

基于 HPLC 指纹图谱和多成分同时测定的护肝剂质量评价研究

侯文¹, 刘宏胜^{1*}, 王树森^{1*}, 张雅敏²

1. 天津市第一中心医院 国家卫生健康委员会危重病急救医学重点实验室, 天津 300192

2. 天津市第一中心医院 肝胆外科, 天津 300192

摘要: **目的** 建立护肝剂的 HPLC 指纹图谱, 并对马钱素、芍药苷、野黄芩苷、黄芩苷、黄芩素、五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素和熊果酸 9 种成分同时测定, 为护肝剂的质量控制提供科学依据。**方法** 采用安捷伦 Zorbax SB-C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 以乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 紫外检测波长 236、280、210 nm; 进样量 5 μL; 建立 10 批护肝剂 HPLC 指纹图谱共有模式, 并采用化学计量学方法分析, 同时对其 9 种有效成分进行定量测定。**结果** 建立了护肝剂的 HPLC 指纹图谱, 标识出 39 个共有峰, 相似度均在 0.9 以上。系统聚类分析和主成分分析将样本大致分为 4 类。多成分定量分析条件通过方法学考察, 平均加样回收率在 95.13%~104.78%; 10 批护肝剂中含马钱素、芍药苷、野黄芩苷、黄芩苷、黄芩素、五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素和熊果酸的平均质量浓度分别在 216.3~223.0、126.1~137.1、144.7~149.0、1623.1~1992.7、481.9~520.0、14.9~18.7、33.8~37.0、2.9~3.7、39.7~43.6 mg/L。**结论** HPLC 指纹图谱结合多成分同时测定的方法, 快速、简便、重复性好, 可作为护肝剂的质量控制方法。

关键词: 护肝剂; HPLC; 指纹图谱; 系统聚类分析; PCA 分析; 马钱素; 芍药苷; 野黄芩苷; 黄芩苷; 黄芩素; 五味子甲素; 五味子乙素; 五味子丙素; 熊果酸

中图分类号: R286.02

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2018)24-5830-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.24.015

Quality evaluation of Liver-protection Agent based on HPLC fingerprint and simultaneous determinations of multiple components

HOU Wen¹, LIU Hong-sheng¹, WANG Shu-sen¹, ZHANG Ya-min²

1. NHC Key Laboratory of Critical Care Medicine, Tianjin First Center Hospital, Tianjin 300192, China

2. Department of Hepatobiliary Surgery, Tianjin First Center Hospital, Tianjin 300192, China

Abstract: Objective To establish HPLC fingerprint strategy to simultaneously determine nine components in Liver-protection Agent, including loganin, paeonflorin, scutellarin, baicalin, baicalein, deoxyschizandrin, schisandrin, schizandrin C, and ursolic acid, and provide a scientific basis for the quality control of Liver-protection Agent and related medicinal preparations. **Methods** The analytical analysis was performed on an Agilent 1260-HPLC system equipped with a VWD detector and SB-C₁₈ reversed phase column (Zorbax 150 mm × 4.6 mm, 5 μm). The analytes were eluted using a gradient mixture of two solvent: solvent A was distilled deionized water containing 0.1% ortho-phosphoric acid and solvent B was 100% acetonitrile. The mobile phase flow rate was 1.0 mL/min. The separation temperature was 30 °C. The detection wavelengths were 236, 280, and 210 nm. The injection volume was 5 μL. Common patterns of HPLC fingerprints for 10 batches of Liver-protection Agent medicinal preparations were established, and chemometric analysis method was employed to analyze the hidden information. At the same time, methodological study was conducted for determinations of multiple components including loganin, paeonflorin, scutellarin, baicalin, baicalein, deoxyschizandrin, schisandrin, schizandrin C, and ursolic acid. **Results** The HPLC fingerprint strategy of Liver-protection Agent medicinal preparation had been set up, and 37 common peaks had been identified with the similarity of more than 0.9. Moreover, the samples were roughly divided into four categories by the methods of the systematic cluster analysis and principle component analysis. After validating the multiple component quantitative analysis condition through methodology, the average recovery rate was between 95.13% and 104.8%.

