

# 太子参多糖对缺血再灌注损伤模型大鼠心肌细胞凋亡的抑制作用研究<sup>△</sup>

孙弼<sup>1\*</sup>, 宛蕾<sup>1#</sup>, 林晓坚<sup>1</sup>, 张艳<sup>1</sup>, 何迅<sup>2</sup>, 廖尚高<sup>2</sup>(1. 贵州医科大学基础医学院药理学教研室, 贵阳 550025; 2. 贵州医科大学药学院, 贵阳 550025)

中图分类号 R965; R258 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)16-2175-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.16.04

**摘要** 目的: 研究太子参多糖对心肌缺血再灌注损伤模型大鼠心肌细胞凋亡的抑制作用, 并探讨其作用机制。方法: 取SD大鼠72只, 随机分为假手术组、模型组、阳性药物组(硝苯地平片, 5 mg/kg)和太子参多糖低、中、高剂量组(7.5、15、30 g/kg), 每组12只。假手术组和模型组大鼠均灌胃水, 其余组大鼠分别灌胃相应药物7 d后, 全部大鼠以结扎左冠状动脉前降支使心肌缺血30 min后再灌注120 min的方法建立缺血再灌注损伤模型(其中仅假手术组大鼠穿线但不结扎)。采用苏木精-伊红染色法, 在显微镜下观察大鼠心肌组织病理学变化; 采用TUNEL法检测大鼠心肌细胞凋亡情况; 采用Western Blot法检测心肌组织中Bax、Bcl-2和胱天蛋白酶3(Caspase-3)蛋白表达水平。结果: 与模型组比较, 太子参多糖各剂量组大鼠心肌组织的病理学变化程度明显减轻, 心肌细胞凋亡数量明显减少; 太子参多糖各剂量组大鼠心肌组织中Bax蛋白表达水平以及Bax/Bcl-2蛋白表达水平比值均显著降低, 低、中剂量组Caspase-3蛋白表达水平均显著降低, 高剂量组Bcl-2蛋白表达水平显著升高, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。结论: 太子参多糖能显著减轻心肌缺血再灌注损伤模型大鼠的心肌组织损伤, 并抑制心肌细胞凋亡, 该作用可能是通过下调促凋亡相关蛋白Bax、Caspase-3和上调抑凋亡相关蛋白Bcl-2的表达来实现的。

**关键词** 太子参; 多糖; 大鼠; 缺血再灌注损伤; 心肌细胞; 凋亡; Bax; Bcl-2; Caspase-3

## Study on the Inhibitory Effects of *Pseudostellaria heterophylla* Polysaccharide on Myocardial Apoptosis of Ischemia-reperfusion Injury Model Rats

SUN Bi<sup>1</sup>, WAN Lei<sup>1</sup>, LIN Xiaojian<sup>1</sup>, ZHANG Yan<sup>1</sup>, HE Xun<sup>2</sup>, LIAO Shanggao<sup>2</sup> (1. Dept. of Pharmacology, College of Basic Medical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 2. College of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the inhibitory effects of *Pseudostellaria heterophylla* polysaccharide on myocardial apoptosis of ischemia-reperfusion injury (IRI) model rats, and to investigate its mechanism. METHODS: Totally 72 SD rats were selected and randomly divided into sham operation group, model group, positive drug group (Nifedipine tablets, 5 mg/kg) and *P. heterophylla* polysaccharide high-dose, medium-dose and low-dose groups (7.5, 15, 30 g/kg), with 12 rats in each group. Sham operation group and model group were given water intragastrically, and other groups were given relevant medicine intragastrically for 7 d. The IRI model was established by ligating the anterior descending branch of left coronary artery, reperfusion 120 min after 30 min of myocardial ischemia (not occluded only in sham operation group). HE staining was used to observe the pathological changes of myocardium in rats under microscope. Myocardial apoptosis was detected by TUNEL method. The protein expression levels of Bax, Bcl-2 and Caspase-3 in myocardial tissue were detected by Western blot method. RESULTS: Compared with model group, pathological changes of myocardial tissue were relieved significantly in *P. heterophylla* polysaccharide groups, while the number of myocardial cell apoptosis was decreased significantly. The protein expression levels of Bax, the protein expression ratio of Bax and Bcl-2 in myocardial tissue were decreased significantly in *P. heterophylla* polysaccharide groups; those of Caspase-3 in *P. heterophylla* polysaccharide low-dose and medium-dose groups were decreased significantly; those of Bcl-2 were increased significantly in *P. heterophylla* polysaccharide high-dose group, with statistical significance ( $P < 0.05$ ). CONCLUSIONS: *P. heterophylla* polysaccharide can significantly relieve myocardial tissue injury and inhibit myocardial apoptosis in IRI model rats. Its mechanism may be associated with reducing proapoptotic protein Bax and Caspase-3 and raising apoptotic protein Bcl-2 expression.

