

基于气相色谱-质谱联用的血府逐瘀汤治疗大鼠颅脑损伤的血浆代谢组学研究

范帆, 张志敏, 卢红梅*

(中南大学 化学化工学院, 湖南 长沙 410083)

摘要: 该文研究了血府逐瘀汤对颅脑损伤大鼠血浆代谢组的影响, 采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术对治疗组、模型组以及假手术组的血浆代谢物进行检测, 定性定量分析了43种重要的代谢物。模型组和假手术组的 t 检验(t -test)结果显示13种代谢物存在显著差异。正交偏最小二乘-判别分析(OPLS-DA)分析结果也显示模型组和假手术组代谢差异明显。结合变量的投影重要性指标(VIP)及 t 检验结果, 筛选出乳酸、组氨酸、棕榈酸、色氨酸、亚油酸、油酸、硬脂酸作为生物标志物。观测7种标志物在治疗组中第1、3、7、14 d的变化情况。结果显示: 治疗组中乳酸、组氨酸、棕榈酸、亚油酸、硬脂酸的相对浓度逐渐降低, 色氨酸的相对浓度先降低后升高, 油酸的相对浓度先升高后降低, 且7种代谢物的相对浓度在第14 d时均接近于假手术组的水平。表明血府逐瘀汤对颅脑损伤具有一定的治疗作用, 乳酸、组氨酸、棕榈酸、色氨酸、亚油酸、油酸、硬脂酸7种代谢物可以作为生物标志物监测颅脑损伤的治疗效果及恢复情况。

关键词: 血府逐瘀汤; 颅脑损伤; 气相色谱-质谱联用(GC-MS); 代谢组学; 化学计量学

中图分类号: O657.71 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2020)08-0967-07

Plasma Metabolomics Study of Effect of Xuefu Zhuyu Decotion on Rats Suffering Traumatic Brain Injury Based on Gas Chromatography - Mass Spectrometry

FAN Fan, ZHANG Zhi-min, LU Hong-mei*

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China)

Abstract: This study aimed at the investigation of effect of Xuefu Zhuyu decotion (XFZY) on rats with traumatic brain injury (TBI) in plasma metabolomics. The plasma samples from the treatment group, the model group as well as the sham group were analyzed by gas chromatography - mass spectrometry (GC - MS). Forty-three important metabolites were qualitatively and quantitatively analyzed. t -test was employed for the model group and the sham group, and 13 metabolites were found with significant differences. Orthogonal partial least squares - discriminant analysis (OPLS - DA) was performed on the model group and the sham group. The obvious classification tendency was observed between the two groups. Integrating the variable importance in projection (VIP) and the results of T -test, lactic acid, histidine, palmitic acid, tryptophan, linoleic acid, oleic acid, and stearic acid were selected as biomarkers. The treatment group was gavaged with XFZY, and seven biomarkers were used to observe the metabolite changes in treatment groups experiencing the treatment after 1, 3, 7 and 14 days, respectively. It was found that the relative concentrations of lactic acid, histidine, palmitate, linoleic acid, and stearic acid decreased gradually. The relative concentration of tryptophan decreased at first, and then increased, while the relative concentration of oleic acid showed an opposite trend. A consensus is emerging about the relative concentration of seven metabolites between the sham group and treatment group on day 14. Experimental results showed that XFZY had a good therapeutic effect on TBI. Meanwhile, those metabolites, i. e lactic acid, histidine, palmitic acid, tryptophan, linoleic acid, oleic acid and stearic acid could be used as the biomarkers for monitoring the therapeutic effect and recovery of TBI.

收稿日期: 2020-03-16; 修回日期: 2020-06-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21873116, 21675174)

*通讯作者: 卢红梅, 博士, 教授, 研究方向: 化学计量学和代谢组学研究, E-mail: hongmeilu@csu.edu.cn

Key words: Xuefu Zhuyu decoction; traumatic brain injury; gas chromatography – mass spectrometry (GC – MS); metabolomics; chemometrics

颅脑损伤是因外力作用于头部而造成的脑组织损伤, 具有较高的病死率和致残率^[1-3]。血府逐瘀汤出自清代王清任的《医林改错》, 由生地、川芎、赤芍、桃仁、红花、枳壳、甘草、当归、牛膝、桔梗、柴胡组成, 该方剂具有活血祛瘀、行气止痛的功效, 广泛用于治疗心脑血管病、脑外伤等^[4-7]。

