昆仑雪菊原花青素对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用

翟红月[1]，敬思群[2]，柴文杰[1]，赵正梅[1]
（1.新疆大学生命科学与技术学院，新疆乌鲁木齐 830046）
（2.韶关学院英东食品科学与工程学院，广东韶关 512005）

摘要：本文研究了昆仑雪菊原花青素（KCPC）对四氯化碳(CCl_4)致小鼠急性肝损伤的保护作用。采用 CCl_4 建立肝损伤模型，观察 KCPC 对肝损伤小鼠肝脏病理变化和肝脏指数等的影响；检测小鼠丙氨酸转氨酶（ALT）、天冬氨酸转氨酶（AST）水平和超氧化物歧化酶（SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）活性及丙二醛（MDA）含量；采用 Fe^{2+}-Vc 诱导线粒体细胞膜肿胀，分析 KCPC 对抑制线粒体肿胀的作用，并检测琥珀酸脱氢酶（SDH）活性。结果表明，KCPC 中剂量组及高剂量组绝大部分肝组织结构正常，而模型组的小鼠肝组织出现病变坏死，而且血清中 ALT、AST 显著上升（p<0.01）。此外，KCPC 高剂量组（800 mg/kg）的 ALT、AST 活性分别比模型组降低了 82.46%和 69.41%，且 SOD、GSH-Px 活性分别增加了 101.08%和 92.13%（p<0.01），MDA 含量降低了 45.16%（p<0.01）。KCPC 还具有一定抑制线粒体肿胀的能力，且 400 mg/kg 剂量组的 SDH 活性为模型组的 1.22 倍。上述结果表明，KCPC 对 CCl_4 诱导的小鼠肝损伤具有保护作用，其机制可能与提高抗氧化酶的活性有关。

关键词：昆仑雪菊原花青素；肝损伤；线粒体
文章篇号：1673-9078(2018)10-22-28 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.10.004

Protection of Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride of *Kunlun Chrysanthemun* by Proanthocyanidon

ZHAI Hong-yue[1], JING Si-qun[2], CHAI Wen-jie[1], ZHAO Zheng-mei[1]
(1.College of Life Sciences and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)
(2.College of food science and Engineering, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China)

Abstract: The protective effect of Kunlun chrysanthemun proanthocyanidin (KCPC) against acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice was investigated. The effects of KCPC on liver appearance pathology and liver index in mice with acute liver injury were analyzed; alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) level in serum, as well as antioxidant enzymes SOD, GSH-Px and lipid peroxidase MDA activities in liver of mice were determined by biochemical methods. In addition, the protective effect of KCPC on mitochondria was analyzed by inhibiting mitochondrial membrane swelling induced by Fe^{2+}-Vc and the activity of succinic dehydrogenase (SDH) was evaluated. The results showed that, in the KCPC groups, no distinct pathological changes occurred, while for the control group, the pathology of mice liver tissue dramatically changed, with the activity of ALT and AST in serum increasing remarkably. The activity of ALT and AST in the high-dose KCPC group (800 mg/kg) decreased by 82.5% and 69.4%, respectively. The activities of SOD and GSH-Px increased by 101.1% and 92.1%% (p<0.01), respectively, whereas the MDA content decreased 45.2% (p<0.01). In addition, KCPC has the ability to inhibit the swelling of mitochondria, and the activity of SDH in 400 mg/kg dose group was 1.22 times that of the control group. The results suggest that KCPC exerts a significant protective effect on CCl_4 induced liver injury in mice, and its mechanism may be related to the upregulation of antioxidative enzyme activity.

Key words: *Kunlun chrysanthemum* proanthocyanidon (KCPC); liver injury; mitochondrion

收稿日期：2018-05-07
基金项目：新疆自治区研究生科研创新项目（XJGRI2015024）
作者简介：翟红月（1992-），女，硕士研究生，研究方向：食品化学
通讯作者：敬思群（1966-），女，博士，教授，研究方向：植物有效资源利用

雪菊（*Coreopsis tinctoria*），学名双色金鸡菊，通常又称“清三高花”[1]。新疆昆仑雪菊生长在海拔 3000 米以上的昆仑山北麓一带，含有多种对人体有益的活性成分。新疆维吾尔族民间以雪菊制作茶饮，长期饮用可治疗腹泻、高血脂、肠胃不适、燥热、高血压等

疾病[2,3]。肝脏为人体内最复杂的代谢器官，也被视为身体的重要屏障器官。肝脏疾病在我国发病范围较广、发病率较高，给人们的健康造成严重危害，产生极大经济负担[4]。肝细胞损伤是各型肝病的病理基础，治疗与纠正肝细胞损伤是各型肝病治疗的主要措施之一[5,6]。此外，线粒体功能障碍可引起各种肝衰竭、肝损伤、脂肪肝等肝脏病变[7,8]。近年来，中西医结合治疗肝脏疾病的经验日益丰富，尤其是植物活性成分运用较为广泛[9,10]，例如葡萄籽原花青素可能通过促进小鼠肝细胞增殖、抑制肝组织细胞凋亡和自噬，对小鼠肝损伤起到保护作用[11]；莲房原花青素对大鼠肝损伤具有一定的保护作用，其机制可能与其抗氧化作用有关[12]，昆仑雪菊原花青素的保肝作用鲜有深入研究。

