卷丹百合矢车菊素对 CCl_4 所致小鼠急性肝损伤的保护作用

肖静[1]，彭安林[1,2]

（1.武汉市第三医院药学部，湖北武汉 430070）（2.湖北中医药大学药学院，湖北武汉 430072）

摘要：研究卷丹百合醇提物矢车菊素对 CCl_4 诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用及相关机制。将 50 只昆明小鼠随机分为空白对照组（S），CCl_4 组（M），CCl_4+卷丹百合矢车菊素低（25 mg/kg，LLC）、中（50 mg/kg，MLC）、高（100 mg/kg，HLC）剂量组。给药组每日灌胃给予相应剂量药物，连续给药 7 d，末次给药 2 h 后，腹腔注射 0.3 mL 1% CCl_4 花生油溶液造模。24 h 后处死小鼠，测定血清 ALT、AST、ALP 水平，肝脏称重后行 HE 染色，且匀浆测定 SOD、CAT、MDA，Westren-blot 检测肝脏组织中 Nrf2、HO-1 和 NQO1 蛋白的表达。实验结果发现，与 M 组比较，高剂量卷丹百合花矢车菊素能显著使血清中 ALT、AST、ALP 水平分别降低至（15.67±5.38）U/L，（35.58±8.68）U/L 和（31.38±8.57）U/L，肝组织 SOD、CAT 酶活力增加至（36.67±5.47 U/mg pro）和（21.58±4.62 U/mg pro），MDA 生成减少到（4.67±1.42 nmol/mg pro）（p<0.05）；同时使肝脏组织中 Nrf2、HO-1 和 NQO1 蛋白表达明显上调（p<0.05）。可见，卷丹百合醇提物矢车菊素具有一定保护肝损伤的作用，其机制可能是通过 Nrf2/OH-1/NQO1 信号通路介导了氧化应激反应，清除自由基、减轻脂质过氧化、保护肝细胞膜结构和功能起效。

关键词：卷丹百合矢车菊素；急性肝损伤；Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路

文章篇号：1673-9078(2018)11-15-20 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.11.003

The Protection of the CCl4-induced Acute Liver Injury in Mice by *Lilium Lancifolium* Cyanidin

XIAO Jing[1], PENG An-lin[1,2]

(1. Department of pharmacy Wuhan NO.3 Hospital, Wuhan 430070, China)

(2. College of pharmacy, Hubei Medical University, Wuhan 430072, China)

Abstract: The protective effects of *Lilium lancifolium* cyanidin on the acute liver injury in mice caused by CCl4 were investigated. Fifty mice were randomly divided into blank control group (S), CCl_4 group (M), CCl_4 + *Lilium lancifolium* cyanidin low (25 mg/kg, LLC), medium (50 mg/kg, MLC), high (100 mg/kg, HLC) dose groups. Drug groups were given different dose drugs for days. After 2 h in last day, model was developed with the intraperitoneal injection of 0.3 mL 1% CCl_4 peanut oil solution. Then, all mice were executed after 24 h, and the serum was collected for the determination of ALT, AST and ALP levels. Liver was weighed and triturated for detecting SOD, CAT and MDA. HE staining was also examined. Western blot was employed to examine the expression of Nrf2、HO-1 and NQO1 protein in the liver tissue. Compared with M group, our experimental results showed that *Lilium lancifolium* cyanidin could significantly reduce the levels of ALT, AST and ALP in serum, increase SOD and CAT enzyme activity of liver tissue and reduce MDA content (p<0.05). At the same time, the Nrf2、HO-1 and NQO1 protein expression of the liver tissue also significantly raised (p<0.05). The results suggest that, *Lilium lancifolium* cyanidin exhibited a protection against liver damage, and the underlying mechanism may be associated with its mediation of the oxidative stress reaction, antioxidant activities (e.g., scavenging free radical activity, and inhibiting lipid peroxidation activity), and the protection of liver cell membrane structure and function through the Nrf2/OH-1/ NQO1 signaling pathways.

