

吴茱萸指标成分体内外的肝损伤作用

魏舒婷^{1,2}, 盛云华², 黄坚², 唐黎明^{2*}

(1. 中国医药工业研究总院, 上海 201203;

2. 上海市食品药品检验研究院, 上海 201203)

[摘要] 目的:评价吴茱萸中吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素体内外作用的肝损伤,为吴茱萸毒性物质基础研究提供依据。方法:吴茱萸水提物小鼠肝损伤实验,将美国癌症研究所(ICR)小鼠分为吴茱萸水提物高、中、低剂量组(80,60,40 g·kg⁻¹)和空白组,给药24 h后取血测定血清丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性,取肝脏进行组织病理学检查。吴茱萸碱,吴茱萸次碱,柠檬苦素体外毒性实验,将不同单体成分分别作用于HepG2细胞24 h,采用细胞增殖与活性检测(CCK-8)法考察细胞毒性。将雄性ICR小鼠分为吴茱萸碱组、吴茱萸次碱组、柠檬苦素组和空白组,每组分别采取灌胃给药和腹腔注射给药,给药剂量为200 mg·kg⁻¹,24 h后对小鼠进行大体观察,取血测血清ALT,AST活性,取肝脏称质量并计算肝体比。结果:与空白组比较,吴茱萸水提物高、中剂量组小鼠给药24 h后精神萎靡,眼部分泌物增多,低剂量组小鼠行为无明显异常,血清生化学结果显示,与空白组比较,吴茱萸水提物高、中剂量组小鼠血清ALT,AST活性显著升高($P<0.01$),低剂量组小鼠血清ALT,AST活性有升高趋势,组织病理学检查结果显示,吴茱萸水提物高、中剂量组肝脏出现点状坏死,空泡变性,吴茱萸水提物低剂量组无明显异常。与空白组比较,吴茱萸碱、吴茱萸次碱对HepG2细胞的增殖具有一定抑制作用,抑制作用不强;柠檬苦素对HepG2细胞的增殖无明显抑制作用。与空白组比较,各组小鼠行为均无明显异常,灌胃给药的各给药组小鼠血清中ALT,AST活性及肝体比均无明显变化,腹腔注射给药的柠檬苦素组小鼠血清ALT活性显著升高($P<0.01$),肝体比明显升高($P<0.05$),吴茱萸次碱组小鼠血清AST活力明显升高($P<0.05$),肝体比无明显变化,吴茱萸碱组则均无明显变化。结论:口服给予吴茱萸水提物能造成小鼠急性肝损伤;口服给予吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素对小鼠肝脏无损伤作用;腹腔给予吴茱萸碱、吴茱萸次碱对小鼠肝脏无损伤作用,腹腔给予柠檬苦素能造成小鼠急性肝损伤。

[关键词] 吴茱萸碱; 吴茱萸次碱; 柠檬苦素; 肝损伤

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)02-0087-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220121

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20211103.1737.007.html>

[网络出版日期] 2021-11-04 10:05

Study on Liver Injury of Different Components of Evodia Fructus *in Vivo* and *in Vitro*

WEI Shu-ting^{1,2}, SHENG Yun-hua², HUANG Jian², TANG Li-ming^{2*}

(1. China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China;

2. Shanghai Institute of Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the *in vivo* and *in vitro* toxicity of Evodia Fructus water extraction and its index components, and provide a basis for basic research on the toxic substances of Evodia Fructus. **Method:** Institute of Cancer Research(ICR) mice were divided into high, medium and low dose groups of water extraction of Evodia Fructus and a blank control group. The administration groups were respectively given 80, 60, 40 g·kg⁻¹ water extraction of Evodia Fructus, the blank control group was given distilled water in equal volume, blood was taken 24 hours later to determine the serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate

[收稿日期] 20210809(014)

[基金项目] 国家重点研发计划项目(SQ2017YFC170204)