收稿日期: 2018-08-10

作者简介: 侯文, 女, 博士。E-mail: houwen_fch@126.com

*通信作者 刘宏胜, 女, 硕士。E-mail: lhswm@sina.com

王树森, 男, 博士。

The average mass concentration of loganin, paeonflorin, scutellarin, baicalin, baicalein, deoxyschizandrin, schisandrin, schizandrin C, and ursolic acid in ten batches of Liver-protection Agent was 216.3—223.0, 126.1—137.1, 144.7—149.0, 1 623.1—1 992.7, 481.9—520.0, 14.9—18.7, 33.8—37.0, 2.9—3.7, and 39.7—43.6 mg/L, respectively. **Conclusion** The combination methods of HPLC fingerprint and simultaneous determinations of multiple components are rapid, simple, and reproducible, which can be adopted as one of the quality control methods for Liver-protection Agent and related medicinal preparations.

Key words: Liver-protection Agent; HPLC; fingerprint; systematic cluster analysis; PCA analysis; loganin; paeonflorin; scutellarin; baicalin; baicalein; deoxyschizandrin; schisandrin; schizandrin C; ursolic acid

当前,病毒性肝炎仍然是世界范围内最常见的一类肝脏疾病。在我国约有 1.3 亿人口是乙肝携带者,是世界上乙肝病毒感染者最多的国家^[1]。巨大的乙肝病毒携带人群,为肝癌的发病提供了“温床”。如果能够在早期对乙肝患者的病情进行有效控制,将会在一定程度上降低肝癌的发生率。中医药凭借其独特的理论体系在改善慢性乙型肝炎患者的肝功能、调节机体免疫、减缓肝脏纤维化的进程及提高患者生活质量等方面具有独特的优势^[2-3]。

护肝剂主要由五味子、山茱萸、黄芩、白芍、三七、柴胡等中药组成。马钱素和熊果酸是山茱萸中的主要活性成分。其中,马钱素对丙肝病毒编码的 NS₅ 蛋白酶有抑制作用,能明显抑制天冬氨酸氨基转氨酶(AST)、丙氨酸氨基转氨酶(ALT)活性,具有明显的肝保护作用^[4-5]。熊果酸可抑制各种肝损伤模型的氧化应激反应^[6],还可诱导自噬相关蛋白 LC3-II(LC3-II)和自噬基因 beclin1 的表达,激活啮齿类动物非酒精性脂肪肝小鼠模型的细胞自噬作用^[7]。此外,熊果酸还可调节肝脏内 β 氧化和内质网应激反应,减弱 2 型糖尿病小鼠肝脏的脂肪变性^[8]。芍药苷是白芍中的主要活性成分,能显著降低尿素氮肌酐的水平,抑制 IL-1 β mRNA 的表达,抑制 CXCR3/CXCL11 信号通路的过度激活,改善 ConA 所致的肝损伤^[9]。野黄芩苷、黄芩素和黄芩苷是黄芩中的主要活性成分。其中,黄芩苷能够有效抑制 HepG2.2.15 细胞分泌乙型肝炎病毒抗原,改善肝功能^[10-11]。黄芩素在 200、500 $\mu\text{g/g}$ 剂量时,能明显降低转氨酶水平,并抑制脂质过氧化,对肝脏有明显的保护作用^[12]。野黄芩苷具有抑制肿瘤细胞活性、抗血小板聚集、降低脑血管阻力、改善脑血液循环等功效,与黄芩苷、黄芩素协同发挥对抗肝纤维化、肝损伤的药理作用^[13];五味子甲素、五味子乙素和五味子丙素都属于木脂素类成分,是五味子中的主要活性物质,具有明显的保肝降酶作用,对损伤肝细胞具有一定的保护作用^[14]。

中药复方发挥药效的物质基础是有效化合物

群,包含多种活性成分,其治疗是一个整体协调的过程^[15-16]。指纹图谱技术可全面反映中药化学成分的种类与数量,中药指纹图谱目前已成为国际上公认的控制天然药物质量的有效手段^[17]。本研究采用 RP-HPLC 法对 10 批护肝剂进行指纹图谱研究及化学模式识别,并对该制剂中马钱素、芍药苷、野黄芩苷、黄芩苷、黄芩素、五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素和熊果酸 9 种活性成分进行了定量测定,为护肝剂的质量控制提供了科学依据。