Key words: *Lilium lancifolium* cyanidin; acute liver injury; Nrf2/HO-1/NQO1 pathway

收稿日期：2018-07-12

基金项目：湖北省卫生和计划生育委员会(WJ2017F023)；武汉市卫计委重点项目(WX17A04)

作者简介：肖静（1974-），女，主管药师，研究方向：中药学

通讯作者：彭安林（1974-），男，博士，主任药师，研究方向：中药药理学，生物化学与分子生物学

肝脏是人体最重要的代谢器官，我们日常生活饮食所摄取的任何物质最后都要经过肝脏代谢。当长期服用某种药物达到一定的摄取量，会造成药物以及代谢产物的蓄积，进而对肝脏造成直接的损伤，如酒精和四氯化碳等，世界卫生组织(WHO)报道，全球肝损伤、肝炎、肝脏衰竭人数累计高达 3~4 亿[1~3]。肝损伤(liver injury）已上升至全球肝病死亡原因的第 5 位，临床上 1/3 的患者并不是死于疾病本身，而是死于肝损伤所引起的急性肝脏衰竭。急性肝损伤往往是由于刺激物例如四氯化碳等直接损伤肝脏诱导一系列恶性氧化应激过程，引起的急性炎症反应，最终肝脏细胞结构、功能被破坏[2,4]。国内外专家认为肝损伤的发病机制与氧化应激、炎症反应密切相关，机体内氧化与抗氧化系统紊乱失衡，超氧化物岐酶（SOD）清除自由基减少，有害物质脂质过氧化物丙二醛（MDA）增多造成大量中性粒细胞浸润肝细胞，氧化中间产物侵袭肝脏组织，Nrf2、HO-1 及 NQO1 等表达下调，血清 AST 和 ALT 升高加剧肝损伤[2,4,5]。大量研究表明天然产物包括黄酮、多糖类等物质，具有清除自由基，抗氧化的能力，可通过减轻炎症反应，逆转肝脏组织氧化产物及蛋白质的高表达而有效缓解 CCl_4 所致的肝损伤[6,7]。因此，药食同源的天然产物提供了新的研究方向，从天然产物中寻找有效的单体物质，预防肝损伤具有重要意义。

近年来，花青素的应用报道越来越多，主要包括了矢车菊素、飞燕草素、木樨草素等，上述花青素类物质都具有抗菌、抗炎、抗氧化等多种药理功效，但是卷丹百合花矢车菊素（*lilium lancifolium* cyanidin）的抗氧化活性、对 CCl_4 所致的肝损伤保护作用及可能的机制尚未见报道。本文依据文献方法[7~9]，从卷丹百合花花瓣中分离提取矢车菊素，测定含量后，通过建立 CCl_4 诱导的小鼠急性肝损伤模型，血清丙氨酸氨基转移酶 ALT、氨酸氨基转移酶 AST 活力值及肝组织匀浆超氧化物岐化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT、谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px 的活力、丙二醛 MDA 的含量，研究卷丹百合花矢车菊素的抗氧化活性，探讨其对 CCl_4 诱导的急性肝损伤的保护作用及可能的机制。

1 材料和仪器

1.1 材料与试剂

卷丹百合花花瓣，江苏南京艺馨花卉有限公司；矢车菊素标准品，Sigma；四氯化碳 CCl_4，天津市恒兴化学试剂制造有限公司；食用油；无水乙醇，上海生化；天门冬氨酸氨基转移酶（AST）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）、碱性磷酸酶（ALP）；超氧化物歧化酶（SOD）、丙二醛（MDA）、过氧化氢酶（CAT）试剂盒均购买于南京建成生物工程研究所；GAPDH、Nrf2、HO-1 和 NQO1 等兔抗小鼠抗体均由美国 Abcom 提供。其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

离心机（飞鸽牌系列）；分析天平，HANGPING FA1004；超声仪，厦门华益通超声设备有限公司；恒温水浴装置，TB-85 型，日本岛津公司；酶标仪，KHB ST-360，上海科华；免疫印迹电泳系统（Bio-Rad）。