代谢组学是继基因组学、转录组学和蛋白质组学之后兴起的一个系统生物学新分支, 研究在外界刺激、干扰或自身病理生理条件下代谢组的动态变化规律^[8-9]。基于现代分析技术, 借助于化学计量学等数据处理方法, 可以从代谢组学得到多维的、复杂的数据中挖掘出隐藏的化学、生物信息, 最终达到代谢组学分析研究的目的^[10-11]。

本实验采用前期建立的气相色谱 – 质谱联用 (GC – MS) 方法^[12], 对假手术组和模型组大鼠血浆的代谢物进行定性定量分析, 然后以 t 检验 (t – test)、有监督的正交偏最小二乘 – 判别分析 (OPLS – DA) 筛选出的具有显著差异的代谢物为潜在标志物, 并观察其在治疗组中的时序变化。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

QP2010 型 GC – MS (日本岛津公司), 配 Shimadzu – GL 自动进样器; 甲醇 (色谱纯, Merck 公司); 2-异丙基苹果酸、甲氧胺盐酸盐、吡啶、双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺 (BSTFA) (分析纯, Sigma – Aldrich 公司)。

1.2 样本信息

实验样本为小鼠颅脑损伤模型的血浆样本, 共 148 例。动物模型的建立和血浆样本的采集由中南大学湘雅医院中西医结合科协助完成。样本分为治疗组、模型组、假手术组。假手术组的小鼠通过手术磨除骨窗, 不予打击。模型组和治疗组小鼠采用相同高度、相同质量的自由落体打击, 从而构建颅脑损伤小鼠模型。治疗组在造模后给予血府逐瘀汤灌胃, 模型组、假手术组给予等量生理盐水灌胃, 分别收集各组灌胃后第 1、3、7、14 d 的血浆样本。

1.3 实验方法

1.3.1 样本预处理 将 100 μ L 血浆样本于 4 $^{\circ}$ C 解冻 30 min, 加入 30 μ L 2-异丙基苹果酸 (1 mg/mL, IS, 内标溶液)、300 μ L 甲醇, 涡旋 30 s。4 $^{\circ}$ C 下以 16 000 r/min 离心 10 min。取离心后的上清液 330 μ L, 常温下用氮气吹干。残渣加入 50 μ L 甲氧胺吡啶溶液 (20 mg/mL), 涡旋 60 s 后用封口膜封口, 于 70 $^{\circ}$ C 水浴反应 1 h, 进行第 1 次衍生反应。加入 100 μ L BSTFA 衍生试剂, 涡旋 60 s 后用封口膜封口, 于 70 $^{\circ}$ C 水浴反应 1 h, 进行第 2 次衍生反应。冷却至室温, 取上清液, 供 GC – MS 分析。

1.3.2 GC – MS 分析条件 色谱柱为 Agilent DB – 5MS 毛细管色谱柱 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m); 程序升温: 初始温度 70 $^{\circ}$ C, 保持 4 min, 以 8 $^{\circ}$ C/min 升至 300 $^{\circ}$ C, 保持 3 min, 色谱出峰时间为 6.5 min, 总运行时间 35.75 min。进样口温度为 280 $^{\circ}$ C, 分流比 10 : 1。载气为高纯氦气, 流速 1 mL/min; 进样量为 1 μ L。质谱采用 EI 源, 电子轰击电压 70 eV; 离子源温度 250 $^{\circ}$ C, 接口温度 280 $^{\circ}$ C, 检测电压 0.9 kV, 以 0.2 s/scan 的间隔进行全扫描, 扫描的质量范围 (m/z) 为 35 ~ 800 amu。

1.3.3 数据分析 采用 NIST/EPA/NIH 质谱数据库对样本定性。以内标法定量, 代谢物的相对浓度用均值 \pm 标准偏差表示。利用 t 检验对模型组及假手术组的第 1、3、7、14 d 的代谢组进行统计检验, 将具有显著性差异的代谢物作为潜在标志物。采用 PCA 和 OPLS – DA 观察模型组和假手术组的总体差异。综合变量的投影重要性指标 (VIP) 及 t 检验结果筛选生物标志物。

2 结果与讨论

2.1 代谢物的定性定量分析

对所有血浆样本进行 GC – MS 分析, 采用 NIST 谱库共鉴定出 43 种化合物, 包括丙氨酸、甘氨酸、亮氨酸等氨基酸, 半乳糖、葡萄糖等糖类, 棕榈酸、亚油酸等脂肪酸类, 以及尿素、磷酸等小分子代谢物 (表 1), 由所有测试样本等量混合而成的质控样本 (QC) 的代表性总离子流图见图 1。