[第一作者] 魏舒婷, 硕士, 从事药理毒理学研究, E-mail: sponerbob@163.com

[通信作者] * 唐黎明, 硕士, 研究员, 从事药理毒理学研究, E-mail: dawnanyi@aliyun.com

aminotransferase (AST) values, the liver was weighed and histopathological examination was performed. Evodia Fructus water extract, evodiamine, rutaecarpine and limonin were respectively acted on HepG2 cells for 24 h, and cell counting kit-8 (CCK-8) method was used to investigate the cytotoxicity. The ICR Mice were divided into two groups, one group was given by oral gavage and the other group was given intraperitoneal injection. The two routes of administration were separately given 3 index components of Evodia Fructus, and the dosage was $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Take blood 24 hours after administration to determine the activity of ALT and AST in serum, and take liver to calculate liver index. **Result:** Compared with the blank group, the high and medium dose groups of Evodia Fructus water extract were depressed 24 hours after administration, and the behavior of the low dose group was not significantly abnormal. The serum biochemical results showed that the activities of serum ALT and AST in the high and medium dose groups were significantly increased ($P < 0.01$), the activities of serum ALT and AST in the low dose group were significantly increased, and the histopathological results showed that the high and medium dose groups were significantly increased Punctate necrosis and vacuolar degeneration appeared in the liver of the medium dose group, and there was no obvious abnormality in the low dose group. Compared with the blank group, evodiamine and rutaecarpine had a certain inhibitory effect on the proliferation of HepG2 cells, but the inhibitory effect was not strong. Limonin had no significant inhibitory effect on the proliferation of HepG2 cells. Compared with the control group, the 3 index components of Evodia Fructus have no effect after oral administration. There was no significant difference in the activity of ALT and AST in serum of mice, and there was no significant difference in liver index. Intraperitoneal injection of evodiamine and rutaecarpine can cause the activity of serum ALT and AST to increase, and limonin can cause ALT activity was significantly increased ($P < 0.01$), and the liver index was significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Evodia Fructus water extract can cause acute liver injury in mice, Oral administration of evodiamine, rutaecarpine and limonin had no damage to the liver of mice. Intraperitoneal administration of evodiamine and rutaecarpine had no effect on liver injury in mice, and intraperitoneal administration of limonin could cause acute liver injury in mice.

[Keywords] evodiamine; rutaecarpine; limonin; liver injury

吴茱萸味辛、苦,性热,具有明确镇痛止呕功效,常用于头痛、胁痛、眩晕、呕吐等疾病^[1-2]。吴茱萸主要含有生物碱、柠檬苦素、挥发油等化学成分,其中生物碱类和柠檬苦素类化合物为其主要活性成分^[3]。吴茱萸主要药效成分是吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素,具有抗炎镇痛、抗血栓等药理作用^[4]。随着吴茱萸在临床上的广泛应用,其毒性逐渐暴露,研究表明实验动物长期大剂量灌服吴茱萸水提物具有明显肝损伤^[5],临床上也有服用吴茱萸过量中毒的案例^[6]。肝损伤是吴茱萸临床用药主要的不良反应之一,而吴茱萸肝损伤物质基础至今仍未明确。已有文献表明吴茱萸碱、吴茱萸次碱静脉注射对小鼠具有急性肝损伤作用,半数致死量(LD_{50})分别为 $77.79, 65.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[7],另有文献报道 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 吴茱萸次碱腹腔注射对小鼠无明显肝损伤^[8],近年有研究认为 $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 吴茱萸碱、吴茱萸次碱经口灌服对小鼠无明显毒性^[9]。研究结果因给药剂量、给药方式的不同而差异较大。本研究以 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量,通过口服和腹腔注射2种途径来

探究吴茱萸碱、吴茱萸次碱的肝损伤。此外,前期研究多认为生物碱部分是吴茱萸肝损伤物质基础,对柠檬苦素的肝损伤研究较少,且未见柠檬苦素体内的肝损伤研究。本研究对吴茱萸中3种单体成分吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素进行体内外肝损伤研究,为进一步明确吴茱萸肝毒性物质基础提供依据。

1 材料

1.1 动物 美国癌症研究所(ICR)小鼠80只,体重(18±2)g,购自上海灵畅生物科技有限公司,合格证号SCXK(沪)2018-0003。动物饲养于上海市食品药品检验研究院动物房,小鼠常规适应饲养1周,自由摄食饮水。本文涉及的动物实验经上海市食品药品检验研究院实验动物伦理委员会批准,批准编号SIFDC20030。

1.2 细胞与培养 人肝癌细胞HepG2细胞系购自北京北纳创联生物技术研究院(编号20210121)。采用MEM培养基(含10%胎牛血清,2%青-链霉素),置于37℃,5%CO₂和相对湿度90%培养箱内