1.3 方法

1.3.1 卷丹百合矢车菊素提取

参考文献醇提法提取卷丹百合花矢车菊素[9]，步骤如下：将卷丹百合花花瓣粉碎，50 g 样品粉末溶于 500 mL 80%乙醇中，侵泡 24 h 后 75 ℃回流提取 3 h，采用旋转蒸发仪将提取液旋转蒸发至无乙醇味，再用蒸馏水配成 1 g/mL 的百合花醇提物。混合液经 101 大孔树脂分离得到卷丹百合花矢车菊素粗提物，收集后经武汉市第三医院实验中心 HPLC 检测分析，并测定其含量。

1.3.2 卷丹百合矢车菊素含量测定

参考文献采用衍生化法测定[10]，将卷丹百合花矢车菊素粗提物与 25%盐酸/甲醇溶液（1:1）反应 1 h，经过 0.45 μm 微孔滤膜过滤后，采用高效液相色谱配二级管阵列检测器，色谱柱及检测条件如下：Agilent HC-C8 柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)色谱柱，流动相 0.4%三氟乙酸（TFA）水溶液及 0.4% TFA/乙腈溶液（8:2），流速 1.0 mL/min，进样量 20 μL，柱温 35 ℃，检测波长 520 nm。以氯化矢车菊素标准品为参照，外标法测定计算其含量，根据得到的数据进行回归统计，标准曲线 y=32434.8x (μg/mL）-6264.6，γ=0.999。

1.3.3 动物模型建立及分组处理

1.3.3.1 急性肝损伤模型

根据文献报道方法[6,7]构建小鼠急性肝损伤模型，腹腔注射 0.3 mL 1% CCl_4 花生油溶液造模。

1.3.3.2 动物分组、给药及处理

50 只昆明小鼠，雌雄各半，体重 20~25 g，由武汉大学动物实验中心提供，实验动物生产许可证：SCXK(鄂)2008-0004。将 50 只小鼠随机分为空白对照组（S），CCl_4 组（M），CCl_4+卷丹百合矢车菊素低（25 mg/kg，LLC）、中（50 mg/kg，MLC）、高（100 mg/kg，HLC）剂量组，每组 10 只。给药组每日灌胃给予相应剂量药物，S 组和 M 组则给予等量蒸馏水，连续给

药 7 天。末次给药 2 h 后，M 组、LLC 组、MLC 组和 HLC 组腹腔注射 0.3 mL 1% CCl_4 花生油建立急性肝损伤模型，S 组则腹腔注射等体积花生油。各组小鼠造模后不禁水，但禁食 24 h，随后眼眶取血，3000 r/min 离心 10 min，分离得到血清。小鼠处死称重后，采集肝脏等脏器组织，称取肝脏重量以便统计脏器指数，其余标本-80 ℃冻存备用。

1.3.4 指标检测

1.3.4.1 生化指标测定

取各组小鼠血清上清液，根据试剂盒说明书操作步骤测定肝功能 ALT、AST、ALP 指标。同时，各组称取一定量的肝组织，按照 1:9 的比例采用生理盐水进行匀浆，制备 10%肝组织匀浆样本，取上清液依据试剂盒操作步骤，测定 SOD、CAT 活力和 MDA 含量。

1.3.4.2 肝脏组织的病理切片观察

各组小鼠处死肝脏称重后，取部分肝脏组织固定于 4%多聚甲醛中，石蜡包埋并切片，每张切片厚度为 4 μm。然后采用苏木素伊红染液行 HE 染色，光学显微镜下观察肝脏组织病理学改变，比较各组小鼠肝脏损伤情况。