**KEYWORDS** *Pseudostellaria heterophylla*; Polysaccharide; Rat; Ischemia-reperfusion injury; Cardiomyocyte; Apoptosis; Bax; Bcl-2; Caspase-3

△ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81360635)

\* 硕士研究生。研究方向: 心血管药理学。电话: 0795-5256676。E-mail: 1009045427@qq.com

# 通信作者: 教授, 硕士生导师。研究方向: 心血管药理学。E-mail: 1325164635@qq.com

在多数情况下, 缺血后再灌注可使组织器官功能得以恢复, 其损伤结构得到修复; 但在有些情况下, 缺血后再灌注不仅不能使组织器官功能恢复, 反而会加重组织器官的功能障碍和结构损伤, 这种现象称为缺血再灌注

损伤( IRI)<sup>[1]</sup>。近年来研究表明,氧化应激、心肌缺血缺氧、再灌注损伤等不仅会引起心肌细胞坏死,还可诱导心肌细胞凋亡<sup>[2]</sup>,而心肌细胞凋亡将直接影响心肌组织损伤程度<sup>[3]</sup>。细胞凋亡是受一系列程序控制并通过信号通路介导的病理过程,阻断其信号通路将有助于阻断凋亡的发生,防止心肌细胞数量的减少,达到维持或改善心功能的目的<sup>[4]</sup>。

太子参为石竹科植物孩儿参[*Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm.]的干燥块根,具有抗应激、抗疲劳及改善心肌梗死所致慢性心力衰竭等药理活性<sup>[5]</sup>,但其机制是否涉及细胞凋亡过程尚未见报道。有研究表明,太子参多糖对大鼠心肌缺血具有保护作用,可预防心律失常、促进氧自由基清除、减少心肌损伤<sup>[6]</sup>,但未见关于其抗心肌缺血再灌注损伤作用的报道。基于此,笔者研究了太子参多糖对缺血再灌注损伤模型大鼠心肌细胞凋亡的影响,旨在探讨其对心肌细胞凋亡的抑制作用及其可能的作用机制,为其进一步开发和临床应用提供实验依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

HX-300S型动物呼吸机、BL-420S生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司);5810R型高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司);1645050型电泳仪、ChemiDoc XRS+型化学发光成像系统(美国伯乐生命科学产品有限公司);2135型石蜡切片机(德国Leica公司);Synergy HTX型酶标仪(美国BioTek仪器有限公司);TS-8型摇床(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司);U-LH100HG型光学显微镜(日本奥林巴斯株式会社)。