昆仑雪菊原花青素（*Kunlun Chrysanthemum* Proanthocyanidins, KCPC）是雪菊的次生代谢产物（超声辅助法提取率为 13.29%[13]）。原花青素是由不同数量的黄烷-3-醇或黄烷-3,4-二醇聚合而成的聚合物的总称[14]，有很强的稳定性和抗氧化性[15,16]，能较好的清除氧游离基[17]、抑制肿瘤[18]，提高免疫力和防御紫外线辐射[19]，是一种良好的天然抗氧化剂[20,21]。前期实验对昆仑雪菊的三种活性成分（原花青素、多糖及总黄酮，实验室自制）进行了保肝作用研究，通过检测小鼠血清中 AST、ALT 水平，发现昆仑雪菊多糖及总黄酮不能显著降低小鼠体内转氨酶活性，无明显的肝保护作用，而昆仑雪菊原花青素(高剂量组)有显著性保护作用[22]，因此本研究以此为基础，拟采用 CCl_4 诱导的小鼠急性肝损伤为模型，进一步深入探讨昆仑雪菊原花青素对肝损伤的保护作用及其可能的机制，为研发治疗肝脏疾病的新药奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

昆仑雪菊由新疆和田沙漠玫瑰有限责任公司提供，经新疆大学阿不都拉·阿巴斯教授鉴定为两色金鸡菊 *Coreopsis basalis* 的干燥花蕾；昆仑雪菊原花青素，实验室自制（昆仑雪菊原花青素含量为 26.58 mg/g，经 AB-8 大孔树脂纯化后纯度为(63.76±0.34)%；HPLC-MS 分离检测出 14 个组分，后通过 HPLC 分析得表儿茶素和原花青素 B2 含量分别为 12.19%、0.91%，尚未发表）；ALT、AST 试剂盒、GSH-Px、SOD、MDA、SDH 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所；CCl_4 购自天峰试剂有限公司；橄榄油，市售。

1.2 仪器与设备

V-1100D 型可见分光光度计，上海美谱达仪器有限公司；迈瑞 BS-120 全自动生化分析仪，深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司；FZ102-SIM 真空冷冻干燥设备，德国西门子公司；KQ-400KDE 型高功率数控超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；Anke TDL-5-A 离心机，上海安亭科学仪器厂。

1.3 实验动物

昆明种雄性小白鼠，购买于新疆医学实验动物中心（合格证号：NO.650007000，使用许可证编号：SYXK（新）2011-0001）。

1.4 试验方法

1.4.1 CCl_4 诱导肝损伤小鼠分组及处理方式

昆明种雄性小白鼠 60 只，4 周龄，按体重随机分为 6 组，分别为正常组、模型组、阳性药物组（联苯双酯，300 mg/kg）、KCPC 低（200 mg/kg）、中（400 mg/kg）、高剂量（800 mg/kg）给药组（剂量设置根据前期预实验结果及相关参考文献[22,23]）。适应性喂养 3 d 后称重。每天一次受试组分别灌胃相应剂量，正常组、模型组给予蒸馏水，连续给药 15 d。15 d 灌胃给药后 2 h，模型组及各给药组均腹腔注射 0.1% CCl_4（用橄榄油稀释）10 mL/kg，而正常组注射不含 CCl_4 的橄榄油 10 mL/kg，禁食，18 h 后取血，3000 r/min 离心 10 min 制备血清。处死小鼠后取肝脏、胸腺、脾脏器官，称其重量，分别计算肝脏、胸腺和脾脏指数。

肝脏指数=肝脏湿质量（g）/小鼠体质量（g）×100%。

胸腺指数=胸腺湿质量（g）/小鼠体质量（g）×100%。

脾脏指数=脾脏湿质量（g）/小鼠体质量（g）×100%。

1.4.2 肝损伤生化指标的检测

血清中的 ALT，AST 水平和肝组织中 SOD，GSH-Px 活性和 MDA 的含量均按试剂盒说明书操作。

1.4.3 KCPC 对线粒体肿胀的影响及 SDH 含量的影响

小鼠肝线粒体的提取参考王建华的方法[24]。取小鼠肝脏组织冰浴下以 0.32 M 蔗糖制成 10%匀浆，将其在 1500 r/min，4 ℃下离心 10 min，取上清液，沉淀颗粒重悬浮于 10 mL 的 1 mM 的 EDTA 和 10 mM Tris-HCl（pH 7.1）分离缓冲液中在相同条件下进行离心。合并两次上清液，再以 17000 r/min 离心 20 min。沉淀再次加入分离缓冲液洗涤离心后（7000 r/min，15 min），即为线粒体沉淀物。