1.3.4.3 相关蛋白含量测定：免疫印迹 Western-blot

蛋白裂解液提取蛋白样品，BCA 法检测样品蛋白含量并调节蛋白浓度至相同，加入 5×上样缓冲液沸水浴 10 min，-80 ℃保存备用。取样 20 μL 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳，湿转法转膜结束后脱脂奶粉封闭 PVDF 膜。剪下不同区域的 PVDF 膜，分别加兔抗小鼠的 GAPDH、Nrf2、HO-1 和 NQO1 抗，体 4 ℃孵育过夜，TBST 摇床震荡漂洗 8 min×4 次；加入 1:4000 的二抗室温孵育 1 h，TBST 摇床震荡漂洗 8 min×4 次；ECL 法曝光显影。

1.4 统计分析

采用 SPSS 21.0 统计软件对数据进行处理，先进行数据的正态分布检验，方差齐性检验，计量数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间差异用单因素方差分析，$p<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 卷丹百合花矢车菊素含量测定

图 1a 为 10 μg/mL 氯化矢车菊素高效液相色谱图，卷丹百合花矢车菊素粗提物如图 1b 所示。根据所得回归曲线方程，卷丹百合花矢车菊素含量为 47.6 μg/mL。

2.2 卷丹百合花矢车菊素对小鼠肝脏脏器指数及肝功能的影响

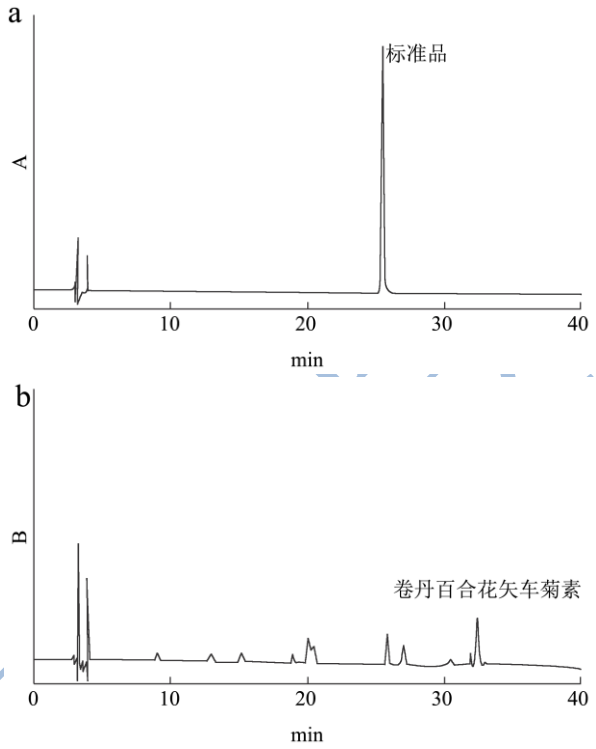


图 1 氯化矢车菊素和样品高效液相色谱图

Fig.1 High-performance liquid chromatography of cyanidin chloride and sample

CCl_4 进入肝脏组织后，在肝微粒体细胞色素 P450 酶作用下生成自由基：三氯甲基和氯自由基，直接侵袭肝细胞，造成脂质过氧化损伤，破坏肝细胞结构和功能[8]。血清中，ALT、AST 和 ALP 是反应肝功能的特异性指标，肝脏脏器指数则是反映肝细胞炎性病变的重要指标，酶活性升高，肝脏脏器指数增加提示肝脏可能受损。当肝脏损伤时，AST、ALT 和 ALP 等物质从肝细胞胞浆内释放到血液中。如图 2 所示，本研究检测发现，M 组小鼠血清中 ALT、AST 和 ALP 水平分别为（51.64±7.53）U/L，（84.36±12.68）U/L 和（71.52±11.28）U/L，S 组则分别是为（14.75±5.16）U/L，（23.54±8.46）U/L 和（21.54±7.24）U/L。与此同时，M 组肝脏脏器指数由 6.54 升高至 7.86。M 组酶活性升高了 3~4 倍，肝脏脏器指数显著增加，和 S 组比较结果有显著性差异($p<0.05$)，这证实腹腔注射 CCl_4 造成了急性肝损伤。给予不同剂量的卷丹百合花矢车菊素灌胃干预后，小鼠血清中 ALT、AST 和 ALP 水平有所下降，肝护脏脏器也明显降低，尤其是 HLC 组，ALT、AST 和 ALP 显著降低至（15.67±5.38）U/L，（35.58±8.68）U/L 和（31.38±8.57）U/L，脏器指数为 6.58±0.24，几乎恢复至正常状态。卷丹百合花矢车菊素对小鼠急性肝损伤的改善效果随药物浓度的增加

