察肝组织切片的病理学变化。

2.6 统计学方法

采用SPSS 19.0软件进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析和 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠血清中ALT、AST水平测定结果

与正常对照组比较,模型组小鼠血清中ALT、AST水平显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,联苯双酯组小鼠血清中仅ALT水平显著降低($P < 0.05$);山茱萸果肉提取物中剂量组小鼠血清中ALT、AST水平以及山茱萸果肉提取物高剂量组小鼠血清中ALT水平显著降低($P < 0.05$);山茱萸果核提取物中、高剂量组小鼠血清中ALT、AST水平显著降低($P < 0.01$);山茱萸全果提取物中、高剂量组小鼠血清中ALT、AST水平显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各组小鼠血清中ALT、AST水平测定结果见表1。

表1 各组小鼠血清中ALT和AST水平测定结果($\bar{x} \pm s, n=8, U/L$)

Tab 1 Levels of ALT, AST in serum of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=8, U/L$)

组别	ALT	AST
正常对照组	54.552 ± 10.239	41.456 ± 12.827
模型组	179.844 ± 52.405**	147.933 ± 43.561**
联苯双酯组	88.201 ± 34.205 [#]	95.605 ± 38.789 [#]
山茱萸果肉提取物低剂量组	161.165 ± 29.488	108.617 ± 24.954
山茱萸果肉提取物中剂量组	92.437 ± 50.511 [#]	74.300 ± 37.491 [#]
山茱萸果肉提取物高剂量组	87.070 ± 36.492 [#]	58.363 ± 37.294
山茱萸果核提取物低剂量组	149.326 ± 11.484	90.018 ± 46.586
山茱萸果核提取物中剂量组	62.344 ± 45.686 ^{##}	50.815 ± 24.278 ^{##}
山茱萸果核提取物高剂量组	70.336 ± 21.699 ^{##}	66.786 ± 35.429 ^{##}
山茱萸全果提取物低剂量组	105.788 ± 62.420	101.330 ± 81.952
山茱萸全果提取物中剂量组	93.439 ± 19.203 ^{##}	84.189 ± 35.067 ^{##}
山茱萸全果提取物高剂量组	74.146 ± 18.414 ^{##}	54.449 ± 23.189 ^{##}

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, ** $P < 0.01$; vs. model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

3.2 小鼠血清中MDA水平和肝组织中SOD、GSH-Px水平测定结果

与正常对照组比较,模型组小鼠血清中MDA水平显著升高($P < 0.01$),肝组织中SOD、GSH-Px水平显著降低($P < 0.01$)。与模型组比较,联苯双酯组小鼠肝组织中SOD、GSH-Px水平显著升高($P < 0.01$);山茱萸果肉提取物中、高剂量组小鼠血清中MDA水平显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),山茱萸果肉提取物中剂量组小鼠肝组织中SOD、GSH-Px水平和山茱萸果肉高剂量组小鼠肝组织中GSH-Px水平显著升高($P < 0.01$);山茱萸果核提取物各剂量组小鼠血清中MDA水平均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),肝组织中SOD、GSH-Px水平均显著升高($P < 0.01$);山茱萸全果提取物中、高剂量组小鼠血清中MDA水平显著降低($P < 0.01$),山茱萸全果提取

物低剂量组小鼠肝组织中SOD水平以及山茱萸全果提取物中、高剂量组小鼠肝组织中SOD、GSH-Px水平显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各组小鼠血清中MDA水平及肝组织中SOD、GSH-Px水平测定结果见表2。