表1 颅脑损伤模型组、假手术组血浆样本定性定量及 *t* 检验结果Table 1 Qualitative, quantitative analysis and *t*-test results of plasma samples of model group and sham group

Peak No.	<i>t_R</i> (min)	Compound	Model group(mean ± SD)	Sham group(mean ± SD)
1	7.30	Malonic acid(丙二酸)	0.011 ± 0.007	0.016 ± 0.034
2	7.87	2-(Methoxyimino) propanoate(2-甲氧胺丙酮)*	0.035 ± 0.012	0.030 ± 0.009
3	8.08	Propionic acid(丙酸)*	1.040 ± 0.287	0.857 ± 0.206
4	8.10	Lactic acid(乳酸)*	1.251 ± 0.108	0.986 ± 0.125
5	9.06	Alanine(丙氨酸)	0.127 ± 0.040	0.141 ± 0.041
6	9.50	Glycine(甘氨酸)	0.056 ± 0.029	0.062 ± 0.025
7	9.88	Ethanedioic acid(乙二酸)	0.462 ± 0.104	0.515 ± 0.107
8	10.30	3-Hydroxybutyric acid(3-羟基丁酸)	0.077 ± 0.096	0.042 ± 0.044
9	11.40	Valine(缬氨酸)	0.057 ± 0.016	0.066 ± 0.020
10	12.07	Urea(尿素)	1.094 ± 0.337	1.177 ± 0.330
11	12.48	Leucine(亮氨酸)	0.057 ± 0.020	0.034 ± 0.026
12	12.50	Phosphoric acid(磷酸)	0.173 ± 0.033	0.156 ± 0.041
13	12.52	Glycerol(甘油)	0.198 ± 0.110	0.168 ± 0.086
14	12.88	L-Isoleucine(异亮氨酸)	0.027 ± 0.008	0.030 ± 0.009
15	13.30	Butanedioic acid(丁二酸)	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
16	13.54	Glyceric acid(甘油酸)	0.008 ± 0.004	0.006 ± 0.003
17	14.08	Serine(丝氨酸)	0.084 ± 0.022	0.090 ± 0.020
18	14.51	L-Threonine(苏氨酸)	0.122 ± 0.034	0.140 ± 0.034
19	16.72	Methionine(蛋氨酸)	0.024 ± 0.006	0.026 ± 0.005
20	16.81	L-Proline(脯氨酸)	0.020 ± 0.008	0.023 ± 0.008
21	17.24	Creatinine enol(肌酐烯醇)	0.032 ± 0.013	0.034 ± 0.011
22	18.18	Ornithine(鸟氨酸)	0.027 ± 0.016	0.037 ± 0.018
23	18.25	Glutamic acid(谷氨酸)	0.026 ± 0.007	0.025 ± 0.006
24	18.35	Phenylalanine(苯丙氨酸)	0.024 ± 0.006	0.028 ± 0.008
25	18.96	Asparagine(天冬氨酸)	0.010 ± 0.005	0.013 ± 0.004
26	19.02	Lyxose(来苏糖)*	0.018 ± 0.009	0.013 ± 0.004
27	19.51	Lysine(赖氨酸)	0.035 ± 0.028	0.042 ± 0.029
28	21.00	Citric acid(柠檬酸)	0.054 ± 0.013	0.052 ± 0.011
29	21.47	Tetradecanoic acid(十四烷酸)*	0.014 ± 0.013	0.008 ± 0.007
30	21.84	Galactose(半乳糖)	0.481 ± 0.230	0.453 ± 0.203
31	22.01	Glucose(葡萄糖)	0.690 ± 0.132	0.744 ± 0.107
32	22.33	Histidine(组氨酸)*	0.006 ± 0.003	0.008 ± 0.003
33	22.58	Tyrosine(酪氨酸)	0.044 ± 0.014	0.047 ± 0.015
34	23.69	Palmitelaidic acid(棕榈反油酸)*	0.019 ± 0.009	0.012 ± 0.008
35	23.94	Palmitic acid(棕榈酸)*	0.166 ± 0.015	0.133 ± 0.011
36	24.36	Inositol(肌糖)*	0.063 ± 0.014	0.056 ± 0.011
37	25.83	Tryptophan(色氨酸)*	0.036 ± 0.005	0.052 ± 0.005
38	25.84	Linoleic acid(亚油酸)*	0.130 ± 0.058	0.083 ± 0.029
39	25.91	Oleic acid(油酸)*	0.104 ± 0.009	0.073 ± 0.012
40	26.20	Stearic acid(硬脂酸)*	0.065 ± 0.012	0.056 ± 0.010
41	26.66	3-Cyclopentylpropionic acid(环戊基丙酸)	0.006 ± 0.003	0.005 ± 0.003
42	27.53	Arachidonic acid(花生四烯酸)	0.022 ± 0.006	0.018 ± 0.005
43	35.02	Cholesterol(胆固醇)	0.160 ± 0.042	0.148 ± 0.033