将上述制备的线粒体加入 3.0 mL 生理盐水制成肝线粒体悬浮液，取 0.4 mL KCPC 溶液（0.5 mg/mL），于肝线粒体悬浮液中，再加入 0.5 nmol/L 的硫酸亚铁溶液 0.4 mL 和 0.5 nmol/L 的 Vit.C 溶液 0.4 mL，迅速混匀激发反应，反应体系放入 37 ℃水浴锅中保温。空白组用生理盐水替代硫酸亚铁和 Vit.C 溶液，对照组生理盐水替代样品溶液。在 520 nm 处测定不同反应时间后的吸光值，线粒体膜受氧化损伤而发生肿胀，吸光值下降。按照试剂盒说明检测 SDH 含量，在 600 nm 处测定其吸光值，计算 SDH 活力。

1.4.4 肝组织病理组织学观察

选取小块肝右叶未有机械损伤处的组织，固定在预先配好的 10%甲醛中，石蜡包埋切片，观察肝组织病理变化。

1.4.5 结果统计

试验数据统计分析软件 SPSS19.0，以 $\bar{x}\pm s$ 表示方差分析结果，当 $p<0.05$ 或 $p<0.01$ 时，具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 KCPC 对 CCl_4 致小鼠肝损伤肝脏、脾脏、胸腺指数的影响

由表 1 可知，与正常组相比，模型组小鼠肝脏重量上升，肝脏指数极显著增加（$p<0.01$），说明肝脏可能出现损伤，导致在一定程度上病变肿大；与模型组相比，KCPC 高剂量组小鼠肝脏指数显著降低（$p<0.05$），为模型组的 90.55%。胸腺为体内重要免疫器官是 T 淋巴细胞发育、分化的主要场所。脾脏为机体的淋巴器官，含淋巴细胞和巨噬细胞，在免疫系统中起重要作用。因此，胸腺和脾脏指数可作为免疫反应功能变化的参考指标[25]。由结果可知，模型组小鼠的脾脏指数相比正常组显著升高（$p<0.05$），说明 CCl_4 激发了小鼠机体的免疫反应，且 KCPC 各剂量组的胸腺和脾脏指数相比模型组均有所降低，但无显著性差异（$p>0.05$）。

表 1 KCPC 对 CCl_4 致肝损伤小鼠肝脏指数的影响

Table 1 Influence of liver coefficient of CCl_4-induced liver injury in mice of KCPC ($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	肝脏指数 /×10^{-3}	脾脏指数 /×10^{-3}	胸腺指数 /×10^{-3}
正常组	50.09±5.29	3.79±0.62	1.53±0.12
模型组	58.31±3.36**	4.71±0.76*	1.77±0.35
阳性组	56.10±3.61*	3.97±0.34	1.69±0.37
KCPC 低剂量组	56.65±3.62*	4.34±0.67	1.71±0.29
KCPC 中剂量组	53.86±4.83	4.20±0.66	1.63±0.18
KCPC 高剂量组	52.80±3.96$^{\#}$	4.17±0.63	1.65±0.34

注：与正常对照组比较，*$p<0.05$，**$p<0.01$；与模型组比较，$^{\#}p<0.05$。

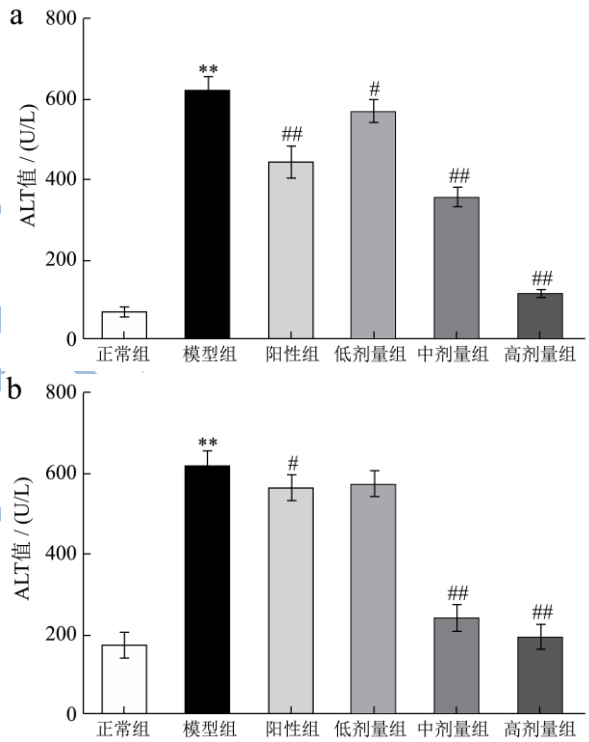


图 1 KCPC 对 CCl_4 致肝损伤小鼠血清转氨酶 ALT、AST 的影响

Fig.1 Influence of serum transaminases ALT and AST of CCl_4-induced liver injury in mice of KCPC ($\bar{x}\pm s$, n=10)