表2 各组小鼠血清中MDA水平和肝组织中SOD、GSH-Px水平测定结果($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 2 Levels of MDA in serum and SOD, GSH-Px in liver tissue of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	血清		肝组织
	MDA, nmol/mL	SOD, U/mL	GSH-Px, U/mL
正常对照组	8.407 ± 1.974	262.524 ± 5.615	1 061.096 ± 93.838
模型组	26.540 ± 5.474**	215.767 ± 7.050**	527.116 ± 90.595**
联苯双酯组	25.699 ± 8.975	249.569 ± 13.927 ^{##}	937.553 ± 39.172 ^{##}
山茱萸果肉提取物低剂量组	28.112 ± 2.049	221.872 ± 3.470	494.057 ± 72.826
山茱萸果肉提取物中剂量组	14.214 ± 4.511 ^{##}	256.333 ± 8.311 ^{##}	872.350 ± 73.014 ^{##}
山茱萸果肉提取物高剂量组	20.208 ± 0.831 [#]	235.720 ± 4.094 ^{##}	611.537 ± 85.438
山茱萸果核提取物低剂量组	20.058 ± 1.669 [#]	234.492 ± 10.355 ^{##}	858.623 ± 48.182 ^{##}
山茱萸果核提取物中剂量组	9.092 ± 3.046 ^{##}	260.418 ± 3.934 ^{##}	1 022.279 ± 40.583 ^{##}
山茱萸果核提取物高剂量组	11.809 ± 1.330 ^{##}	239.964 ± 8.010 ^{##}	890.881 ± 59.418 ^{##}
山茱萸全果提取物低剂量组	25.757 ± 3.786	231.827 ± 11.035 [#]	526.430 ± 80.483
山茱萸全果提取物中剂量组	18.006 ± 1.202 ^{##}	253.540 ± 5.537 ^{##}	827.566 ± 62.365 ^{##}
山茱萸全果提取物高剂量组	14.504 ± 0.822 ^{##}	259.397 ± 7.883 ^{##}	932.663 ± 42.929 ^{##}

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, ** $P < 0.01$; vs. model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

3.3 小鼠肝组织病理学的观察结果

正常对照组小鼠肝组织正常,肝细胞呈放射状排列整齐,肝小叶结构完整。模型组小鼠肝组织均可见炎症细胞浸润,伴随肝细胞变性、片状坏死,肝小叶中央区周围细胞可见核破碎、甚至消失。与模型组比较,联苯双酯组和山茱萸果核、全果、果肉提取物的中、高剂量组小鼠的肝组织病变均有不同程度改善,肝细胞坏死明显减轻,其中山茱萸果核提取物中、高剂量组和山茱萸全果提取物高剂量组小鼠未见肝细胞片状坏死,肝小叶结构基本完整,效果优于果肉。各组小鼠肝组织病理学观察结果见图1。

4 讨论

醋氨酚致急性肝损伤是药物性肝损伤中最主要的一种类型,并且采用醋氨酚诱导实验动物产生的肝损伤与人肝损伤病理表现相似,常用作筛选保肝药物实验肝损伤模型的制备,故本研究选用在醋氨酚肝损伤小鼠模型上探讨山茱萸果肉、果核及全果提取物不同剂量的药效作用。本研究造模结果与文献报道的研究结果相一致^[5],大剂量醋氨酚可使急性肝损伤小鼠血清中ALT、AST和MDA水平显著升高,病理切片观察到模型组小鼠肝组织中存在变性及片状坏死,说明醋氨酚致急性肝损伤小鼠模型成功建立。