* $p < 0.05$ when compared with sham group by *t*-test(通过 *t*-test 法, p 值 < 0.05)

2.2 模型组与假手术组差异代谢物筛选

将模型组与假手术组的数据上传至 Metabo Analyst 4.0 平台 ([Http://metaboanalyst.ca](http://metaboanalyst.ca)), 以 p 值小于 0.05 判断该代谢物在两个样本集间是否存在显著差异。结果显示, 13 种代谢产物在模型组和假手术组之间存在显著性差异(表 1), 其中油酸、色氨酸、亚油酸、乳酸、棕榈酸等 11 种代谢物 p 值小于 0.001。这表明颅脑损伤会引起血浆代谢组显著变化。

运用 PCA 对第 1、3、7、14 d 的模型组及假手术组的代谢组进行分析(图 2), 图中圆圈代表假手术组样本, 方块代表模型组样本, 置信区间为 95%。由图可见模型组和假手术组代谢的整体模式上有一定的分离趋势, 但由于存在干扰组分以及 PCA 的投影方向为方差最大方向, PCA 投影图中组间的区分度不够明显。

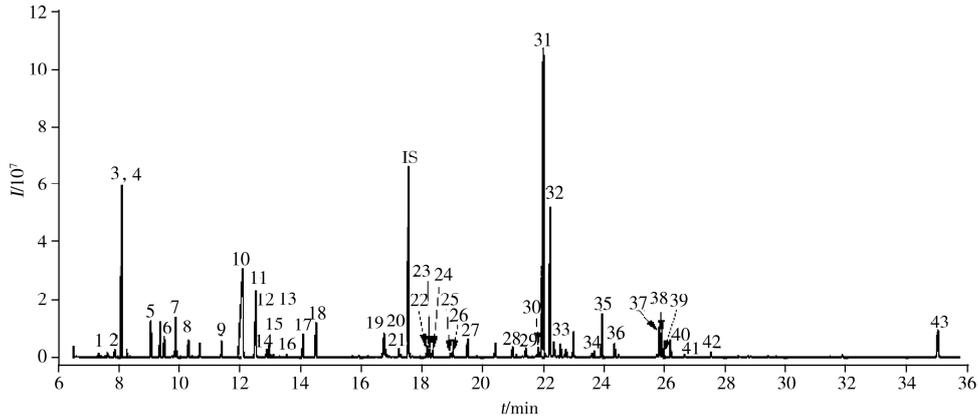


图 1 QC 样本的 GC - MS 总离子流图

Fig. 1 Typical total ion chromatogram (TIC) of QC plasma sample
the peak number 1 - 43 were the same as those in Table 1

OPLS - DA 判别分析融合了正交信号校正的干扰信息剔除能力以及偏最小二乘判别的相关信息提取能力, 是代谢组学中最常用的建模方法。模型组及假手术组的 OPLS - DA 分析结果如图 3A 所示, 可见两组有较好的分离效果。经过 200 次置换检验, 模型未出现过拟合现象 (图 3B)。OPLS - DA 分析结果显示模型组和假手术组在整体代谢模式上存在显著差异。同时引入该模型的 VIP 图探究分类的贡献变量指标。由图 4 可知, 有 16 个变量的 VIP > 1。选取颅脑损伤模型组与假手术组 *t* 检验结果中 *p* < 0.05 且 OPLS - DA 模型中 VIP > 1 的代谢物为差异代谢物, 最终确定乳酸、组氨酸、棕榈酸、色氨酸、亚油酸、油酸、硬脂酸为两组的差异代谢物。