注：与正常对照组比较，*$p<0.05$，**$p<0.01$；与模型组比较，$^{\#}p<0.05$，$^{\#\#}p<0.01$。

2.2 小鼠血清中各项生化指标的变化

ALT、AST 主要分布在肝脏中，当小鼠机体受到 CCl_4 诱导时，大量自由基产生，如三氯甲烷自由基（CCl_3·）[26]等，引起膜的脂质过氧化，从而改变肝细胞膜的通透性，导致细胞质内的 ALT 和 AST 大量外泄进入血清，在一定程度上可以反应肝细胞的受损程度[27]。各组小鼠血清中 ALT、AST 活性检测结果见图 1。

与正常组相比，模型组血清中 ALT、AST 显著上升（$p<0.01$），表明肝细胞受到一定程度的损伤，造模成功；与模型组相比，KCPC 中、高剂量组小鼠血清中 ALT、AST 活性极显著降低（$p<0.01$），其中 KCPC 高剂量组（800 mg/kg）ALT、AST 活性分别比模型组降低了 82.46%和 69.41%，强于阳性药物联苯双酯（29.15%、8.80%）。

2.3 小鼠肝脏中各项生化指标的变化

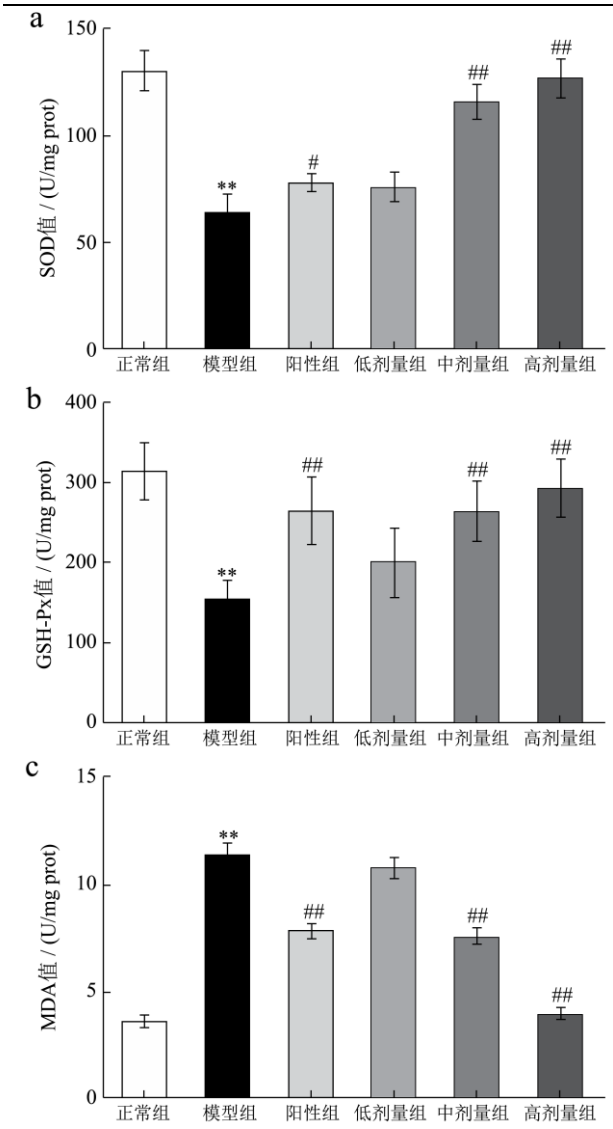


图 2 KCPC 对 CCl_4 致肝损伤小鼠肝组织 SOD（图 a）、GSH-Px 活性（图 b）和 MDA 含量（图 c）的影响

Fig.2 Influence of SOD (a), GSH-Px activity (b), and MDA level (c) of CCl_4-induced liver injury in mice liver tissue of KCPC ($\bar{x}\pm s$, n=10)

注：与正常对照组比较，*p<0.05，**p<0.01；与模型组比较，$^{\#}p$<0.05，$^{\#\#}p$<0.01。

MDA 是脂质过氧化最重要的产物之一，为评价脂质过氧化程度的重要指标[28]；SOD 和 GSH-Px 是机体内重要的抗氧化物酶，能够评价机体清除氧自由基的能力。各组小鼠肝脏中 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量结果见图 2。与模型组相比，KCPC 中、高剂量组肝组织 SOD、GSH-Px 活性显著增加，MDA 含量显著下降（p<0.01），其中 KCPC 高剂量组小鼠肝组织 SOD、GSH-Px 活性分别比模型组增加了 101.08%和 92.13%，MDA 含量降低了 45.16%。各指标呈现一定的剂量依赖关系，随着剂量的增大，抗氧化酶活性相应增加，由结果可知，KCPC 各剂量组能够提高机体抗氧化酶的活性，加速体内清除自由基的能力，降低脂质过氧化发生，对肝损伤起到保护作用，这与邹金发[29]等人研究原花青素对大鼠化学性肝损伤的保护作用一致，肝组织 SOD 活性显著升高(p<0.01)，MDA 含量显著下降（p<0.01），表明原花青素在大鼠体内很好的发挥了抗氧化作用，清除了自由基，保护细胞免受损伤。