联苯双酯对肝损伤具有确切的防治作用,可以降低肝损伤患者血清中ALT、AST水平,故本研究以其为阳性对照药物^[6]。ALT与AST是诊断肝疾病最常用的酶,

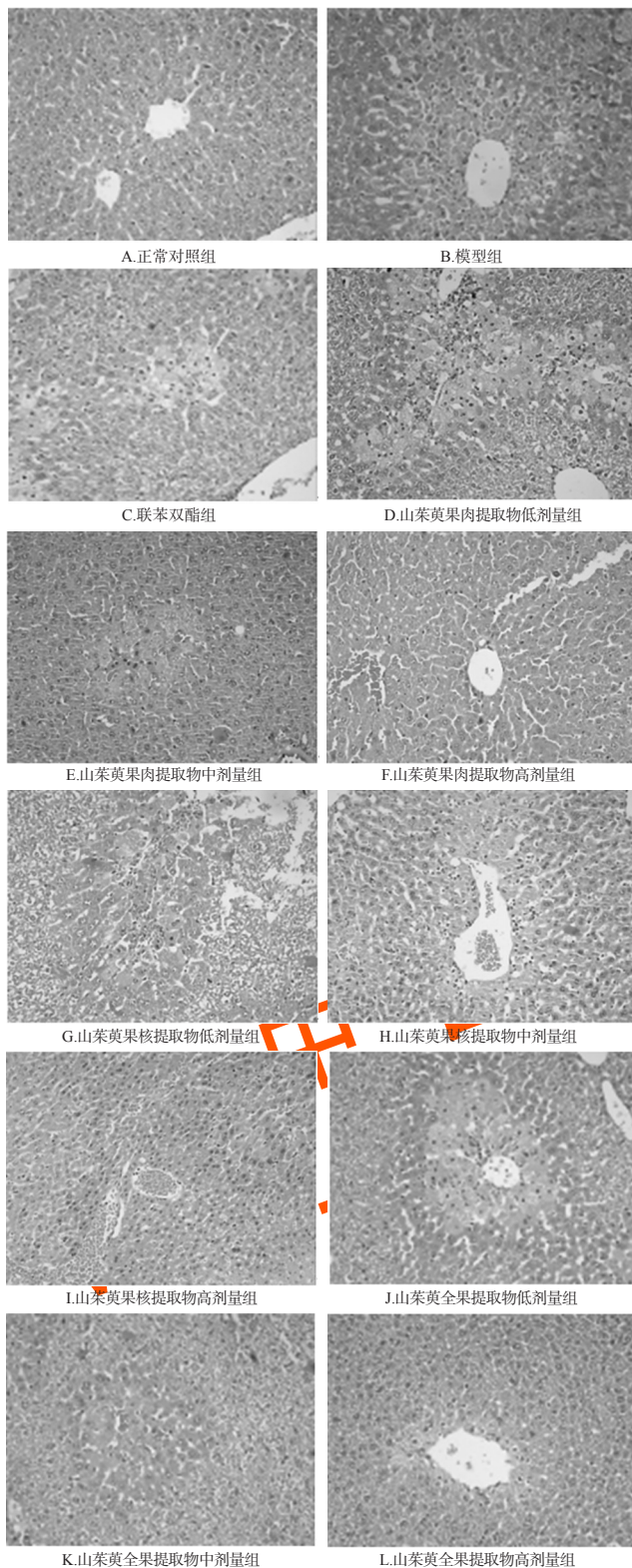


图1 各组小鼠肝组织病理学观察结果(HE, ×200)

Fig 1 Pathological observation of liver tissue in mice of each group(HE, ×200)

肝损伤后,小鼠肝细胞发生严重损伤,胞浆、线粒体中的酶释放入血,导致血清中ALT、AST水平显著升高。故本研究选择血清中ALT、AST水平来反映肝细胞受损的严重程度。本研究结果显示,中、高剂量山茱萸果核提取物和山茱萸全果提取物均能显著降低肝损伤小鼠血

清中ALT、AST水平,且变化水平较山茱萸果肉提取物组更明显,这提示山茱萸果核具有较好的保肝作用,且作用优于山茱萸果肉。此外,GSH-Px、SOD是机体内分解过氧化物的酶,MDA是机体脂质过氧化的终产物,MDA水平升高,SOD和GSH-Px水平降低,可引发氧化应激反应,导致细胞损伤。有文献研究结果表明^[7],醋氨酚诱导的肝损伤常伴有氧化应激反应的发生。因此本研究分别检测了GSH-Px、SOD和MDA的水平,来反映肝细胞的受损程度。结果显示,各剂量山茱萸果核提取物均能显著升高肝损伤小鼠肝组织中GSH-Px、SOD水平,显著降低肝组织中MDA水平,表现出较好的抗氧化活性;此外,中剂量山茱萸果肉提取物和中、高剂量山茱萸全果提取物也能显著升高肝损伤小鼠肝组织中GSH-Px、SOD水平,并降低血清中MDA水平。

