

HSYA 与芍药苷联用对脑缺血再灌注损伤大鼠 PI3K、Akt mRNA 表达的影响

谭燕萍¹, 周福宜¹, 梁慧超², 余梦黎³, 廖金明⁴,
郑丽娴⁴, 姚晖⁵, 秦莎莎⁶, 张继平⁵

1. 佛山市禅城区朝阳医院, 广东 佛山 528000
2. 佛山市第一人民医院脑科康复医院, 广东 佛山 528000
3. 广东医科大学药学院, 广东 湛江 524023
4. 南方医科大学中医药学院, 广东 广州 510515
5. 南方医科大学附属佛山医院, 广东 佛山 528000
6. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006

【摘要】目的: 探讨羟基红花黄色素 A (HSYA) 与芍药苷联合用药对急性局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠 PI3K/Akt 信号通路中 PI3K、Akt mRNA 表达的影响。**方法:** SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只, 随机分为 6 组, 每组 10 只, 分别为模型组、假手术组、HSYA 组、芍药苷组、银杏内酯组、合用组。复制脑缺血再灌注模型。脑缺血 1 h 再灌注 6 h 后尾静脉注射相应的药物 7 天, 每天 1 次。HSYA 组灌胃 HSYA 溶液 5.0 mg/(kg·d); 芍药苷组灌胃芍药苷溶液 5.0 mg/(kg·d); 合用组是 HSYA 与芍药苷联合用药, 灌胃 HSYA 溶液和芍药苷溶液各 5.0 mg/(kg·d); 银杏内酯组灌胃银杏内酯注射液 5.0 mg/(kg·d); 模型组和假手术组灌胃等量生理盐水。末次给药 2 h 后采集相应标本保存, qRT-PCR 法检测大鼠海马组织 PI3K、Akt mRNA 的表达。**结果:** 与假手术组比较, 模型组大鼠 PI3K mRNA 表达量显著减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。与模型组比较, HSYA 组、芍药苷组、合用组、银杏内酯组大鼠海马组织中 PI3K mRNA 的表达显著降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与合用组比较, HSYA 组、银杏内酯组大鼠 PI3K mRNA 的表达量较高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:** HSYA 与芍药苷联合用药对脑缺血再灌注损伤模型大鼠的保护机制可能与显著调节 PI3K/Akt 信号通路中 PI3K mRNA 过表达, 微调 Akt mRNA 过表达有关。

【关键词】 脑缺血再灌注损伤; 羟基红花黄色素 A (HSYA); 芍药苷; PI3K mRNA; Akt mRNA; 动物实验; 大鼠

【中图分类号】 R743 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 0256-7415 (2018) 01-0011-05

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2018.01.003

HSYA Combined with Paeoniflorin Has Effect on Expressions of PI3K and Akt mRNA in Rats with Cerebral Ischemia Reperfusion Injuries

TAN Yanping, ZHOU Fuyi, LIANG Huichao, YU Mengli, LIAO Jinming,
ZHENG Lixian, YAO Hui, QIN Shasha, ZHANG Jiping

Abstract: Objective: To observe the effect of hydroxy safflower yellow A (HSYA) combined with paeoniflorin on expressions of PI3K and Akt mRNA in PI3K/Akt signal pathway of rats with acute focal cerebral ischemia reperfusion injuries. **Methods:** Divided 60 SPF male SD rats into 6 groups, namely the model group, sham operation group, HSYA group, paeoniflorin group, Ginkgolide group, and the combination group, 10 rats in each group. Replicated the model of cerebral ischemia reperfusion. After one hour of cerebral ischemia and 6 hours of perfusion the rats were medicated related intravenous injection from posterior caudal vein for 7 days, once a day, continuously HSYA group was given 5.0 mg/(kg·d) of HSYA solution by gavage. Paeoniflorin group was given 5.0 mg/(kg·d) of paeoniflorin solution by gavage. The combination group received 5.0 mg/(kg·d) of HSYA combined with 5.0 mg/(kg·d) of paeoniflorin by gavage. Ginkgolide group was given

【收稿日期】 2017-05-18

【基金项目】 佛山市科技攻关项目 (2015AB001491, 2016AB002981)