2.4 KCPC 对线粒体肿胀的影响及 SDH 活性影响

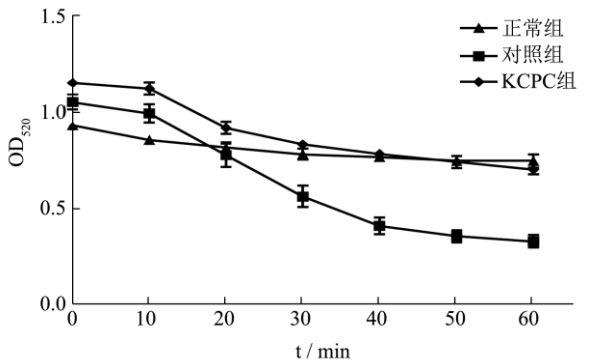


图 3 KCPC 对线粒体肿胀度的影响

Fig.3 Effect of KCPC on mitochondrial swelling

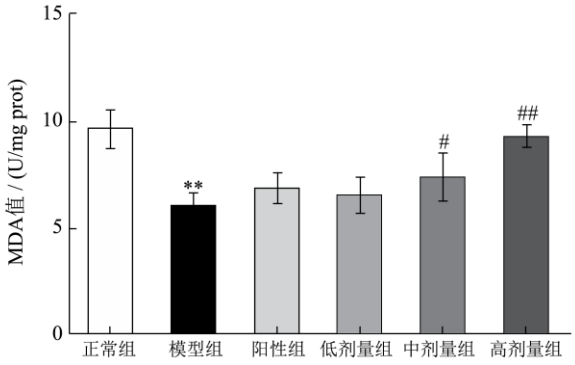


图 4 KCPC 对 CCl_4 致肝损伤小鼠肝脏线粒体 SDH 活力的影响

Fig.4 Influence of SDH activity CCl_4-induced liver injury in mice liver tissue of KCPC ($\bar{x}\pm s$, n=10)

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

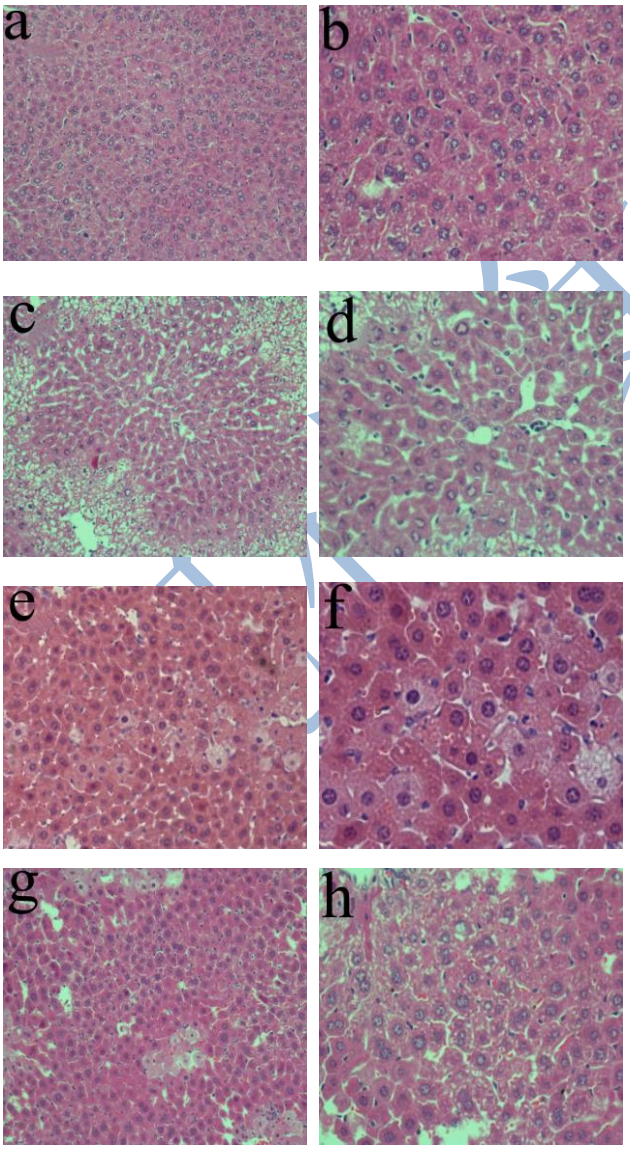
线粒体是细胞内能量代谢的主要场所，是多类药物的细胞内靶点，其结构和功能正常对维持生物体的正常活动有重要的意义。采用 Fe^{2+}-Vc 体系可引起线粒体的膜构造改变，使其丧失屏障功能，内外离子交换发生障碍。线粒体肿胀发生后，线料体悬液的浑浊度下降，使得其在 520 nm 处吸光值下降[30]。由图 3 可以看出，正常组曲线趋于平缓，KCPC 组相比对照组变化幅度较小。当 Fe^{2+}-Vc 作用 10~40 min 时，对照组的线粒体肿胀逐渐加重，悬液浑浊度下降，吸光

值明显降低，反应 60 min 时，KCPC 组与正常组没有显著差异（OD 值分别为 0.747±0.034 和 0.702±0.024），说明 KCPC 具有抑制线粒体肿胀的能力，可能是 KCPC 减轻了自由基导致的线粒体氧化损伤，恢复了 ATP 酶活性[31]。