综上所述,山茱萸药材不同部位提取物对醋氨酚所致小鼠急性肝损伤均具有不同程度的保护作用,且山茱萸果核提取物的效果优于山茱萸全果、果肉提取物,尤以中、高剂量山茱萸果核提取物保肝作用最为显著,这提示山茱萸果核可能具有较强的抗药物性肝损伤的潜力,可以作为保肝的药物被开发利用,其保肝机制可能是通过抗氧化应激抑制血清中ALT、AST、MDA水平的升高以及肝组织中SOD、GSH-Px水平的降低有关。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 27-28.
- [2] 张红玉, 徐建伟, 汪利丽. 山茱萸果核与果肉的抗炎药理作用对比性研究[J]. 浙江中医杂志, 2007, 42(12): 724-725.
- [3] 彭勃, 季玉荣. 山茱萸果核与果肉化学成分的对比较分析[J]. 河南中医药学刊, 1999, 14(2): 13-14.
- [4] 姜泽群, 李育, 江励华, 等. 制山茱萸活性部位对D-半乳糖致小鼠肝损伤的保护作用[J]. 中药材, 2013, 36(1): 85-89.
- [5] 张艳萍, 戴志远. 山茱萸提取物不同极性部位体外抗氧化活性研究[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(3): 98-102.
- [6] 杨明明, 袁晓旭, 赵桂琴, 等. 山茱萸化学成分和药理作用的研究进展[J]. 承德医学院学报, 2016, 33(5): 398-400.
- [7] 胡志红, 闫君宝, 路西明. 山茱萸果核醇提物对D-半乳糖衰老小鼠学习记忆及抗氧化能力的影响[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(8): 1799-1801.
- [8] 李晓明, 姜华, 李军, 等. 山茱萸果核中多酚的抗氧化活性研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(4): 902-903.
- [9] 方伟进, 李艳, 曹珊珊, 等. 山茱萸果核提取物耐疲劳和耐缺氧作用研究[J]. 河南科技大学学报(医学版), 2011, 29(3): 167-169.
- [10] 孙冠铎, 胡志红, 宋虎, 等. 山茱萸果核水提取物对东莨菪碱模型小鼠学习记忆的影响[J]. 河南科技大学学报(医学版), 2015, 33(2): 81-83.

UPLC法同时测定硫磺熏蒸前后当归中7种活性成分的含量^Δ

史雪霞^{1*},李 运²(1.青海大学附属医院药剂科,西宁 810001;2.兰州市食品药品检验所,兰州 730000)

中图分类号 R917;R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)17-2389-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.17.20

摘要 目的:建立同时测定硫磺熏蒸前后当归中阿魏酸、藁本内酯、丁烯基苯酞、洋川芎内酯A、洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、欧当归内酯A等7种活性成分含量的方法。方法:采用超高效液相色谱法。色谱柱为Waters BEH C₁₈,流动相为1%醋酸-甲醇(梯度洗脱),柱温为30℃,流速为0.35 mL/min,检测波长为254 nm,进样量为2 μL。结果:阿魏酸、藁本内酯、丁烯基苯酞、洋川芎内酯A、洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、欧当归内酯A检测进样量的线性范围分别为0.021 6~0.324 0、0.327 2~4.908 0、0.011 51~0.172 7、0.055 0~0.825 0、0.002 248~0.033 72、0.007 2~0.108、0.001 08~0.016 2 μg($r^2=0.999\ 1\sim 1.000\ 0$);检测限分别为3.7、0.56、0.52、2.02、0.007 6、1.16、0.64 ng;定量限分别为11.5、1.85、1.66、6.26、0.076、3.36、1.79 ng;精密度、稳定性、重复性试验的RSD均<3.0%($n=6$);7种成分平均加样回收率为95.79%~101.70%,RSD为2.10%~2.93%($n=6$)。硫磺熏蒸后对当归中7种活性成分含量的影响较大,总体呈下降趋势。结论:本研究建立的方法的精密度、稳定性、重复性均较好,可用于硫磺熏蒸前后当归中7种活性成分的含量测定;硫磺熏蒸后会降低当归中活性成分的含量。