培养,待细胞贴壁生长至80%~90%时用胰酶消化传代,实验选用对数生长期细胞。细胞传至第6代时,用于实验。

1.3 药物与试剂 吴茱萸水提浸膏粉由中国人民解放军海军军医大学提供,制备方法为将原药材加水煮沸1 h,过滤后将药渣加水煮沸1 h,过滤弃药渣,合并2次滤液浓缩后干燥,即得吴茱萸水提浸膏粉,原药材购于亳州市创鑫科技咨询服务有限公司,批号190918,经中国人民解放军海军军医大学张中成讲师鉴定为吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* 的干燥果实。水提浸膏粉(浸膏1 g含生药3.685 5 g)经检测含吴茱萸碱0.083 4%,吴茱萸次碱0.041 9%,柠檬苦素1.092 1%;吴茱萸碱,吴茱萸次碱,柠檬苦素,溶媒 SOLUTOL HS 15(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 X26A8P34704, C10J11Y115320, H23J9K65962, 78737);胎牛血清(美国 Hyclone 公司,DBC0520);青-链霉素, MEM 培养基(美国赛默飞公司,批号分别为 10378016, 2192541);磷酸盐缓冲液(PBS,美国 Corning 公司,批号 21020007);二甲基亚砜(DMSO,德国默克公司,批号 RNBj8948);细胞增殖与活性检测(CCK-8)试剂盒(日本同仁化学研究所,批号 NQ643);丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST)检测试剂盒(上海睿康生物科技有限公司,批号分别为 20210101, 20210501);曙红 Y(上海沪试实验室器材股份有限公司,20200901);无水苏木精(国药集团化学试剂有限公司,批号 20171214)。

1.4 仪器 HistoCore 型组织包埋机, ASP6025 型自动组织脱水机(德国 Leica 公司), ROTANTA 450R 型高速冷冻离心机(德国 Hettich 公司), Heracell VIOS 160i 型 CO₂ 培养箱(美国 Thermo Scientific 公司), BCM-1300A 型层流超净台(美国 Airtech 公司), Vicell XR 型细胞活力测定仪(德国 Beckman Counter 公司), 7100 型全自动生化仪(日本 Hitachi 公司), Spectra Max Plus³⁸⁴ 型酶标仪(美国 Molecular Device 公司)。

2 方法

2.1 吴茱萸水提物小鼠肝损伤实验 将 ICR 小鼠随机分为吴茱萸水提物高、中、低剂量组和空白组,每组 10 只,雌雄各半。根据文献[10]及预实验结果,将吴茱萸水提物高、中、低剂量组分别灌胃给予吴茱萸水提物 80, 60, 40 g·kg⁻¹(均以生药量计),空白组给予等体积蒸馏水。末次给药后 24 h,对小鼠进行观察,取血测定血清 ALT, AST 活性,取肝脏进

行组织病理学检查并对肝组织病理改变进行半定量分析。

2.2 吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素体外毒性实验 取对数生长期细胞,用胰酶消化成单细胞悬液后用完全培养基稀释成细胞悬液,以 1×10⁵ 个/孔,接种于 96 孔板,置于培养箱中培养。实验设置吴茱萸碱组(100.00, 50.00, 25.00, 12.50, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78 μmol·L⁻¹),吴茱萸次碱组(60.00, 42.00, 29.40, 20.58, 14.41, 10.08, 7.06, 4.94 μmol·L⁻¹),柠檬苦素组(120.00, 96.00, 76.80, 61.44, 49.15, 39.32, 31.46, 25.17 μmol·L⁻¹),设空白组。待细胞 24 h 贴壁后,各给药组加入相应浓度含药培养基,空白组加入含 0.2% DMSO 培养基,设无细胞孔,加入 PBS。各孔体积均为 100 μL,每组设 6 个复孔。细胞加药培养 24 h 后吸弃培养液,用 CCK-8 法测定吸光度 A,计算以上药物对 HepG2 细胞增殖的影响。细胞存活率=(A_{给药孔}-A_{无细胞孔})/(A_{空白孔}-A_{无细胞孔})×100%。

2.3 吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素小鼠肝损伤实验 将 40 只雄性 ICR 小鼠随机分为吴茱萸碱组、吴茱萸次碱组、柠檬苦素组和空白组,每组 10 只,每组 5 只采取灌胃给药,5 只采取腹腔注射给药,各组单独给予 200 mg·kg⁻¹ 吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素和溶媒对照(5% DMSO+5% SOLUTOL HS 15+90% 生理盐水),24 h 后对小鼠进行大体观察,取血测血清 ALT, AST 活性,取肝脏称质量并计算肝体比。