SDH 是一种线粒体内膜结合的酶，参与氧化磷酸化和电子转移的过程，为线粒体的有氧呼吸链提供电子，是线粒体进行三羧酸循环过程中的关键酶，因此 SDH 为线粒体的标志性酶，其活性反应线粒体功能的强弱[32]。

由图 4 可知，与正常组相比，模型组肝脏线粒体 SDH 活性显著降低（p<0.01）；与模型组相比，KCPC 中、高剂量组分别使 SDH 活性增加 22.15%和 53.76%（p<0.05 或 p<0.01）。随着 KCPC 剂量的增加，对肝脏线粒体的保护作用越大。

2.5 肝组织病理观察结果



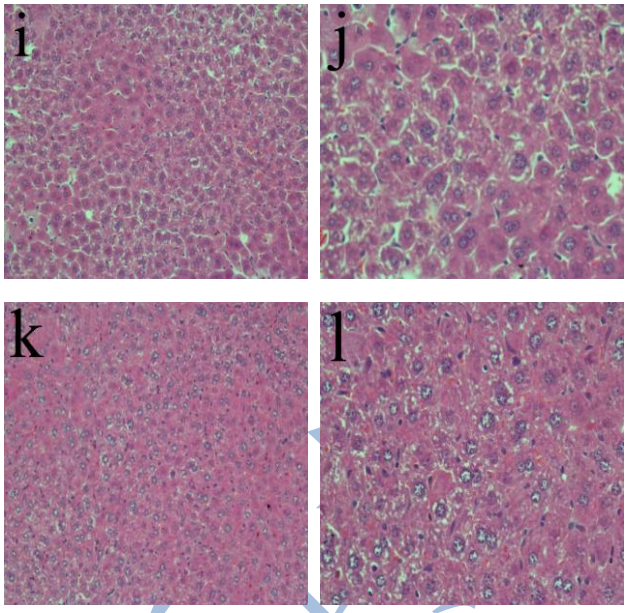


图 5 不同组小鼠肝细胞 HE 染色组织形态学观察

Fig.5 Morphology of liver cells from different groups

注：a.正常组；c.模型组；e.阳性对照组；g. KCPC 低剂量组；i. KCPC 中剂量组；k. KCPC 高剂量组为低倍镜肝细胞组织形态；b.正常组；d.模型组；f.阳性对照组；h KCPC 低剂量组；j. KCPC 中剂量组；l. KCPC 高剂量组为高倍镜肝组织细胞形态。

将固定好的肝脏组织进行石蜡包埋，切片，苏木精-伊红（HE）染色，结果如图 5 所示。正常组肝细胞索排列整齐，有完整的肝小叶结构，细胞核大小正常，无炎性细胞浸润（见图 5a，5b）。模型组肝组织有多处坏死，肝细胞疏松、肿胀，细胞形态不规则，可见明显的点状和灶状坏死，变性肝细胞弥漫性肿大，胞浆空泡明显，广泛脂肪变性，其中以肝小叶中央区最为严重，坏死处肝小叶结构明显破坏，中央静脉及肝血窦充血水肿（见图 5c，5d）。KCPC 低剂量组和阳性对照组肝脏组织损伤有所减少，表现为点状和灶状坏死的肝细胞减少，炎性细胞减少（见图 5e，5f；5g，5h）；KCPC 中、高剂量组绝大部分肝组织结构正常，炎性细胞浸润明显减少，肝窦恢复正常，肝索呈放射状排列，说明其对小鼠肝细胞的保护效果较为明显（见图 5i，5j；5k，5l）。

3 结论

本研究通过建立 CCl_4 诱导的小鼠肝损伤模型，发现 KCPC 对肝损伤具有一定的保护作用，且随着 KCPC 剂量的增加，对肝组织的保护作用越明显，KCPC 高剂量组强于阳性对照联苯双酯。KCPC 能够显著降低血清中 ALT、AST 的含量（p<0.01），使肝脏中 MDA 含量显著下降（p<0.01），抗氧化酶 GSH-Px

和 SOD 活力显著升高（p<0.01），此外，KCPC 能够抑制线粒体肿胀，显著增加 SDH 的活性（p<0.01），减轻肝细胞线粒体的损伤。因此，推测 KCPC 可能通过提高抗氧化物酶的活性，从而减少氧化应激发挥对肝细胞的保护作用。

参考文献

[1] 赵文杰,敬思群.响应面法回流提取新疆昆仑雪菊原花青素工艺优化[J].食品科技,2013,39(4):214-219
ZHAO Wen-jie, JING Si-qun. Optimization of the preparation of procyanidins from kunlun *Chrysanthemum* in Xinjiang with reflux extraction by response surface method [J]. Food Science & Technology, 2013, 39(4): 14-219