### 1.2 药材、药品与试剂

太子参多糖浸膏[由贵州医科大学国家苗药工程技术中心/教育部民族药与中药开发应用工程研究中心提供;取贵州省黄平县太子参种植基地的太子参药材,经水提取后过D101大孔树脂,以水洗脱后再经70%~80%乙醇沉淀并除蛋白,制得多糖浸膏(每1 kg生药含122.9 g多糖)];硝苯地平片(北京大洋药业股份有限公司,批号:100908,规格:10 mg);TUNEL原位检测试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司,批号:KGA7022-B);BCA蛋白浓度测定试剂盒、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶制备试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号:20170815、20170830); $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号:AG07197903);Bax抗体(美国Proteintech公司,批号:50599-2-1g);Bcl-2抗体(美国Bioworld公司,批号:CC893300);胱天蛋白酶3(Caspase-3)抗体(美国Cell Signaling公司,批号:18);辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)(中杉金桥生物技术有限公司,批号:ZB-2301);RIPA裂解液(上海碧云天生物技术有限公司,批号:P0013B);磷酸盐缓冲液(PBS)为本

教研室自制(pH 7.4);其余试剂均为市售分析纯,实验用水为双蒸水。

### 1.3 动物

SPF级健康SD大鼠,7周龄,体质量220~260 g,雌雄各半,购自重庆腾鑫生物技术有限公司,动物许可证号:SCXK(军)2012-0011。大鼠均适应性喂养1周后进行实验。

## 2 方法

### 2.1 动物分组、给药及造模

参照文献[7],取大鼠72只,按体质量随机分为6组,分别为假手术组、模型组、阳性药物组(硝苯地平片,5 mg/kg)和太子参多糖低、中、高剂量组(7.5、15、30 g/kg),每组12只,雌雄各半。每天在上午固定时间,按体质量灌胃0.1 mL/kg(阳性药物组和太子参多糖各剂量组大鼠按照预设剂量将硝苯地平片或太子参多糖浸膏溶于水后灌胃,假手术组和模型组大鼠则灌胃相应体积的水),qd,连续给药7 d。

参照文献[8]建立模型:在第7天给药30 min后,大鼠经10%水合氯醛(0.04 mL/kg)腹腔注射进行麻醉,固定于手术板上,去除颈部和胸部毛发并消毒;于颈部正中作切口,钝性分离暴露气管,沿向心方向剪一切口,插入气管插管,连接动物呼吸机;将生物机能实验系统电极分别插入对应四肢皮下,记录标准II导联心电图;随后沿胸部左侧切口,撑开胸骨左缘第3~4肋间肌,暴露心脏后,轻轻撕开心包膜,沿左心耳下缘1~2 mm处以5/0丝线穿线结扎左冠状动脉前降支(深度约1~2 mm,宽度约3~4 mm),以结扎线以下心肌颜色变暗且心电图ST段抬高作为心肌缺血标志;结扎后迅速将心脏送回胸腔,关闭胸腔并缝合。假手术组大鼠仅穿线但不结扎,其余手术步骤相同。结扎30 min后,再次打开大鼠胸腔,小心剪开结扎线以恢复冠脉血流,待心跳稳定5 min后,关闭胸腔,挤出胸内气体,逐层缝合胸腔,再灌注120 min。全程记录大鼠心电图。

缺血再灌注完毕后,打开大鼠胸腔,取出心脏,以生理盐水洗净,于10%中性甲醛中固定或于-80℃冰箱保存,供后续实验使用。

### 2.2 心肌组织病理学观察

取经10%中性甲醛固定的心肌组织,常规石蜡包埋,切片(厚度4  $\mu$ m),二甲苯脱蜡,经各级乙醇至水洗后,经苏木精-伊红(HE)染色,再常规脱水、透明、树脂封片,于显微镜下观察心肌组织病理学变化。

### 2.3 心肌细胞凋亡检测

采用TUNEL法检测心肌细胞凋亡情况。按照试剂盒说明书,取经10%中性甲醛固定的心肌组织,以石蜡包埋切片后,在末端脱氧核苷转移酶(TdT酶)催化下加入荧光素标记的三磷酸脱氧尿苷(dUTP)。在显微镜下观察细胞凋亡情况,正常细胞呈蓝色,凋亡细胞呈棕色。