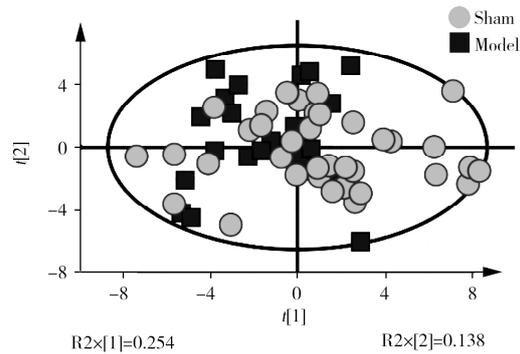


图 2 PCA 分类模型图

Fig. 2 PCA classification model diagram

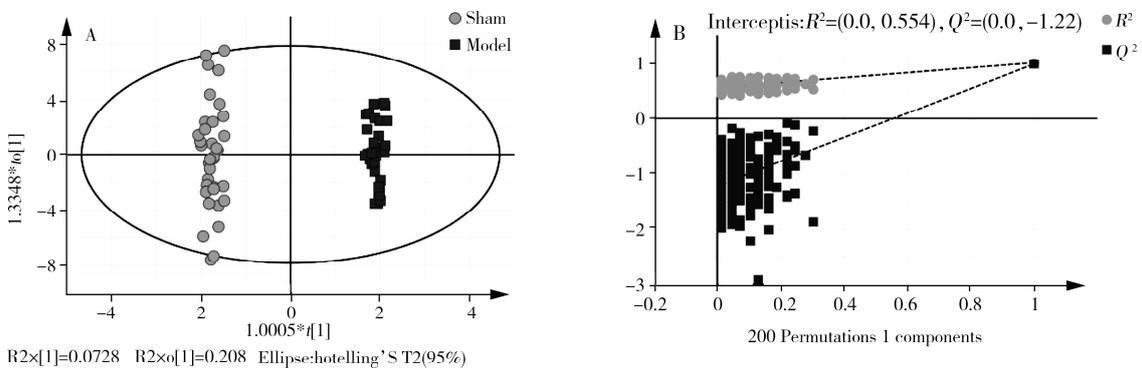


图 3 OPLS - DA 分类模型图

Fig. 3 OPLS - DA classification model diagram

A: OPLS - DA score plot of the sham group and the model group ($R^2 X = 0.716$, $R^2 Y = 0.996$, $Q^2 Y = 0.975$), the ellipse shows the 95% confidence interval (模型组与假手术组 OPLS - DA 模型得分图, 椭圆形表示 95% 的置信区间); B: validation plot of the OPLS - DA model acquired through 200 permutation tests for the sham vs. model group ($R^2 = 0.548$, $Q^2 = -0.828$) (置换 200 次的 OPLS - DA 模型检验图)

2.3 第 14 d 的治疗组与假手术组代谢组的差异倍数分析

对第 14 d 治疗组与假手术组的代谢组进行差异倍数分析, 将差异倍数分析 (FC) 的阈值设为 2, 将对比式设为治疗组/假手术组, 由图 5 可知, 除丙二酸外, 其他代谢物的 $\log_2 FC$ 均在 $[-1, 1]$ 区间内且主要集中在横轴附近 (图 5), 表明除治疗组中丙二酸含量显著低于假手术组外, 其他代谢物在两组

中的相对浓度无显著性倍数差异，即第14 d 治疗组的代谢组整体上接近假手术组。丙二酸是三羧酸循环重要的中间产物，治疗组中丙二酸含量的降低可能与有氧代谢增强，中间产物含量降低有关。

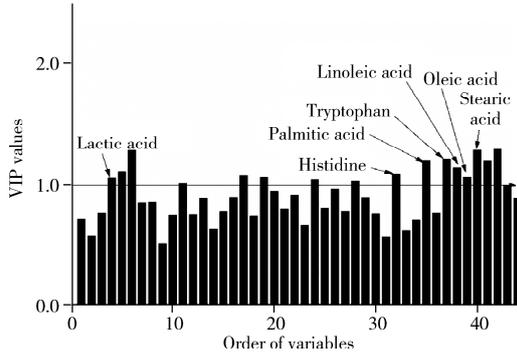


图4 模型组与假手术组 OPLS-DA 模型变量投影重要度图
 Fig. 4 VIP values plot from OPLS-DA based on plasma profiling of the model vs. sham groups

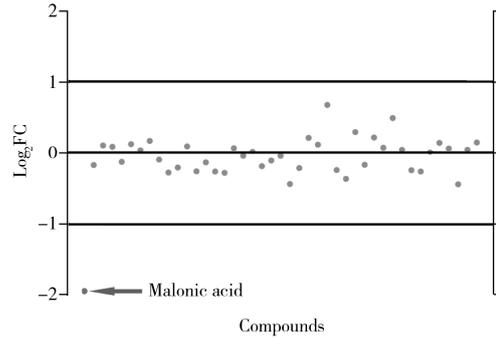


图5 第14 d 的治疗组与假手术组代谢组的差异倍数分析
 Fig. 5 Fold change analysis of the treatment group and the sham group on day 14