而增加，护肝作用呈现剂量依赖性，这与赵冠华等探究结果一致[7,8]。

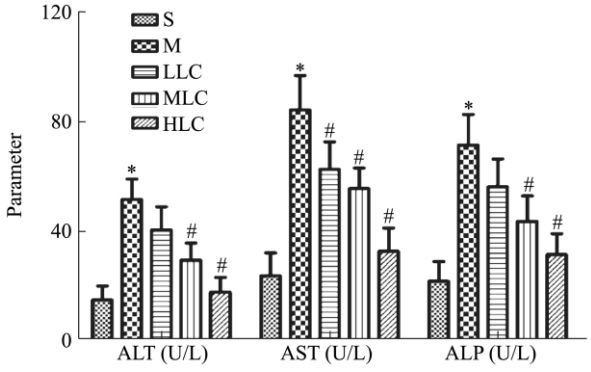


图 2 卷丹百合花矢车菊素对血清中 ALT、AST 和 ALP 的影响

Fig.2 Effects of *Lilium lancifolium* cyanidin on the levers of ALT, AST and ALP in mice

注：*p<0.05，vs S，#p<0.05，vs M。

表 1 卷丹百合花矢车菊素对小鼠肝脏脏器指数的影响

Table 1 The effect of *Lilium lancifolium* cyanidin on the liver index in mice

分组	剂量/(mg/kg)	Weight/g	Liver index
S	-	27.75±4.36	6.54±0.46
M	-	27.64±3.53	7.86±0.68*
LLC	25	28.42±2.56	7.03±0.64
MLC	50	28.73±2.26	6.75±0.51#
HLC	100	29.02±1.38	6.58±0.24#

注：*p<0.05，vs S，#p <0.05，vs M。

2.3 卷丹百合花矢车菊素对 SOD、CAT 及 MDA 的影响

在 CCl_4 刺激肝脏导致急性肝损伤过程中，机体内的氧化和抗氧化过程失衡从而激活氧化应激过程，产生的大量氧化中间产物诱导一系列的炎症反应，加剧疾病进展。当 CCl_4 进入肝脏后产生大量的氧自由基，与细胞膜上的磷脂结合后会生成脂质过氧化物，最终形成丙二醛（MDA）引起细胞进一步损伤。超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化氢酶（CAT）是机体内重要的抗氧化酶，能清除 CCl_4 生成的自由基，减少过氧化物对肝细胞的侵袭损害。从图 3 可知，M 组小鼠肝脏组织中 SOD（19.64±6.53 U/mg pro）和 CAT（10.36±4.68 U/mg pro）酶活力显著低于 S 组 SOD（40.75±3.16 U/mg pro）和 CAT（24.54±3.46 U/mg pro）水平，差异有统计学意义（p<0.05），说明 CCl_4 损伤肝脏后，机体内氧化和抗氧化失衡，清除自由基能力明显降低。给药干预后，低中高剂量组小鼠肝脏组织 SOD 和 CAT 活力与 M 组比较有不同程度的增加。其中，MLC 组 SOD 和 CAT 分别上升至（29.34±7.25 U/mg pro）和（17.65±5.19 U/mg pro）；HLC 组上述指标则分别为（36.67±5.47 U/mg pro）和（21.58±4.62 U/mg pro），抗氧化活力几乎接近空白对照组，与 M 组比较均有统计学差异（p<0.05）。