1 仪器与材料

Agilent 1260 型高效液相色谱仪,包括四元泵, G1311C、自动进样器, G1329B、VWD 检测器, G1314F、色谱工作站,安捷伦科技有限公司; AE240 精密电子分析天平,梅特勒-上海托利多仪器;超纯水器,法国 Millipore 公司;万能粉碎机,北京中兴伟业仪器有限公司制造;超声提取器,宁波新艺生物科技股份有限公司;电热鼓风干燥箱,天津市三水科学仪器有限公司。

对照品马钱素(批号 20150112)、芍药苷(批号 20141205)、野黄芩苷(批号 20150306)、黄芩苷(批号 20150129)、黄芩素(批号 20150415)、五味子甲素(批号 20141204)、五味子乙素(批号 20150430)、五味子丙素(批号 20150506)和熊果酸(批号 20150727)均购自南昌品正商贸有限公司,质量分数均 $\geq 98.0\%$ 。乙腈、甲醇,色谱纯,德国 Merck 公司;磷酸,色谱纯,天津市光复精细化工研究所;乙醇,色谱纯,天津市北联精细化学品开发有限公司;实验用水为二次纯化水,天津市第一中心医院药厂提供。

药材山茱萸(批号 131203)、黄芩(批号 131129)、白芍(批号 140130)、五味子(批号 140113),三七(批号 141216)、柴胡(批号 140619),中国安国市昌达中药材饮片有限公司,经天津中医药大学李天祥教授鉴定,分别为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉、毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 干燥根、

唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根、木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实、五加科人参属植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根和根茎、柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 的干燥根。

护肝剂样品(液体制剂),由天津市第一中心医院重点实验室自行研制,批号分别为 20160823 (S1)、20160919 (S2)、20160927 (S3)、20161027 (S4)、20161116 (S5)、20161129 (S6)、20161219 (S7)、20170329 (S8)、20170419 (S9)、20170427 (S10)。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液的制备 取护肝剂 1 mL 置于 PE 管中,水浴蒸干,加入 85%乙醇 1 mL,称质量,在 250 W、40 kHz、30 °C 条件下超声提取 30 min,用 85%乙醇填补损失的质量。滤液过 0.22 μm 微孔滤膜,进样 5 μL。

2.1.2 护肝剂缺黄芩的阴性对照溶液的制备 按护肝剂的制备方法制得除黄芩的护肝剂,取 1 mL 置于 PE 管中,水浴蒸干,其余操作同“2.1.1”项。

2.1.3 护肝剂缺五味子的阴性对照溶液的制备 按护肝剂的制备方法制得除五味子的护肝剂,取 1 mL 置于 PE 管中,水浴蒸干,其余操作同“2.1.1”项。

2.1.4 护肝剂缺白芍的阴性对照溶液的制备 按护肝剂的制备方法制得除白芍的护肝剂,取 1 mL 置于 PE 管中,水浴蒸干,其余操作同“2.1.1”项。

2.1.5 护肝剂缺山茱萸的阴性对照溶液的制备 按护肝剂的制备方法制得除山茱萸的护肝剂,取 1 mL 置于 PE 管中,水浴蒸干,其余操作同“2.1.1”项。

2.2 色谱条件

色谱柱为 Zorbax SB-C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液,梯度洗脱:0~15 min, 14%~16.5%乙腈;15~17.5 min, 16.5%~21.5%乙腈;17.5~33 min, 21.5%~33%乙腈;33~55 min, 33%~43%乙腈;55~63 min, 43%~53%乙腈;63~103 min, 53%~63%乙腈;103~128 min, 63%~73%乙腈;分段变波长测定:0~13.5 min 为 236 nm,检测马钱素和芍药苷,13.6~40 min 为 280 nm,检测野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素,40.1~120 min 为 210 nm,检测五味子甲、乙、丙素和熊果酸;体积流量 1.0 mL/min;柱温 30 °C;进样量 5 μL。