2.4 差异代谢物在治疗组中的时序变化

综合 *t* 检验结果及 VIP 值的重要性排序，选取乳酸、组氨酸、棕榈酸、色氨酸、亚油酸、油酸、硬脂酸为生物标志物，观测其在治疗组中的时序变化(图6)。结果显示，治疗组中乳酸、组氨酸、棕榈酸、亚油酸、硬脂酸的相对浓度在第1 d 最高，随着治疗逐渐降低。色氨酸的相对浓度呈先减后增的趋势，治疗第3 d 相对浓度最低。油酸的相对浓度呈先增后减的趋势，相对浓度在治疗第3 d 最高。以上代谢物的相对浓度在治疗的第14 d 均与假手术组的值接近。

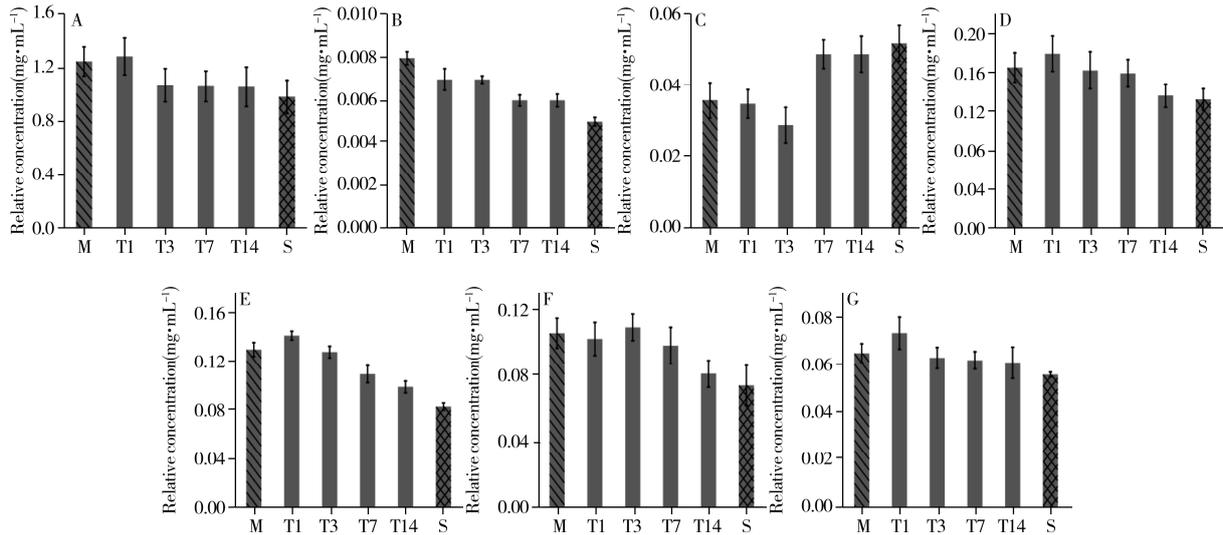


图6 乳酸(A)、组氨酸(B)、色氨酸(C)、棕榈酸(D)、亚油酸(E)、油酸(F)、硬脂酸(G)在治疗组中的时序变化
 Fig. 6 Temporal changes of lactic acid(A), histidine(B), tryptophan(C), palmitic acid(D), linoleic acid(E), oleic acid(F), stearic acid(G) in the treatment group
 M: stands for the method group; T1, T3, T7, T14 were the treatment group on day 1, 3, 7, 14; S: represents the sham group

据文献报道，颅脑损伤可引起脑组织缺血、缺氧，继发性的炎症反应上调，致使神经元凋亡坏死^[13]；而代谢物的相对浓度在第1 d 或第3 d 出现最值，可能与颅脑损伤后大脑广泛存在凋亡现象有关，伤后第1 d 即出现凋亡细胞，伤后第3 d 细胞凋亡达到高峰^[14]。颅脑损伤几分钟后，线粒体功能障碍，细胞呼吸作用受阻。为满足能量需求，厌氧糖酵解将会增加，并导致乳酸积累^[15]。

本研究发现，治疗组大鼠用药第1 d 血浆中乳酸浓度最高，经血府逐瘀汤治疗，乳酸浓度整体呈下降趋势，并在第14 d 与假手术组中乳酸浓度接近，这表明血府逐瘀汤可改善脑部缺血缺氧状况，调