与此同时，自由基损伤肝脏细胞产生的脂质过氧化物最终会形成 MDA，MDA 水平反映了肝脏损伤的程度。本实验得到，M 组 MDA（12.84±2.17 nmol/mg pro）较 S 组（3.67±1.25 nmol/mg pro）显著升高，证实 CCl_4 造模成功。LLC、MLC 和 HLC 组 MDA 含量分别为（8.95±2.01 nmol/mg pro）、（6.29±1.78 nmol/mg pro）和（4.67±1.42 nmol/mg pro），表明卷丹百合花矢车菊素可以显著降低小鼠肝组织 MDA 含量。卷丹百合花矢车菊素可能是通过上调 SOD、CAT 活性，降低 MDA 含量来缓解氧化应激，改善 CCl_4 诱导的小鼠肝损伤。

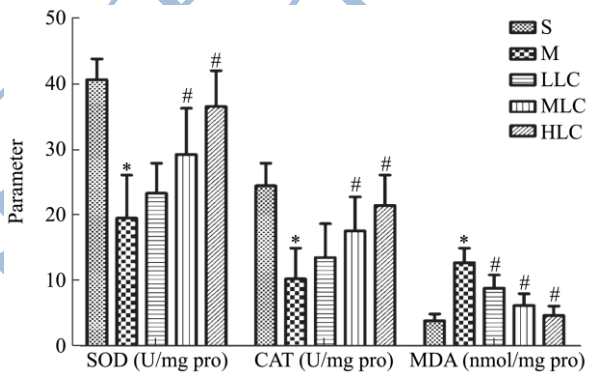


图 3 卷丹百合花矢车菊素对小鼠肝组织 SOD、CAT 及 MDA 的影响

Fig.3 The effect of *Lilium lancifolium* cyanidin on SOD, CAT and MDA in liver tissue of mice

注：*p<0.05，vs S，#p<0.05，vs M。

2.4 卷丹百合花矢车菊素对 CCl_4 诱导的肝损伤小鼠肝组织病理的影响

小鼠肝组织病理检测结果如图 4 所示，S 组肝组织结构完整，肝小叶结构清晰，肝细胞条索排列有序，细胞形态正常无坏死及炎性细胞浸润。M 组小鼠肝脏组织病理切片可见肝小叶边界模糊不清，肝索排列杂乱，肝细胞明显肿大，大量炎性细胞浸润，表明 CCl_4 造模成功。对比观察发现，给药组肝细胞形态较 M 组有所改善，细胞肿胀减小，炎性细胞浸润降低，尤其是 HLC 组肝小叶结构清楚，肝细胞条索排列有序，无炎性细胞浸润，细胞形态基本正常，接近空白对照组。给药干预后，小鼠肝组织病理改善效果显著，说明卷丹百合花矢车菊素对抑制 CCl_4 所致急性肝损伤

有保护作用，中高剂量组和模型组相比较有显著的改善。

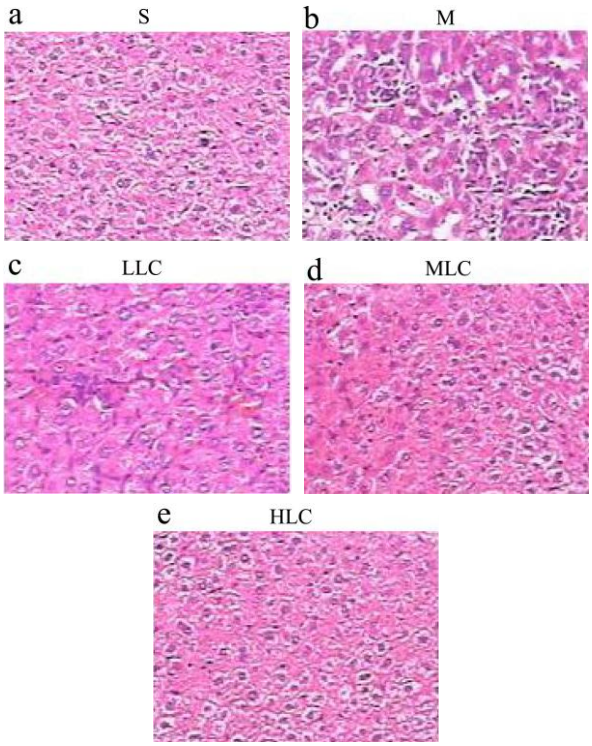


图 4 卷丹百合花矢车菊素对 CCl_4 诱导的肝损伤小鼠肝组织病理的影响

Fig.4 The effect of *lilium lancifolium* cyanidin on hepatic tissue pathology of liver injury mice induced with CCl_4 (HE ×100)