## 2.4 心肌组织中 Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达水平测定

采用 Western Blot 法测定 Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达水平。每组取 5 只大鼠心尖部分的少量组织,剪成小块,加入预冷的 RIPA 裂解液,在冰盒中快速研磨制成组织匀浆,于 4 ℃ 低温条件下以 12 000 r/min 离心 5 min。取上清液,按照 BCA 蛋白浓度测定试剂盒说明书操作进行反应后,采用酶标仪于 562 nm 波长处测定吸光度,计算蛋白含量,再加入适量 SDS 上样缓冲液制成含心肌组织蛋白总量为 30 μg 的样品,煮沸变性。取变性预处理后的蛋白样品以 15% SDS-PAGE 凝胶电泳分离,转膜,室温下以 5% 脱脂奶粉置于摇床上封闭 1 h; 然后加入稀释后的一抗 [ $\beta$ -actin(1:5 000)、Bax(1:5 000)、Bcl-2(1:1 000)、Caspase-3(1:1 000)], 4 ℃ 冰箱孵育过夜; 次日以 TBST 缓冲液漂洗后,加入相应的二抗(1:5 000), 室温下置于摇床上孵育 1 h 后,采用超敏电化学发光(ECL)液进行曝光。以  $\beta$ -actin 作为内参,用 Image Lab 4.0 软件分析相应蛋白条带与内参的相对灰度值,以表示蛋白表达水平。

## 2.5 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析。方差齐时,采用 LSD 检验; 方差不齐时,采用 Dunnett's *t* 检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 各组大鼠心肌组织病理学观察结果

假手术组大鼠心肌细胞形态分布规则、排列整齐,细胞结构清晰、着色均匀,未见病变迹象。模型组大鼠心肌细胞排列紊乱,部分区域变性坏死,细胞肿胀破裂,部分核固缩、消失,可见部分空泡变性,心肌间质水肿、可见红细胞。与模型组比较,阳性药物组和太子参多糖各剂量组大鼠有少量心肌细胞排列紊乱,组织纤维着色相对清晰,区域性变性坏死情况有所减轻,肿胀细胞有所减少,可见少部分核固缩,空泡变性和间质水肿情况均有所减轻,间质中红细胞明显减少,其中尤以阳性药物组和太子参多糖高剂量组效果更明显。各组大鼠心肌组织病理学显微图见图 1。

### 3.2 各组大鼠心肌细胞凋亡情况检测结果

假手术组大鼠心肌组织以蓝色正常细胞为主,仅可见个别棕色凋亡细胞。模型组大鼠心肌组织中棕色凋亡细胞数量明显增多。与模型组比较,阳性药物组和太子参多糖各剂量组大鼠心肌组织中凋亡细胞数量均有所减少。各组大鼠心肌细胞凋亡情况显微图见图 2(图中粗箭头所指为蓝色正常细胞,细箭头所指为棕色凋亡细胞)。

### 3.3 各组大鼠心肌组织中 Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达水平测定结果

与假手术组比较,模型组大鼠心肌组织中 Bax、Cas-

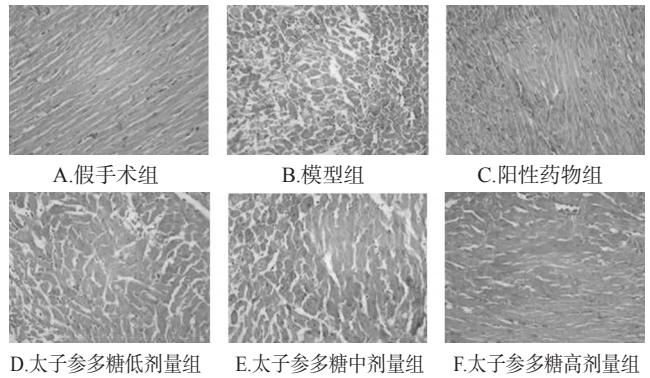


图 1 各组大鼠心肌组织病理学显微图(HE 染色,  $\times 400$ )  
Fig 1 Histopathological micrographs of rats' cardiomyocyte in each group(HE staining,  $\times 400$ )