2.3 指纹图谱的方法学考察

2.3.1 精密度试验 取同一供试品溶液(S6),按“2.2”项下的色谱条件连续进样 6 次,其中 12 号峰峰面积较大,经与对照品比对为黄芩苷,且不同批次样品中稳定存在,故选其为参照峰,计算色谱图中各共有峰相对保留时间的 RSD 小于 0.69%,各共有峰相对峰面积的 RSD 小于 1.49%,符合指纹图谱的要求。

2.3.2 稳定性试验 取同一供试品溶液(S6),按“2.2”项下的色谱条件,分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样测定,以 12 号色谱峰(黄芩苷)为参照峰,计算色谱图中各共有峰相对保留时间的 RSD 小于 0.47%,各共有峰相对峰面积的 RSD 小于 1.49%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.3 重复性试验 取同一供试品溶液(S6),按“2.1.1”项下的方法平行制备供试品溶液,按“2.2”项下的色谱条件进行测定,以 12 号色谱峰(黄芩苷)为参照峰,计算色谱图中各共有峰相对保留时间的 RSD 小于 0.70%,各共有峰相对峰面积的 RSD 小于 1.51%,符合指纹图谱的要求。

2.4 指纹图谱的建立及相似度评价

对 10 批护肝剂制剂按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液进行测定。采用国家药典委员会颁布的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A 版)对 10 批护肝剂制剂样品(设为 S1~S10)的图谱数据进行分析,标定共有峰 39 个,设置 S6 为参照指纹图谱,采用多点校正后进行自动匹配,建立 10 批护肝剂制剂的 HPLC 共有模式图,结果见图 1、2。

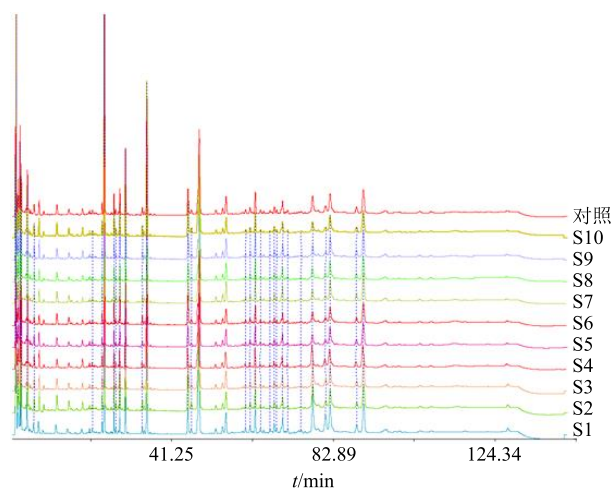
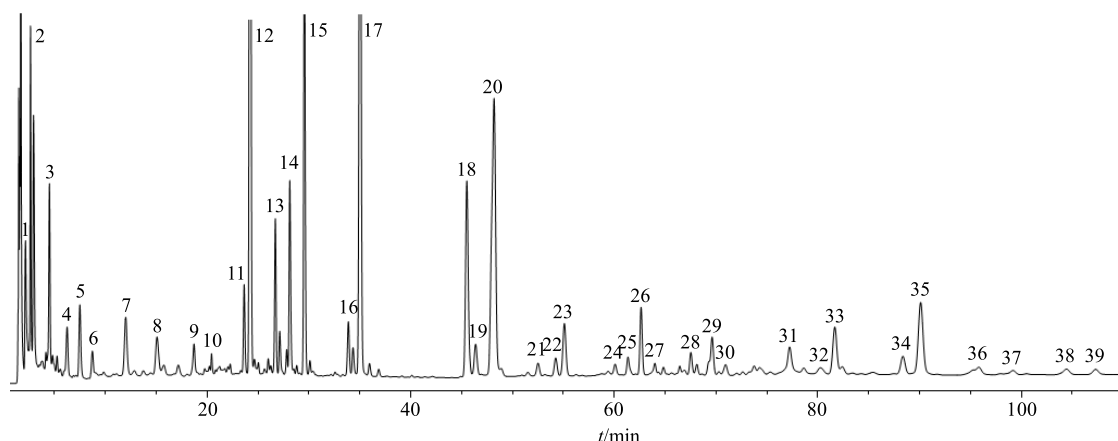


图 1 10 批护肝剂的 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of medicinal preparation of Liver-protection Agent from different batches