2.5 卷丹百合花矢车菊素对 Nrf/OH-1/NQO1 信号通路的影响

核转录因子 Nrf2 作为氧化应激的感受器，是细胞氧化应激反应中的关键因子，在参与细胞抗氧化应激和外源性有毒物质诱导的主要防御机制中发挥重要的作用。Nrf2 可激活血红素单加氧化酶-1（OH）和醌氧化还原酶（NQO1）大量表达，增加机体抵抗力，维持机体正常运转。HO-1 和 NQO1 可以降低组织对氧化应激的敏感性，减少细胞损伤和凋亡[2,6]。一般情况下，Nrf2 和细胞骨架相关蛋白 Keap1 等结合成二聚体存在于细胞胞浆中，使细胞的酶和抗氧化物处于基础稳定状态。当外界氧化应激刺激时，细胞胞浆中的 Nrf2 磷酸化转入细胞核，进而启动下游 SOD、CAT、OH-1 和 NQO1 的表达。CCl_4 损伤肝脏，引起肝细胞发生氧化应激，肝细胞胞浆中的 Nrf2 进入胞核，M 组肝组织细胞胞浆中 Nrf2、表达较 S 组明显下调（p<0.05），其下游信号通路中的 OH-1、NQO1 水平也显著降低（p<0.05），这和氧化应激中测定的 SOD、CAT 及 MDA 结果相符合。给药干预后，小鼠肝组织中 Nrf2、OH-1、NQO1 较 M 组表达有所增加，MLC 和 HLC 组增加量与 M 组比较有显著性差异（p<0.05），说明卷丹百合花矢车菊素能激活核转录因子 Nrf2 蛋白水平上调，Nrf2 活化后调控下游 OH-1 和 NQO1 的高表达，抗氧化反应的物质 SOD、CA 增加，细胞内的抗氧化物质和抗氧化酶水平升高，脂质过氧化物 MDA 生成减少，实现抗氧化，逆转肝损伤，和他人的结果一致[11]。

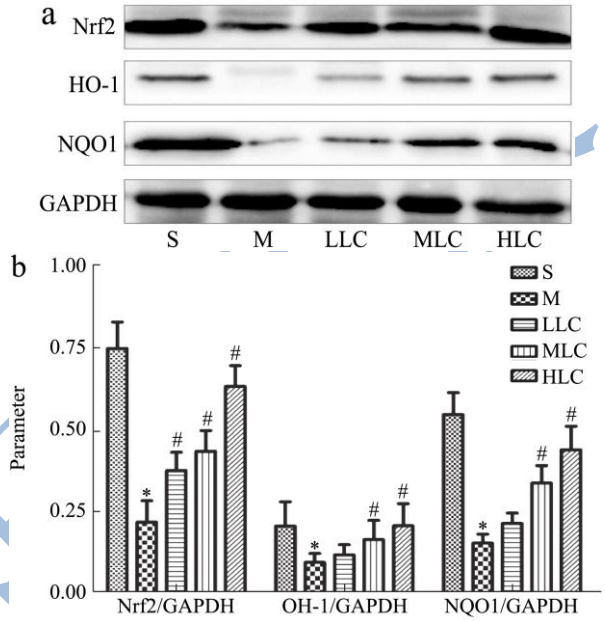


图 5 卷丹百合花矢车菊素对 Nrf/OH-1/NQO1 信号通路的影响

Fig.5 The effect of *Lilium lancifolium* cyanidin on Nrf2, OH-1 and NQO1 in liver tissue of mice