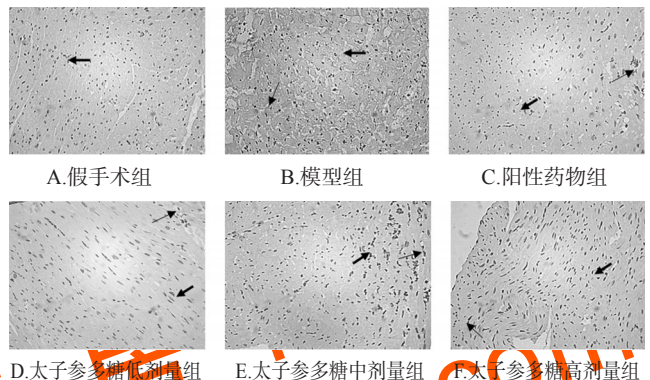


图 2 各组大鼠心肌细胞凋亡情况显微图( $\times 400$ )  
Fig 2 Myocardial apoptosis micrographs of rats in each group( $\times 400$ )

pase-3 蛋白表达水平以及 Bax/Bcl-2 蛋白表达水平比值均显著升高, Bcl-2 蛋白表达水平显著降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 阳性药物组和太子参多糖各剂量组大鼠心肌组织中 Bax 蛋白表达水平以及 Bax/Bcl-2 蛋白表达水平比值均显著降低, 阳性药物组和太子参多糖低、中剂量组 Caspase-3 蛋白表达水平均显著降低, 阳性药物组和太子参多糖高剂量组 Bcl-2 蛋白表达水平均显著升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 但太子参多糖高剂量组 Caspase-3 蛋白表达水平以及低、中剂量组 Bcl-2 蛋白表达水平变化的差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。各组大鼠心肌组织中 Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白电泳图见图 3, 蛋白表达水平比较见表 1。

## 4 讨论

太子参有益气健脾、生津润肺之功效, 临床上可单独使用或与其他中药配伍使用, 或用于成方制剂<sup>[9]</sup>。沈祥春等<sup>[7]</sup>研究发现, 太子参水煎液能改善大鼠急性心肌梗死后的慢性损伤、心力衰竭后的血流动力学及冠脉结扎所诱导的心力衰竭, 能防治梗死后慢性心力衰竭和心肌重构。多糖作为所有生命有机体的重要组成部分, 参与多种生命功能活动, 其作用主要有增强免疫、抗疲劳、活血抗栓、降血压、降血脂、降血糖、抗衰老、增强骨髓造

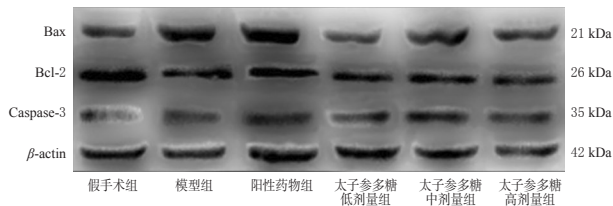


图3 各组大鼠心肌组织中Bax、Bcl-2、Caspase-3蛋白电泳图

Fig 3 Electrophorograms of Bax, Bcl-2 and Caspase-3 protein in myocardial tissue of rats in each group