3-马钱素 5-芍药苷 8-野黄芩苷 12-黄芩苷 17-黄芩素 33-五味子甲素 35-五味子乙素 36-五味子丙素 38-熊果酸
3-loganin 5-paeonflorin 8-scutellarin 12-baicalin 17-baicalein 33-deoxyschizandrin 35-schisandrin 36-schizandrin C 38-ursolic acid

图 2 护肝剂对照指纹图谱

Fig. 2 Control fingerprint of medicinal preparation of Liver-protection Agent

通过与混合对照品色谱图比对，指出其中的 9 个共有峰，其中 3、5、8、12、17、33、35、36、37 号共有峰分别为马钱素、芍药苷、野黄芩苷、黄芩苷、黄芩素、五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、熊果酸。10 批 (S1~S10) 护肝剂制剂供试品色谱图与对照指纹图谱相似度分别为 0.940、0.984、0.975、0.958、0.957、1.000、0.975、0.931、0.975、0.986。

2.5 系统聚类分析

以 10 批护肝剂制剂指纹图谱中 39 个共有峰的相对峰面积为变量，运用 SPSS 19.0 数据统计分析软件对其进行系统聚类分析，选用组间联接聚类方法，采用欧式距离度量标准，计算样品的相似性程度，聚类结果见图 3。结果显示，10 批护肝剂制剂

分为 4 类，其中样品编号 2 聚为一类，样品编号 6、10 聚为一类，样品编号 4、5、8 聚为一类，样品编号 3、9、7、1 聚为一类。结果表明护肝剂质量较为均一、稳定，不同批次间的一致性较强，为护肝剂制剂疗效的稳定提供了保证。

2.6 主成分分析 (PCA)

PCA 是一种线性降维方法，由于原数据的维度过高，通过一些投影变换，将高维数据投影到低维度中，然后再观察数据的特点，以便对数据进行进一步的观察和处理。该方法已经广泛用于中药材品质及中药制剂稳定性的综合评价与分类鉴别。

本实验将 10 批护肝剂制剂样本的 39 个共有峰峰面积进行标准化处理，计算相关系数矩阵、特征值和方差贡献率。结果见图 4。由 PCA 图可以看出，通过 PCA 将 10 批药材分为 4 大类，其中 S2 为一类，S6、S10 为一类，S4、S8、S5 为一类，S3、

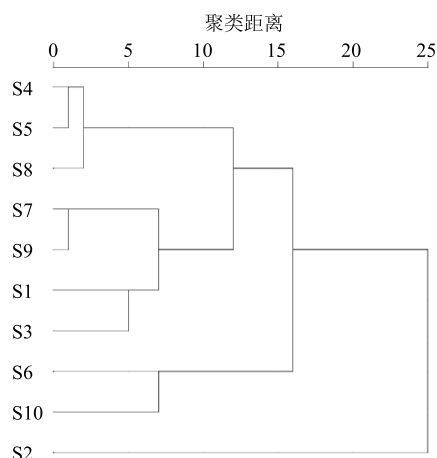


图 3 10 批护肝剂的聚类分析

Fig. 3 Clustering analysis on ten batches of medicinal preparation of Liver-protection Agent

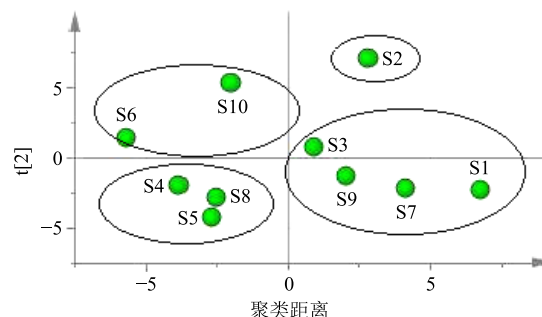


图 4 10 批护肝剂 PCA 图

Fig. 4 PCA of ten batches of medicinal preparation of Liver-protection Agent

S9、S7、S1 为一类。与聚类分析结果一致。

2.7 9 种成分含量测定

按照本课题组前期建立方法^[18]进行测定。取 10 批护肝剂 (S1~S10) 各 1 mL, 按“2.1.1”项方法处理后, 按“2.2”项色谱条件进行测定, 结果见表 1。可知 10 批护肝剂中含马钱素、芍药苷、野黄芩苷、黄芩苷、黄芩素、五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素和熊果酸的平均质量浓度分别在