2.4 统计学分析 采用 SPSS 20.0 软件,进行单因素方差分析或者非参数检验,计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。GraphPad Prism 8.0.2 用于半数抑制浓度(IC₅₀)计算。P<0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 吴茱萸水提物致小鼠肝损伤

3.1.1 一般观察 与空白组比较,吴茱萸水提物高、中剂量组小鼠给药 24 h 后精神萎靡,眼部分泌物增多,吴茱萸水提物低剂量组小鼠行为无明显异常。

3.1.2 吴茱萸水提物对小鼠血清生化学的影响 与空白组比较,茱萸水提物高、中剂量组小鼠血清 ALT, AST 活性显著升高(P<0.01),茱萸水提物低剂量小鼠血清 ALT, AST 活性有升高趋势。见表 1。

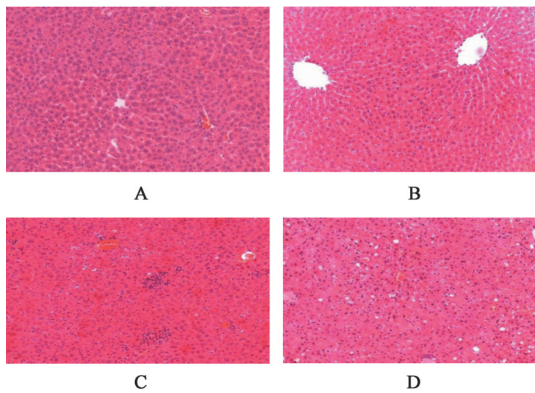
3.1.3 吴茱萸水提物对小鼠组织病理学检查的影响 吴茱萸水提物高、中剂量组组织病理学检查显示肝脏出现点状坏死、空泡变性,低剂量组与空白

表1 吴茱萸水提取物对小鼠血清中ALT,AST活性的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ALT	AST
空白		35.86±11.58	145.29±41.57
吴茱萸水提取物	40	1 095.90±1 399.60	958.30±1 117.86
	60	1 381.48±1 486.20 ¹⁾	1 376.28±995.64 ¹⁾
	80	3 864.15±1 529.72 ¹⁾	3 112.75±1 390.40 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾P<0.01。

组均无明显异常,见图1。对肝组织病理改变进行半定量分析。见表2。



A. 空白组;B~D. 分别为吴茱萸低,中,高剂量组

图1 吴茱萸水提取物给药后小鼠肝脏病理学的影响(HE,×200)

Fig. 1 Effect of water extraction components of Evodia Fructus on pathological changes of liver in mice (HE,×200)

表2 吴茱萸水提取物对小鼠肝损伤病理改变的影响

Table 2 Effect of hepatotoxicity induced by water extract of Evodia Fructus in mice

组别	剂量/g·kg ⁻¹	病变程度/只			
		-	+	++	+++
空白		10	0	0	0
吴茱萸水提取物	40	0	0	1	0
	60	3	4	3	0
	80	0	6	3	1

注:-.肝脏肝细胞正常;+.肝脏肝细胞轻微空泡变性、坏死;++.肝脏肝细胞中度空泡变性、坏死;+++.肝脏肝细胞重度空泡变性、坏死。

3.2 吴茱萸碱、吴茱萸次碱及柠檬苦素对HepG2细胞增殖的影响 与空白组比较,0.78~100.00 μmol·L⁻¹吴茱萸碱,7.06~60.00 μmol·L⁻¹吴茱萸次碱对HepG2细胞增殖有抑制作用(P<0.05, P<0.01);柠檬苦素对HepG2细胞增殖无明显抑制作用。见表3。

3.3 吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素致小鼠肝损伤

3.3.1 一般观察 与空白组比较,各组小鼠均正常

表3 吴茱萸不同成分对HepG2细胞增殖的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effect of index composition of Evodia on proliferation of HepG2 cells ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	浓度/μmol·L ⁻¹	存活率/%	
空白		100.00±22.11	
吴茱萸碱	0.78	68.42±20.52 ²⁾	
	1.56	60.69±6.47 ²⁾	
	3.13	53.86±16.55 ²⁾	
	6.25	60.97±10.78 ²⁾	
	12.50	59.41±13.05 ²⁾	
	25.00	65.74±13.89 ²⁾	
	50.00	67.64±9.74 ²⁾	
	100.00	53.59±14.48 ²⁾	
	空白		100.00±12.12
	吴茱萸次碱	4.94	88.82±17.44
7.06		81.43±10.12 ²⁾	
10.08		84.85±8.63 ¹⁾	
14.41		75.85±7.20 ²⁾	
20.58		79.10±13.55 ²⁾	
29.40		63.89±13.18 ²⁾	
42.00		72.07±6.05 ²⁾	
60.00		86.65±11.49 ²⁾	
空白			100.00±9.55
柠檬苦素		25.17	119.84±20.56
	31.46	122.06±26.22	
	39.32	123.45±15.07	
	49.15	122.89±18.38	
	61.44	122.04±24.91	
	76.80	109.51±18.82	
	96.00	101.52±20.86	
	120.00	125.06±22.89	