表1 各组大鼠心肌组织中Bax、Bcl-2、Caspase-3蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Tab 1 Comparison of protein expression levels of Bax, Bcl-2 and Caspase-3 in myocardial tissue of rats in each group( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	Bax	Bcl-2	Caspase-3	Bax/Bcl-2
假手术组	2.017 ± 0.524	1.914 ± 0.584	1.031 ± 0.380	1.123 ± 0.405
模型组	2.950 ± 0.561*	1.761 ± 0.784 <sup>#</sup>	1.375 ± 0.443*	1.895 ± 0.659*
阳性药物组	1.977 ± 0.475 <sup>#</sup>	1.919 ± 0.784 <sup>#</sup>	0.996 ± 0.432 <sup>#</sup>	1.141 ± 0.285 <sup>#</sup>
太子参多糖低剂量组	1.776 ± 0.454 <sup>##</sup>	1.682 ± 0.810	0.932 ± 0.364 <sup>##</sup>	1.241 ± 0.549 <sup>#</sup>
太子参多糖中剂量组	1.783 ± 0.291 <sup>#</sup>	1.605 ± 0.618	0.948 ± 0.373 <sup>##</sup>	1.193 ± 0.323 <sup>#</sup>
太子参多糖高剂量组	2.243 ± 0.669 <sup>#</sup>	2.574 ± 0.915 <sup>#</sup>	1.137 ± 0.318	0.924 ± 0.288 <sup>##</sup>

注:与假手术组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$

Note: vs. sham operation group, \* $P < 0.05$ ; vs. model group, <sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$

血功能、抗辐射等<sup>[10]</sup>。现代药理学研究表明,多糖是太子参的重要活性成分,具有降糖、降脂等作用<sup>[11]</sup>。

本研究通过对大鼠心肌组织进行HE染色并在显微镜下观察发现,与假手术组比较,模型组大鼠心肌细胞呈现出排列紊乱,组织变性坏死、肿胀,细胞核固缩,间质水肿等组织病理学改变;而与模型组比较,阳性药物组和太子参多糖各剂量组大鼠上述组织病理学改变明显减轻,尤以阳性药物组和太子参多糖高剂量组效果更明显。由此表明,太子参多糖对大鼠心肌组织具有明显的保护作用,能够减轻缺血再灌注后的心肌组织损伤。

近年来研究发现,心肌缺血再灌注损伤与细胞凋亡之间有着密切的关系,后者在心脏的生理、病理发展过程中起着重要作用,被认为是心脏由代偿性变化向病理性变化发展的细胞学基础<sup>[12]</sup>。已有研究证实,心肌细胞凋亡在心肌缺血再灌注损伤过程中起关键作用<sup>[13]</sup>。细胞凋亡受细胞内凋亡调节蛋白的调控,这类蛋白分为促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白两大类,这两类相互拮抗的蛋白之间的平衡丧失将导致细胞凋亡<sup>[14]</sup>。Bcl-2基因家族是细胞凋亡信号转导途径中具有重要作用的基因家族,其中Bcl-2、Bax分别是该家族中最具代表性的一对功能相对独立的抑凋亡和促凋亡基因<sup>[15]</sup>。其编码蛋白Bax/Bcl-2是调控细胞凋亡的“可变电阻器”,在外界因素刺激下,细胞存活/凋亡最终取决于Bax和Bcl-2两种调控因子的平衡结果,两者比值的升高/降低标志着细胞凋亡

进程的激活/抑制<sup>[16]</sup>。另有研究表明,胱天蛋白酶家族(Caspase)是哺乳动物细胞凋亡的启动者和执行者,其中Caspase-3是Caspase级联“瀑布”下游中最关键的凋亡蛋白酶<sup>[17]</sup>。本研究结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠心肌细胞凋亡明显增多,心肌组织中Bax、Caspase-3蛋白表达水平以及Bax/Bcl-2蛋白表达水平比值均显著升高,而Bcl-2蛋白表达水平则显著降低,表明细胞凋亡模型成功建立;而与模型组比较,阳性药物组和太子参多糖各剂量组大鼠心肌组织中Bax蛋白表达水平以及Bax/Bcl-2蛋白表达水平比值均显著降低,阳性药物组和太子参多糖低、中剂量组Caspase-3蛋白表达水平均显著降低,阳性药物组和太子参多糖高剂量组Bcl-2蛋白表达水平均显著升高,表明太子参多糖具有抑制心肌细胞凋亡的作用。但太子参多糖各剂量组间的效果并未呈严格的剂量依赖性,其具体原因有待进一步研究探讨。