216.3~223.0、126.1~137.1、144.7~149.0、1 623.1~1 992.7、481.9~520.0、14.9~18.7、33.8~37.0、2.9~3.7、39.7~43.6 mg/L。该实验结果与课题组前期测定的该 9 种成分的数值^[18]接近, 说明该检测方法简便可行、不同批次间的一致性较强、制剂质量稳定, 是检测中药制剂中含有马钱素、芍药苷、野黄芩苷、黄芩苷、黄芩素、五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素和熊果酸的可信方法。

表 1 10 批护肝剂样品中 9 种成分测定结果

Table 1 Determination of nine components in 10 batches of medicinal preparations of Liver-protection Agent

样品	质量浓度/(mg·L ⁻¹)								
	马钱素	芍药苷	野黄芩苷	黄芩苷	黄芩素	五味子甲素	五味子乙素	五味子丙素	熊果酸
S1	217.9	127.2	146.9	1 762.1	500.2	15.9	36.1	3.7	43.0
S2	216.3	128.3	148.3	1 665.2	512.3	18.0	35.7	3.5	41.2
S3	222.5	137.1	145.3	1 978.1	499.0	17.1	36.5	3.6	42.9
S4	216.1	126.1	149.0	1 988.6	515.6	16.5	34.9	3.6	41.0
S5	220.7	134.2	146.6	1 856.1	491.7	18.7	33.8	3.4	40.5
S6	221.6	129.1	147.0	1 775.2	520.0	15.1	36.3	3.0	42.7
S7	217.0	126.9	143.8	1 992.5	517.6	16.3	35.1	2.9	43.6
S8	216.7	136.1	144.7	1 689.7	481.9	14.9	37.0	3.4	39.9
S9	223.0	130.5	147.6	1 992.7	489.6	17.5	36.1	2.9	39.7
S10	221.9	129.6	145.2	1 623.1	501.1	16.1	35.5	3.6	43.2

3 讨论

中药质量的评价方法是传统中药制剂进入世界及被国际认可的关键所在。而中药指纹图谱已被业内人士认可, 具有广阔的发展空间。由于中药指纹图谱全面反映了中药内在化学成分的种类与数量, 与中药活性成分研究密切相关, 因而能体现出中药的内在质量。护肝剂是由山茱萸、芍药、黄芩等几味中药经提取加工而成的制剂, 而指纹图谱能较为全面、客观地反映该制剂对抗肝损伤的诸多活性成分。根据中医学整体观念的理论, 通过护肝剂复方中活性成分间的协调作用, 达到对肝损伤小鼠机体多层面的调节, 有效改善肝功能。可见中药指纹图谱为中药质量控制和监督提供了一种有效的方法。

护肝剂 9 种活性成分中, 其中马钱素、芍药苷、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素的极性较接近, 容易同时分离分析。同样五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素和熊果酸的极性也较接近, 同时分离也易实现。但是, 前 5 种成分与后 4 种成分的极性相差较大, 同时分离分析确有一定的难度。首先通过对这 9 种活性成分进行紫外可变波长扫描, 发现马钱素

和芍药苷在 236 nm 均有较大的吸收; 黄芩苷、野黄芩苷和黄芩素在 280 nm 有较大的吸收; 五味子甲、乙、丙素及熊果酸在 210 nm 均有较大的吸收。因而, 将 236、280、210 nm 作为这 9 种成分的检测波长。野黄芩苷本身显弱酸性, 芍药苷在酸性环境中稳定, 因而, 选择 0.1% 磷酸水溶液和洗脱能力较强的乙腈作为流动相。在分离熊果酸成分时, 其峰存在色谱峰扩展和基线漂移等问题。在使用了 0.1% 磷酸水溶液作为流动相后, 不仅解决了这些问题, 还提高了分析的准确性。

本研究在确定 0.1% 磷酸水和乙腈作为流动相后, 再根据 9 种成分的化学结构的特征, 经过多次尝试, 最终确定色谱条件, 成功实现运用 RP-HPLC 同时测定了马钱素、芍药苷、野黄芩苷、黄芩苷、黄芩素、五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素和熊果酸的含量。