注:与空白组比较¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01(表4同)。

饮食、饮水,无明显异常。

3.3.2 吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素对小鼠血清ALT,AST活性的影响 与空白组比较,灌胃给药各组小鼠血清中ALT,AST活性及肝体比均无明显异常。

显变化;腹腔注射给药的柠檬苦素组小鼠血清ALT活性升高($P<0.01$),肝体比升高($P<0.05$),吴茱萸次碱组小鼠血清AST活力升高($P<0.05$),肝体比无明显变化;吴茱萸碱组则均无明显变化。见表4。

表4 吴茱萸不同成分2种给药方式对小鼠血清ALT,AST活性和肝体比的影响($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 4 Effects of Evodia index components on ALT and AST values in serum and in mice ($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	灌胃给药			腹腔注射给药		
		ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	肝体比/%	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	肝体比/%
空白		27.26±4.94	122.98±39.69	4.53±0.48	26.64±3.03	104.30±27.95	5.22±0.24
吴茱萸碱	200	29.92±4.15	138.60±54.75	4.37±0.28	29.80±9.24	122.96±35.15	4.94±0.34
吴茱萸次碱	200	30.86±5.43	121.82±6.90	4.37±0.29	64.72±11.65	189.38±38.07 ¹⁾	5.21±0.18
柠檬苦素	200	28.32±6.05	97.22±19.51	4.31±0.44	211.02±181.97 ²⁾	277.16±114.58	5.69±0.38 ¹⁾

4 讨论

吴茱萸是我国传统中药材,临床上应用历史悠久。吴茱萸作为“小毒”中药材,近年来引起中毒的案例越来越多。蔡雪映等^[6]报道患者服用含过量吴茱萸汤剂出现剧烈腹痛、头痛、眩晕等症状。同时,动物实验研究表明小剂量多次或者大剂量单次灌服吴茱萸水提物造成一定肝损伤^[5,11]。本研究采用80,60,40 g·kg⁻¹的剂量,小鼠肝损伤实验表明60,80 g·kg⁻¹吴茱萸水提物给药24 h能造成小鼠血清ALT,AST活性升高,肝脏出现空泡变性、点状坏死等病理改变,对小鼠具有急性肝损伤,与文献研究结果一致^[12]。吴茱萸对肝脏具有一定靶向毒性。

现有研究对吴茱萸碱、吴茱萸次碱的细胞毒性报道比较多,对柠檬苦素的报道较少。本研究对吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素进行了体外肝损伤比较研究,发现与空白组比较,吴茱萸碱、吴茱萸次碱组在给药24 h后细胞存活率虽呈现下降趋势,但各剂量组下降程度相近,柠檬苦素组则无明显变化。

本研究通过口服灌胃和腹腔注射两种给药方式验证了吴茱萸不同成分的小鼠体内毒性。所用吴茱萸水提浸膏粉经检测含吴茱萸碱0.083 4%,吴茱萸次碱0.041 9%,柠檬苦素1.092 1%,产生急性肝损伤的吴茱萸水提物剂量为60 g·kg⁻¹(浸膏粉含生药为16.28 g·kg⁻¹),折合成吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素剂量分别为13.58,6.82,177.79 mg·kg⁻¹,因此本研究吴茱萸不同成分毒性实验所用剂量为200 mg·kg⁻¹,均大于其毒性理论剂量。本实验结果显示经灌胃给药,3个成分对小鼠均无明显肝损伤;小鼠经腹腔注射给药,除吴茱萸碱外,吴茱萸次碱使小鼠AST活性升高,柠檬苦素引起小鼠ALT活性升高。文献报道表明吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素静脉注射给药途径的体内暴露量分别为口服