节神经组织能量代谢。组氨酸能够诱发高胆固醇血症,且其在组氨酸脱羧酶的作用下脱羧形成组胺,而组胺可舒张血管,增加血管管壁的通透性,从而导致局部水肿,因此组氨酸和体内炎症反应相关^[16]。色氨酸是一种限制性氨基酸,与免疫蛋白的合成密切相关,主要通过调节淋巴细胞和合成免疫球蛋白提高机体免疫力^[17-18]。当机体发生炎症时,色氨酸分解代谢会增强。同时,色氨酸也是血清素神经递质的前体,血浆中色氨酸浓度的正常化会增加色氨酸对脑部的供应^[19],从而为中枢神经系统提供能量和合成蛋白质,进而促进认知功能的恢复^[20]。由图5C可知,炎症发生后第3d色氨酸含量最低,此后随着炎症减轻,色氨酸的相对浓度逐渐升高,再次证明血府逐瘀汤对减轻颅脑损伤引发的炎症具有治疗效果。颅脑损伤后脂代谢紊乱,血浆中脂类的增多使血液黏度增加形成血瘀。棕榈酸是棕榈油中饱和脂肪酸的主要组成成分,研究显示棕榈酸与代谢综合征、心血管疾病、神经退行性疾病、炎症等具有相关性^[21-22]。也有研究表明硬脂酸能够拮抗氧化应激造成的脑片损伤,起到神经保护作用^[23]。本研究发现治疗组中棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸的含量在第1d或第3d最高,随后均降低,表明血府逐瘀汤具有活血化痰调节脂代谢的作用。

文献采用氢谱核磁共振(¹H NMR)技术研究了血府逐瘀汤对大鼠脑损伤的修复机理^[24],发现治疗组血浆中乳酸、谷氨酸、胆碱的含量低于模型组,而N-乙酰天门冬氨酸、 γ -羟基丁酸、肌酸的含量升高。本研究结果则显示,治疗组血浆中乳酸、组氨酸、棕榈酸、亚油酸、硬脂酸的相对浓度逐渐降低,油酸的相对浓度先升高后降低,色氨酸的相对浓度先降低后增加。这从一定程度上反映了GC-MS和¹H NMR在代谢组学研究中的互补性。同时也提示,对于非靶标代谢组学研究,在实验条件允许的情况下,最好同时采用¹H NMR和MS技术表征代谢组,以获得覆盖率更高的代谢物,用于标志物的筛选,方便获得更为全面可靠的结果。

3 结论

本研究结合 t 检验和OPLS-DA,采用GC-MS对大鼠颅脑损伤模型组、治疗组以及假手术组的血浆代谢组进行定性定量分析,结果发现模型组和假手术组血浆代谢存在明显差异,并筛选出乳酸、组氨酸、棕榈酸、色氨酸、亚油酸、油酸、硬脂酸7种差异代谢物,以此为潜在标志物,观察7种代谢物在药物治疗组中的时序变化,发现经血府逐瘀汤治疗后差异代谢物含量逐渐趋近于假手术组。研究结果表明,血府逐瘀汤对颅脑损伤具有良好的治疗作用,上述7种代谢物可作为生物标志物来观察颅脑损伤患者的恢复情况及治疗效果,该研究可为血府逐瘀汤治疗颅脑损伤的临床研究提供一定的科学支撑。

参考文献:

- [1] Hyder A A, Wunderlich C A, Puvanachandra P, Gururaj G, Kobusingye O C. *Neurorehabilitation*, **2007**, 22(5): 341-353.
- [2] Silver J M. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.*, **2018**, 30(1): 5-6.
- [3] Janatpour Z C, Symes A J. *Neural Regeneration Res.*, **2020**, 15(6): 1025-1026.
- [4] Zhou Y N, Sun M Y, Mu Y P, Yang T, Ning B B, Ren S, Chen J M, Liu P. *J. Ethnopharmacol.*, **2014**, 153(3): 659-666.
- [5] Hoa B, Cao W D, Yang T. *Chin. J. Integr. Traditional West. Med.*, **2006**, 26(2): 125-127.
- [6] Sun M, Zhan X P, Jin C Y, Shan J Z, Xu S, Wang Y L. *Chin. J. Integr. Med.*, **2008**, 14(2): 137-141.
- [7] Qi J L. *J. Liaoning Univ. Traditional Chin. Med.* (齐金玲. 辽宁中医药大学学报), **2016**, 18(2): 151-153.
- [8] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. *Xenobiotica*, **1999**, 29(11): 1181-1189.
- [9] Chen M J, Ni Y, Duan H Q, Qiu Y P, Guo C Y, Jiao Y, Shi H J, Su M M, Jia W. *Chem. Res. Toxicol.*, **2008**, 21(2): 288-294.
- [10] Dettmer K, Aronov P A, Hammock B D. *Mass Spectrom. Rev.*, **2007**, 26(1): 51-78.
- [11] Issaq H J, Van Q N, Waybright T J, Muschik G M, Veenstra T D. *J. Sep. Sci.*, **2009**, 32(13): 2183-2199.
- [12] Cai P P, Lu H M. *Chin. J. Anal. Chem.* (蔡晶晶, 卢红梅. 分析化学), **2013**, 41(8): 1183-1187.
- [13] Li F, Tian B F, Wei X B, Feng B, Zhang C M, Xiao W. *Chin. J. Contemp. Neurol. Neurosurgery* (李峰, 田冰峰, 魏小兵, 冯波, 张春满, 肖伟. 中国现代神经疾病杂志), **2018**, 18(2): 128-133.
- [14] Yang Y H, Zhang K C, Zhang Y M. *Med. J. Natl. Defending Forces Southwest Chin.* (杨云华, 张可成, 张艺梅. 西南国防医药), **2009**, 19(5): 488-491.
- [15] Okorie O N, Dellinger P. *Crit. Care Clinics*, **2011**, 27(2): 299-326.

- [16] Jiang L R. *Prog. Phys. Sci.* (蒋立锐. 生理科学进展), **1985**, (2): 174 - 176.
- [17] Cervenka I, Agudelo L Z, Ruas J L. *Science*, **2017**, 357(6349): 1 - 8.
- [18] Breda C, Sathyaikumar K V, Idrissi S S, Notarangelo F M, Estranero J G, Moore G G L, Green E W, Kyriacou C P, Schwarcz R, Giorgini F. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2016**, 113(19): 5435 - 5440.
- [19] Fernstrom J D, Faller D V. *J. Neurochem.*, **1978**, 30(6): 1531 - 1538.
- [20] Aquilani R, Iadarola P, Contardi A, Boselli M, Verri M, Pastoris O, Boschi F, Arcidiaco P. *Arch. Phys. Med. Rehabilitation*, **2005**, 86(9): 1729 - 1735.
- [21] Yu Y, Cai Z, Zheng J, Chen J, Zhang X, Huang X F, Li D. *Nutr. Res.*, **2012**, 32(2): 71 - 77.
- [22] Ebbesson S O E, Voruganti V S, Higgins P B, Fabsitz R R, Ebbesson L O, Laston S, Harris W S, Kennish J, Umans B D, Wang H, Devereux R B, Okin P M, Weissman N J, MacCluer J W, Umans J G, Howard B V. *Int. J. Circumpolar Health*, **2015**, 74(1): 1 - 11.
- [23] Wang Z J, Li G M, Nie B M, Lu Y, Yin M. *Chem. - Biol. Interact.*, **2006**, 60(1): 80 - 87.
- [24] Liu J R, Li Q M, Yi M J, Huang L W. *J. New Chin. Med.* (刘建仁, 黎启明, 易铭佳, 黄良文. 新中医), **2014**, 46(5): 206 - 209.

(责任编辑: 周启动)

全国检标委发布《化妆品中壬二酸的检测气相色谱法》征求意见

近日, 全国质量监管重点产品检验方法标准化技术委员会(SAC/TC 374)发布《化妆品中壬二酸的检测气相色谱法》征求意见通知。

壬二酸 Azelaic Acid(CAS 123 - 99 - 9), 又名杜鹃花酸, 白色至微黄色单斜棱晶、针状结晶或粉末。工业中用作增塑剂和化工合成。对皮肤、眼睛、粘膜和上呼吸道有刺激作用, 吸入或摄入对身体有害。

在化妆品种添加可以起到的作用有: 1. 直接抑制和杀灭皮肤表面和毛囊内的细菌, 消除病原体; 2. 竞争性抑制产生二氢睾酮的酶过程, 减少二氢睾酮因素诱发的皮肤油脂过多; 3. 抑制活性氧自由基的产生和作用, 利于抗炎; 4. 减少丝状角蛋白的合成, 防止毛囊角化过度; 5. 破坏细胞线粒体呼吸, 抑制细胞合成、增殖。

(信息来源: 仪器信息网)