综上所述,太子参多糖对心肌缺血再灌注损伤模型大鼠的心肌组织具有保护作用,能有效减轻心肌组织损伤,其作用机制可能是通过下调Bax、Caspase-3和上调Bcl-2的蛋白表达,并降低Bax/Bcl-2蛋白表达水平比值,从而抑制细胞凋亡的发生。

#### 参考文献

- [1] REIFLER RJ, TAN DX, QI W, et al. Pharmacology and physiology of melatonin in the reduction of oxidative stress in vivo[J]. *Biol Signals Recept*, 2000, 9(3/4): 160-171.
- [2] VILA-PETROFF M, SALAS MA, SAID M, et al. CaMK II inhibition protects against necrosis and apoptosis in irreversible ischemia-reperfusion injury[J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 73(4): 689-698.
- [3] CHEN XG, LV YX, ZHAO D, et al. Vascular endothelial growth factor-C protects heart from ischemia/reperfusion injury by inhibiting cardiomyocyte apoptosis[J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, 413(1/2): 9-23.
- [4] 李淑娟, 吴艳娜, 康毅, 等. 无创性肢体缺血预适应对大鼠心肌缺血/再灌注损伤后心肌凋亡的影响[J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(10): 100-104.
- [5] 汪剑飞. 太子参药理研究新进展[J]. *实用药物与临床*, 2013, 16(4): 333-334.
- [6] 刘湘湘, 阮君山. 太子参多糖对大鼠心肌缺血的保护作用[J]. *中国民族民间医药*, 2017, 26(17): 18-20.
- [7] 沈祥春, 陶玲, 彭佼, 等. 太子参对心肌梗死后慢性心力衰竭大鼠心肌组织NOS表达的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2009, 25(4): 806-809.
- [8] 张凯, 谢世阳, 王幼平, 等. 冠脉结扎法建立大鼠急性心肌梗死模型方法的探讨[J]. *中国中医急症*, 2014, 23(8): 1397-1399.
- [9] 吴朝峰, 林彦铨. 药用植物太子参的研究进展[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2004, 33(4): 426-430.
- [10] 张蕊馨, 张彦华, 周迎春, 等. 中药多糖化学结构及药理作用研究进展[J]. *黑龙江中医药*, 2018, 47(1): 88-89.



# ICP-OES法同时测定煅炉甘石中氧化锌及13种金属元素杂质的含量<sup>Δ</sup>

谢凯<sup>1\*</sup>, 杨洋<sup>1</sup>, 薛汝增<sup>1</sup>, 徐单单<sup>2</sup>, 郑公铭<sup>2</sup>, 王如意<sup>2</sup>, 李志平<sup>1#</sup> (1. 南方医科大学皮肤病医院药剂科, 广州 510095; 2. 广东食品药品职业学院实验实训中心, 广州 510520)

中图分类号 R927.1; R282 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)16-2179-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.16.05

**摘要** 目的: 建立同时测定煅炉甘石中氧化锌及13种金属元素杂质含量的方法。方法: 经硝酸、氢氟酸微波消解后, 采用电感耦合等离子体发射光谱法测定。发射功率为1 300 W, 载气流量为15 L/min, 辅助气流量为0.1 L/min, 蠕动泵速为0.8 L/min, 雾化气流量为0.8 L/min, 雾化器压力为315 kPa, 以轴向观察方式在不同波长下检测。结果: 铝、砷、钡、钙、镉、钴、铬、铜、铁、汞、镁、锰、铅、锌检测质量浓度线性范围为0.001~4.000 μg/mL ( $r$ 为0.999 2~0.999 8); 定量限为0.000 7~0.044 0 μg/mL, 检测限为0.000 2~0.013 2 μg/mL; 中间精密性、稳定性、重复性试验的RSD均小于4%; 加样回收率为86.1%~116.9% (RSD为0.9%~3.6%); 耐用性试验的RSD均小于5%。结论: 该方法操作简便、准确, 精密性、稳定性、重复性、耐用性好, 可用于煅炉甘石中氧化锌及13种金属元素杂质含量的同时测定。