[2] 梁淑红,哈木拉提,庞市宾,等.金鸡菊提取物降血压化学成分实验研究[J].时珍国医国药,2010,21(7):1619-1621
LIANG Shu-hong, HA Mu-lati, PANG Shi-bin, et al. Experimental study on hypertensive effects of extracts of coreopsis basalis [J]. Lishizhen Medicine & Materia Medica Research, 2010, 21(7): 619-1621

[3] Smith E B. A biosystematic study of coreopsis saxicola (compositae) [J]. Brittonia, 1973, 25(2): 00-208

[4] 闫惠平,刘燕敏,张海萍.2015 年肝脏自身免疫疾病国际会议简介[J].中华肝脏病杂志,2015,23(10):111-114
YAN Hui-ping, LIU Yan-min, ZHANG Hai-ping. Brief introduction of 2015 international symposium: autoimmune diseases in the liver [J]. Chinese Journal of Hepatology, 2015, 23(10): 11-114

[5] Hull D, Barton D, Guo K, et al. Patient and public involvement to support liver disease research [J]. British Journal of Nursing, 2012, 21(16): 113-121

[6] Von H M, Dold S, Müller S, et al. Cilostazol improves hepatic blood perfusion, microcirculation, and liver regeneration after major hepatectomy in rats [J]. Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society, 2015, 21(6): 792-800

[7] 毛德文,邱华,刘洁.中草药对肝损伤中肝细胞线粒体的保护机制[J].中国药房,2005,16(22):1745-1747
MAO De-wen, QIU Hua, LIU Jie. Protective mechanism of Chinese herbal medicine on mitochondria of liver cells in liver injury [J].China Pharmacy, 2005, 16(22): 1745-1747

[8] Hüttemann M, Pecina P, Rainbolt M, et al. The multiple functions of cytochrome c and their regulation in life and death decisions of the mammalian cell: From respiration to apoptosis [J]. Mitochondrion, 2011, 11(3): 369-381

[9] 孙良秀.中西医结合治疗乙肝肝硬化顽固性腹水[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(4):252-253
SUN Liang-xiu. Treatment of refractory ascites due to hepatitis B cirrhosis with integrated traditional Chinese and western medicine [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2012, 18(4): 252-253

[10] 高拴生,陈耀章.冬虫夏草保肝护肾调节免疫功能研究[J].中医研究,2015,34(7):77-78
GAO Shuan-sheng, CHEN Yao-zhang. Study on the immune function of *Cordyceps sinensis* to protect the liver and protect the kidney [J]. Traditional Chinese Medicinal Research, 2015, 34(7): 77-78

[11] 李小丽,王楷扬,胡建辉,等.葡萄籽原花青素对 CCl_4 诱导小鼠氧化性肝损伤的保护作用及其机制研究[J].中国药房,2016,13:1752-1755
LI Xiao-li, WANG Kai-yang, HU Jian-hui, et al. Study on protective effect of grape seed proanthocyanidins against acute liver injury induced by CCl_4 in mice and its mechanism [J]. China Pharmacy, 2016, 13: 1752-1755

[12] 凌智群.莲房原花青素及其生物、药理活性研究[D].武汉:华中农业大学,2001
LING Zhi-Qun. Study on procyanidins and its biological,pharmacological activities from the seedpot of *nelumbo nucifera gaertn* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2001

[13] 迪拉热木 热黑木,赵文杰,敬思群.响应面法优化超声波辅助提取新疆昆仑雪菊原花青素工艺[J].食品工业,2014,3:86-90
Reheimu Dilaremu, ZHAO Wen-jie, JING Si-qun. Optimization of the preparation of procyanidins from Kunlun chrysanthemum grown in Xinjiang with ultrasonic-assisted extraction by response surface method [J]. Food Industry, 2014, 3: 86-90

[14] 童锡迪,彭红,王琼,等.HPLC 法测定莲子壳提取物中原花青素的含量[J].食品科学,2015,36(2):145-148
TONG Xi-di, PENG Hong, WANG Qiong, et al. Determination of proanthocyanidins in lotus seed shell extract by HPLC [J]. Food Science, 2015, 36(2): 145-148

[15] 李皓雲,段俊丽,王一尘.原花青素的功能与研究进展[J].国际老年医学杂志,2013,34(2):73-76
LI Hao-yun, DUAN Jun-li, WANG Yi-chen. The function and research progress of proanthocyanidins [J]. International Journal of Geriatrics, 2013, 34(2): 73-76

[16] Jing S, Zhang X, Yan L J. Antioxidant activity, antitumor

effect, and antiaging property of proanthocyanidins extracted from Kunlun *Chrysanthemum* flowers [J]. Oxidative Medicine & Cellular Longevity, 2015, 2015(25): 983484

[17] 高璐,王滢,饶胜其,等.葡萄籽原花青素提取物对衰老模型小鼠抗氧化作用[J].食品科学,2014,35(23):253-256
GAO Lu, WANG Ying, RAO Sheng-qi, et al. Antioxidant activity of grape seed proanthocyanidin extract in aging mouse model [J]. Food Science, 2014, 35(23): 253-256