本研究在建立护肝剂制剂中马钱素、芍药苷、野黄芩苷、黄芩苷、黄芩素、五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素及熊果酸对照图谱的基础上, 比较了各样本的相似性。该方法较好地反映了各制剂

HPLC 指纹图谱的差异性。在此基础上应用聚类分析和 PCA 2 种方法对护肝剂制剂各样进行进一步研究, 将 HPLC 指纹图谱相似度评价与基于 HPLC 指纹图谱的数学识别模式结合起来使用, 可以相互补充和印证。

参考文献

- [1] Torre L A, Bray F, Siegel R L, *et al.* Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] 吴仕娇, 王碧君, 林 曦, 等. 三味干姜散对两种实验性肝损动物模型的调控作用研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2016, 27(6): 750-755.
- [3] 满姗姗, 王立新. 基于数据挖掘及辨证论治探讨中药治疗肝病的用药特点 [J]. *中草药*, 2016, 47(15): 2775-2778.
- [4] 纪海霞, 马宏达, 赵庆春, 等. 高效液相色谱法测定益肝防石颗粒中马钱苷的含量 [J]. *中国药师*, 2014, 17(3): 514-515.
- [5] 杨剑芳, 路福平, 高文远. 山茱萸的化学、药理及开发应用研究进展 [J]. *现代生物医学进展*, 2006, 12(6): 127-133.
- [6] Ma J Q, Ding J, Zhang L, *et al.* Ursolic acid protects mouse liver against CCl₄-induced oxidative stress and inflammation by the MAPK/NF- κ B pathway [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014, 37(3): 975-983.
- [7] Jia Y, Kim S, Kim J, *et al.* Ursolic acid improves lipid and glucose metabolism in high-fat-fed C57BL/6J mice by activating peroxisome proliferator-activated receptor α and hepatic autophagy [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2015, 59(2): 344-354.
- [8] Li J S, Wang W J, Sun Y, *et al.* Ursolic acid inhibits the development of nonalcoholic fatty liver disease by attenuating endoplasmic reticulum stress [J]. *Food Funct*, 2015, 6(5): 1643-1651.
- [9] Liu C, Cheng Z, Wang Y, *et al.* Paeonidlorin exerts a nephroprotective effect on concanavalin A-induced damage through inhibition of macrophage infiltration [J]. *Diagn Pathol*, 2015, 10(1): 120-124.
- [10] 周 曙, 蔡 涛, 覃兴贵, 等. 黄芩苷诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡的 p38MAPK 途径研究 [J]. *临床军医杂志*, 2015, 4(23): 384-387.
- [11] 杨先照, 江 锋, 茹淑瑛, 等. 中医治疗乙型肝炎肝硬化用药规律的文献研究 [J]. *中国医药导报*, 2017, 14(18): 157-160.
- [12] 韩 泳, 王 玉, 崔燕芒, 等. 黄芩素对四氯化碳诱导小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(6): 883-884.
- [13] 颜 承, 徐冠玲, 谢 梦, 等. 野黄芩苷和黄芩素制备研究进展 [J]. *中成药*, 2015, 37(8): 1785-1790.
- [14] 姚 莹, 寿迪文, 崔勤敏. 南、北五味子中木质素对急性肝损伤小鼠保护作用的比较 [J]. *中华中医药学刊*, 2014, 32(6): 1465-1467.
- [15] 张红阳, 李雪激, 姚雪莲, 等. 肝损伤的分子机制及其中药药理研究进展 [J]. *中药新药与临床药理*, 2016, 27(5): 448-455.
- [16] Liu C X, Cheng Y Y, Guo D A, *et al.* A new concept on quality marker for quality assessment and process control of Chinese medicines [J]. *Chin Herb Med*, 2017, 9(1): 3-13.
- [17] 刘素香, 刘 毅, 白 雪, 等. 败酱草指纹图谱研究 [J]. *中草药*, 2016, 47(12): 2074-2077.
- [18] 刘宏胜, 王树森, 张雅敏, 等. RP-HPLC 同时测定护肝剂中 9 种活性成分 [J]. *中草药*, 2016, 47(6): 933-937.