关键词 当归;硫磺熏蒸;超高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of 7 Kinds of Active Components in *Angelica sinensis* before and after Sulfur Fumigation by UPLC Simultaneously

SHI Xuexia¹, LI Yun² (1.Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810001, China; 2.Lanzhou Institute for Food and Drug Control, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for content determination of 7 kinds of active components that as ferulic acid, ligustilide, *n*-butylidenephthalide, senkyunolide A, senkyunolide H, senkyunolide I and levistilide A in *Angelica sinensis* before and after sulfur fumigation simultaneously. METHODS: UPLC method was adopted. The determination was performed on Waters BEH C₁₈ column with mobile phase consisted of 1% acetic acid-methanol (gradient elution) at flow rate of 0.35 mL/min. The column temperature was 30℃, and detection wavelength was set at 254 nm. The sample size was 2 μL. RESULTS: The linear range for ferulic acid, ligustilide, *n*-butylidenephthalide, senkyunolide A, senkyunolide H, senkyunolide I and levistilide A was 0.021 6-0.324 0, 0.327 2-4.908 0, 0.011 51-0.172 7, 0.055 0-0.825 0, 0.002 248-0.033 72, 0.007 2-0.108, 0.001 08-0.016 2 μg ($r^2=0.999\ 1-1.000\ 0$), respectively. The limits of detection were 3.7, 0.56, 0.52, 2.02, 0.007 6, 1.16, 0.64 ng, respectively. The limits of quantitation were 11.5, 1.85, 1.66, 6.26, 0.076, 3.36, 1.79 ng, respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 3.0% ($n=6$). The average recovery rates of 7 kinds of active components were from 95.79% to 101.70% (RSD=2.10%~2.93%, $n=6$). The contents of active 7 kinds of active components in *A. sinensis* were greatly influenced by sulfur fumigation and had a downward trend in general. CONCLUSIONS: The established method is simple with good precision, stability and reproducibility and can be used for the content determination of 7 kinds of active components in *A. sinensis* before and after

- [11] 李晓明.山茱萸果核抗氧化活性的相关研究[D].洛阳:河南科技大学,2012.
- [12] LEE WM. Acetaminophen-related acute liver failure in the United States[J]. *Hepatol Res*, 2008, 38(1):S3-S8.
- [13] 徐博,沈楠,安英,等.汉防己多糖对急性酒精性肝损伤小鼠氧化应激及肝细胞凋亡的影响[J]. *中国药房*, 2017, 28(7):885-888.
- [14] 谢斌,俞大军,程绍民.加味小柴胡汤对醋氨酚所致肝损伤的保护作用[J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(1):130-131.

- [15] MASUBUCHI Y, SUDA C, HORIE T. Involvement of mitochondrial permeability transit in acetaminophen-induced liver injury in mice[J]. *J Hepatol*, 2005, 42(1):110-116.
- [16] 王春梅,李贺,李生,等.北五味子木脂素对小鼠酒精性肝损伤的保护作用[J]. *食品科学*, 2014, 35(13):262-265.
- [17] BHUSHAN B, CHAVAN HK, APTE U, et al. Dual role of epidermal growth factor receptor in liver injury and regeneration after acetaminophen overdose in mice[J]. *Toxicol Sci*, 2017, 155(2):363-378.

Δ 基金项目:兰州市科技计划项目(No.2016-3-17)

* 副主任药师。研究方向:医院药学。电话:0971-6162050。

E-mail:515798280@qq.com

(收稿日期:2018-05-07 修回日期:2018-07-08)

(编辑:林 静)