[18] 马佳,方斌斌,曾凡鹏,等.葡萄籽原花青素下调 miR-27a 表达抑制胰腺癌细胞生长[J].中南大学学报(医学版),2015,40(1):46-52
MA Jia, FANG Bin-bin, ZENG Fan-peng, et al. Grape seed proanthocyanidins extract inhibits pancreatic cancer cell growth through down-regulation of miR-27a expression [J]. Journal of Central South University (Medical Edition), 2015, 40(1): 46-52

[19] 王佳宁,郜玉钢,臧埔,等.原花青素的提取方法与药理作用研究进展[J].上海中医药杂志,2015,61(10):94-97
WANG Jia-ning, HAO Yu-gang, ZANG Pu, et al. Research progress on the extraction method and pharmacological action of proanthocyanidin [J]. Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine, 2015, 61(10): 94-97

[20] Mansouri E, Khorsandi L, Fard A A. Protective role of grape seed proanthocyanidin antioxidant properties on heart of streptozotocin-induced diabetic rats [C]// Veterinary research forum : An international quarterly journal, 2015, 12(1): 19-24

[21] Shin M O, Yoon S, Moon J O. The proanthocyanidins inhibit dimethylnitrosamine-induced liver damage in rats [J]. Archives of Pharmacal Research, 2010, 33(1): 167-173

[22] 敬思群.昆仑雪菊三种有效组分的提取纯化及生物活性[D].无锡:江南大学,2015
JING Si-qun. Extraction and purification of three active components from *kunlun chrysanthemum* flowers grown in xinjiang and their bioactivities [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015

[23] 康文艺,黄嫚,康婷婷,等.杭白菊保肝作用研究[J].天然产物研究与开发,2012,24(11):1634-1636
KANG Wen-yi, HUANG Huan, LIAN Ting-ting, et al. Protective effect of *dendranthema morifolium* on CCl_4 -induced liver injury in mice [J]. Natural Product Research and Development, 2012, 24(11): 1634-1636

[24] 王建华,张民,甘璐,等.枸杞多糖-1 对羟自由基所致小鼠肝线粒体损伤的作用[J].中国药学杂志,2001,36(10):669-672
WANG Jian-hua, ZHANG Min, GAN Lu, et al. Protective effect of polysaccharide-1 from *Fructus lycii* on mice liver mitochondria injury induced by hydroxyl radicals [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2001, 36(10): 669-672

[25] 张师,陈健,孙爱东.竹叶黄酮对 CCl_4 所致小鼠肝细胞损伤的保护作用[J].食品工业科技,2013,34(6):353-356
ZHANG Shi, CHEN Jian, SUN Ai-dong. Protective effects of bamboo leaf flavonoids on damage of hepatocytes injured by CCl_4 [J]. Science & Technology of Food Industry, 2013, 34(6): 353-356

[26] Kamel R, El Morsy EM. Hepatoprotective effect of methylsulfonylmethane against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats [J]. Archives of Pharmacal Research, 2013, 36(9): 1140-1148

[27] 尹连红,于浩,彭金咏.四氯化碳诱导肝损伤的分子机制及中药干预的研究进展[J].中国现代应用药学,2015,32(9):1147-1155
YIN Lian-hong, YU Hao, PENG Jin-yong. Molecular mechanism and intervention of chinese medicine of carbon tetrachlorid induced liver injury [J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2015, 32(9): 1147-1155

[28] 高丽苗,俞斌,徐响,等.油菜蜂花粉活性成分对体外肝细胞损伤的保护作用[J].现代食品科技,2016,9:8-12
GAO Li-miao, YU Bin, XU Xiang, et al. Hepatoprotective effects of bioactive compounds from rape bee pollen on LO2 cells injured by CCl_4 [J]. Modern Food Science & Technology, 2016, 9: 8-12

[29] 邹金发,刘晓光.原花青素在肝损伤中的作用[J].中国医学工程,2012,6:62-63
ZOU Jin-fa, LIU Xiao-guang. The effect of proanthocyanidins in liver injury [J]. China Medical Engineering, 2012, 6: 62-63

[30] 齐琳,吴文倩,陈韶华,等.沙苑子黄酮对辐射损伤的抗氧化保护作用[J].上海中医药杂志,2011,5:73-77
QI Lin, WU Wen-qian, CHEN Shao-hua, et al. Protective effect of antioxidation of flavonoids of *Astragali complanali* against radiation damage [J]. Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine, 2011, 5: 73-77

[31] 师梅梅,杨建雄,任维.荔枝草提取物对大鼠肝线粒体损伤的保护作用[J].中成药,2011,33(10):1673-1676
SHI Mei-mei, YANG Jian-xiong, REN Wei. Protective effect of extract from *Salvia plebeia* R.Br.on damage to rat liver mitochondria [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2011, 33(10): 1673-1676

[32] 舒剑波,姜淑贞,孟英韬.琥珀酸半醛脱氢酶缺陷症研究进展[J].继续医学教育,2014,29(10):124-128
SHU Jian-bo, JIANG Shu-zhen, MENG Ying-tao, et al.

Research progress in succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency [J]. Continuing Medical Education, 2014, 29(10): 124-128

现代食品科技