**关键词** 电感耦合等离子体发射光谱法; 煅炉甘石; 氧化锌; 金属元素杂质

## Simultaneous Determination of Zinc Oxide and 13 Metallic Element Impurities in Calcined Calamine by ICP-OES

XIE Kai<sup>1</sup>, YANG Yang<sup>1</sup>, XUE Ruzeng<sup>1</sup>, XU Dandan<sup>2</sup>, ZHENG Gongming<sup>2</sup>, WANG Ruyi<sup>2</sup>, LI Zhiping<sup>1</sup> (1. Dept. of Pharmacy, Dermatology Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510095, China; 2. Experimental Training Center, Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of zinc oxide and 13 metallic element impurities in calcined calamine. METHODS: After microwave digestion of nitric acid and hydrofluoric acid, inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-OES) was used to determine the content of various metallic element in calamine with emissive power of 1 300 W, carrier gas current flow of 15 L/min, auxiliary gas current flow 0.1 L/min, peristaltic pump flow of 0.8 L/min, atomizing air current flow of 0.8 L/min, atomizer pressure of 315 kPa and axial observation at different wavelengths. RESULTS: The linear range of Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg, Mn, Pb, Zn in calamine were 0.001-4.000 μg/mL ( $r$  were 0.999 2-0.999 8). The quantitation limit ranged 0.000 7-0.044 0 μg/mL, detection limits ranged 0.000 2-0.013 2 μg/mL. RSDs of intermediate precision, stability and repeatability tests were all lower than 4%. The recoveries were 86.1%-116.9% (RSDs were 0.9%-3.6%). RSDs of durability tests were all lower than 5%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, precise, stable, reproducible and durable, and it is can be used for simultaneous determination of zinc oxide and 13 metallic element impurities in calcined calamine.

**KEYWORDS** Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry; Calcined calamine; Zinc oxide; Metallic element impurity

[11] 张陆军, 丁怡, 陈芸芸, 等. 太子参多糖制备工艺研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(12): 1201-1203.

[12] LI Z, BING OH, LONG X, et al. Increased cardiomyocyte apoptosis during the transition to heart failure in the spontaneously hypertensive rat[J]. *Am J Physiol*, 1997, 272 (5 Pt 2): H2313-H2319.

[13] SCARABELLI TM, KNIGHT R, STEPHANOU A, et al.

Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81702990); 广东省科技计划项目(No.2010B020312006); 广东省医学科学技术研究基金项目(No.B2014042)

\* 主管药师, 硕士研究生。研究方向: 药剂学。E-mail: 1870469778@qq.com

# 通信作者: 主任药师。研究方向: 药剂学。电话: 020-83027851。E-mail: 380696279@qq.com

Clinical implications of apoptosis in ischemic myocardium [J]. *Curr Probl Cardiol*, 2006, 31(3): 181-264.

[14] 汪学军, 董传仁. 细胞凋亡与缺血再灌注损伤[J]. 临床与病理杂志, 1997(2): 125-127.

[15] 焦俊霞, 高维娟. Bcl-2、Bax 和 Cyt-c 在神经系统疾病中作用机制的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(24): 4982-4985.

[16] KORSMEYER SJ, SHUTTER JR, VEIS DJ, et al. Bcl-2/Bax: a rheostat that regulates an anti-oxidant pathway and cell death[J]. *Semin Cancer Biol*, 1993, 4(6): 327-332.

[17] 朱国萍, 程阳, 廖军, 等. 细胞凋亡中的 Caspase 家族[J]. 生物化学与生物物理进展, 2000, 27(2): 147-150.

(收稿日期: 2018-02-05 修回日期: 2018-06-22)

(编辑: 段思怡)