3 结论

总体来说，卷丹百合花矢车菊素预处理改善 CCl_4 诱导的肝损伤，可能是通过上调 Nrf2、OH-1、NQO1 的表达增强抗氧化酶 SOD、CAT 活性，降低脂质或氧化物 MDA 含量，下调血清中 AST、ALT、ALP 水平，减缓肝脏脂肪病变而发挥护肝作用，其保护机制可能是通过 Nrf2/OH-1/NQO1 信号通路介导了氧化应激反应，实现清除自由基、减轻脂质过氧化及保护肝细胞膜结构和功能正常的效应。

参考文献

[1] Y. Ijiri, R. Kato, M. Sadamatsu, et al. Chronological changes in circulating levels of soluble tumor necrosis factor receptors 1 and 2 in rats with carbon tetrachloride-induced liver injury [J]. Toxicology, 2014, 316: 55-60

[2] Wu S, Yue Y, Tian H, Li Z, Li X, He W, Ding H. Carthamus red from Carthamus tinctorius L. exerts antioxidant and hepatoprotective effect against CCl(4)-induced liver damage

in rats via the Nrf2 pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 148 (2): 570-578

[3] Silva, G.B. Rodrigues, S.W. Rocha, et al. Inhibition of NF-kappaB activation by diethylcarbamazine prevents alcohol-induced liver injury in C57BL/6 mice [J]. Tissue & cell, 2014, 46: 363-371

[4] Shen, Baode, et al. Hepatoprotective effects of lignans extract from Herpetospermum caudigerum against CCl_4-induced acute liver injury in mice [J]. Journal of ethnopharmacology, 2015, 164: 46-52

[5] R. Jeyadevi, T. Sivasudha, A. Rameshkumar, J.M. Harnly, L.-Z. Lin, Phenolic profiling by UPLC–MS/MS and hepatoprotective activity of Cardiospermum halicacabum against CCl_4 induced liver injury in Wistar rats [J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5: 289-298

[6] 徐立新,严丽军.白桦脂酸对 CCl_4 诱导小鼠急性肝损伤的保护作用及机制研究[J].南京中医药大学学报,2017,33(6): 618-622

XU LI-xin, YAN Li-jun. The protective effect of betulinicd acid alleviates CCl_4-induced acute liver injury in mice and its related mechanism [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2017, 33(6): 618-622

[7] 赵冠华,曲敏,胡斯杰,等.硫酸酯化牡蛎多糖对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤的影响[J].大连海洋大学学报,2018,33 (1):72-76

ZHAO Guan-hua, QU Min, HU Si-jie, et al. Effect of oyster polysaccharide sulfate on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2018, 33(1): 72-76

[8] 李继平,张雪梅,师志强,等.对比研究 8 批红芪多糖对 CCl_4 所致小鼠肝损伤的药效[J].中成药,2017,9(9):1927-1932

LI Ji-ping, ZHANG Xue-mei, SHI Zhi-qiang, et al. The effects of 8 batches of astragalus polysaccharide on liver injury induced by CCl_4 in mice were compared and study [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2017, 9(9): 1927-1932

[9] L ópez, Caleja,. Prieto, et al. Optimization and comparison of heat and ultrasound assisted extraction techniques to obtain anthocyanin compounds from Arbutus unedoL. Fruits [J]. Food Chemistry, 2018, 264: 81-91

[10] Yari A, Rashnoo S. Optimization of a new method for extraction of cyanidin chloride and pelargonidin chloride anthocyanins with magnetic solid phase extraction and determination in fruit samples by HPLC with central composite design [J]. Journal of Chromatography B, 2017, 1067: 38-44

[11] Ting Wan, Sufan Wang, Mingtong Ye, et al. Cyanidin-3-O-b-glucoside protects against liver fibrosis induced by alcohol via regulating energy homeostasis and AMPK/autophagy signaling pathway [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 37: 16-24

现代食品科技