途径的7,33,4倍,口服生物利用度较低^[13]。本研究吴茱萸碱和吴茱萸次碱采用腹腔注射,相较于口服给药,已提高体内暴露量,但并未表现出肝损伤的增加,柠檬苦素通过腹腔注射提高体内暴露量后肝损伤显著增强,提示柠檬苦素能引起明确的肝损伤。200 mg·kg⁻¹通过腹腔注射给药提高体内暴露量,但吴茱萸碱、吴茱萸次碱单体成分单独给药并未引起明显肝损伤,基于以往认为吴茱萸肝损伤物质基础为生物碱部分的观点^[14],推测吴茱萸中可能存在其他成分与吴茱萸碱、吴茱萸次碱相互协同,发挥致肝损伤作用。

现有文献对柠檬苦素毒性报道主要为肝肾细胞毒性、体外遗传毒性研究等,未见柠檬苦素体内肝损伤的研究报道^[15-16]。本研究通过口服和腹腔注射两种给药方式,发现柠檬苦素腹腔注射对小鼠具有明确肝损伤。但柠檬苦素在体外未显示出肝细胞毒性,分析认为可能与细胞体外培养代谢酶活性较低有关。已有研究表明吴茱萸苦素能在细胞色素P450 3A4酶(CYP3A4)作用下活化成有毒中间体而产生毒性,柠檬苦素与其结构相似,所以体外细胞实验未表现出明显的细胞损伤^[17]。后续研究将对柠檬苦素致小鼠肝损伤是否与肝药酶代谢活化机制有关进行深入研究。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:178-179.
- [2] 陈洋,董嘉皓,李斐,等. 吴茱萸毒性概述与思考[J]. 时珍国医国药,2017,28(9):2215-2217.
- [3] 龚慕辛,王智民,张启伟,等. 吴茱萸有效成分的药理研究进展[J]. 中药新药与临床药理,2009,20(2):183-187.
- [4] 吴梅青,罗栩强,唐海飞,等. 不同炮制方法对吴茱萸

- 指标成分含量的影响与评价[J]. 中国现代中药, 2020, 22(7): 1108-1112.
- [5] 李莉,赵军宁,鄢良春,等. 吴茱萸水提取物对大鼠的长期毒性试验[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(2): 93-96.
- [6] 蔡雪映,孟楠,杨冰. 服用吴茱萸过量致中毒1例分析[J]. 北京中医, 2006,23(2): 171-172.
- [7] YANG X W, ZHANG H, LI M, et al. Studies on the alkaloid constituents of *Evodia rutaecarpa* (Juss) Benth var. *bodinaieri* (Dode) Huang and their acute toxicity in mice[J]. J Asian Nat Prod Res, 2006, 8(8): 697-703.
- [8] 张茜,周绮,金若敏,等. 吴茱萸次碱对肝肾毒性的初步研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 221-225.
- [9] 林淑娴,任丽娜,孙安盛. 吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸总碱的小鼠急性毒性[J]. 遵义医学院学报, 2015, 38(2): 146-149.
- [10] 黄伟,赵燕,孙蓉. 吴茱萸不同组分对小鼠急性毒性试验比较研究[J]. 中国药物警戒, 2010, 7(3): 129-134.
- [11] 黄伟,严军,孙蓉. 吴茱萸水提组分镇痛及伴随毒副作用机制研究[J]. 中国药物警戒, 2013, 10(3): 129-132.
- [12] 祝靓靓,杨东旭,刘昕,等. 吴茱萸果实的肝脏毒性研究及毒性部位初步探索[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(8): 1810-1813.
- [13] 姚迪,孙晶晶,刘雷,等. LC-MS/MS法测定大鼠血浆中的吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸内酯及其生物利用度的研究[J]. 华西药学杂志, 2014, 29(3): 298-302.
- [14] 任晓静,李明,张逊,等. 吴茱萸不同提取部位致大鼠肝毒性研究[J]. 吉林中医药, 2020, 40(4): 510-513.
- [15] 夏祺悦,刘燕萍,杨润芳,等. 吴茱萸及其主要成分的遗传毒性研究[J]. 世界中医药, 2014, 9(2): 145-150.
- [16] 周倩,金若敏,姚广涛. 吴茱萸中4种单体成分致肾细胞毒性的初步研究[J]. 中国药物警戒, 2013, 10(1): 1-5.
- [17] LIU Y, LIU C, LIU Y, et al. Cytochrome P450 mediated bioactivation of rutaevin, a bioactive and potentially hepatotoxic component of *evodia rutaecarpa* [J]. Chem Res Toxicol, 2020, 33(12): 3054-3064.

[责任编辑 张丰丰]