【作者简介】 谭燕萍 (1980-), 女, 副主任中药师, 主要从事中药药理与临床中药学研究。

【通信作者】 张继平, E-mail: fszjping@163.com。

5.0 mg/(kg·d) of Ginkgolide injection by gavage. The model group and sham operation group were given the same amount of normal saline. Collected corresponding samples after 2 hours of the last time of administration, and then reserved them. Detected expressions of PI3K and Akt mRNA in hippocampus of rats by qRT-PCR(quantitative real-time polymerase chain reaction) method. **Results:** PI3K mRNA expression levels in rats in the model group were obviously reduced in comparison with those in the sham operation group, the difference being significant($P < 0.01$). PI3K mRNA expression levels in hippocampus of rats in HSYA group, paeoniflorin group, Ginkgolide group, and the combination group were evidently declined by comparing with those in the model group, differences being significant($P < 0.05$). PI3K mRNA expression levels of rats were higher in HSYA group and Ginkgolide group in comparison with those of the combination group, differences being significant($P < 0.05$). **Conclusion:** The protection mechanism of the combined medications of HSYA and paeoniflorin for rat model of cerebral ischemia reperfusion injuries may be relevant to the evident adjustment of PI3K mRNA over-expression in PI3K/Akt signal pathway and the micro adjustment of Akt mRNA over-expression.

Keywords: Cerebral ischemia reperfusion injuries; Hydroxy safflower yellow A(HSYA); Paeoniflorin; PI3K mRNA; Akt mRNA; Animal experiment; Rats

脑卒中具有死亡率高、发病率高、致残率高和复发率高及并发症多的特点,约80%的脑卒中属于缺血性脑卒中^[1]。随着中国人口老龄化的进程,急性缺血性脑卒中不仅成为中国第一位死亡原因,且患病率呈上升趋势及年轻化趋势^[2-3]。研究发现,羟基红花黄色素A(HSYA)与芍药苷单独应用及二者联合用药对脑缺血再灌注损伤都具有保护作用^[4-6]。脑卒中的发生发展与血小板的活化及抗细胞凋亡PI3K/Akt信号通路密切相关^[7-8]。本研究通过改良线栓法复制局灶性脑缺血再灌注模型,观察海马组织中PI3K、Akt mRNA表达情况,探讨HSYA与芍药苷联合用药对抗脑缺血再灌注损伤的分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF级雄性SD大鼠60只,体质量180~220 g,广州中医药大学实验动物中心提供,生产许可证号:SCXK(粤)2013-0020。SPF级动物饲养环境(饲养室的温度为23~25℃,相对湿度约55%~65%,昼夜温差小于2℃,噪音≤60 dB,昼夜交替时间为12 h/12 h,且饲养室内每天紫外灯照射杀菌2 h)。实验动物饮用水为高压灭菌的纯净水、每天换水一次,垫料为高压灭菌的白杨木屑,鼠笼和垫料每周更换2次,由广东药科大学实验动物中心提供,许可证号为SYXK(粤)2012-0125。

1.2 药物及试剂 羟基红花黄色素A(Hydroxysafflor Yellow A, HSYA)(纯度89.5%,成都康邦生物科技有限公司,批号160301);芍药苷(纯度98%,南京泽朗生物科技有限公司,批号20150723);银杏内酯注

射液(成都百裕科技制药有限公司,批号08150404);Trizol[®] reagent(批号15596026),DNase I、RNase-free(批号EN0521),Revertaid reverse transcriptase(批号EP0442),dNTP(批号R0191),Ribolock RNase inhibitor(批号EO0381),均来自Thermo Fisher Scientific Inc.;KAPA SYBR FAST qPCR Kit Master Mix(Kapa Biosystems,批号KK4605)。

1.3 实验仪器 Real Time-PCR仪(Applied Biosystems[™]),石蜡切片机(德国徕卡仪器公司),BMJ-A型包埋机(常州市中威电子仪器有限公司),高速低温离心机(美国Thermo公司)。

1.4 分组及给药 SPF级雄性SD大鼠60只,随机分为6组,每组10只,分别为模型组、假手术组、HSYA组、芍药苷组、银杏内酯组、合用组。HSYA组灌胃HSYA溶液5.0 mg/(kg·d);芍药苷组灌胃芍药苷溶液5.0 mg/(kg·d);合用组是HSYA与芍药苷联合用药,灌胃HSYA溶液和芍药苷溶液各5.0 mg/(kg·d);银杏内酯组灌胃银杏内酯注射液5.0 mg/(kg·d);模型组和假手术组灌胃等量生理盐水。适应性饲养1周后,复制脑缺血再灌注模型。脑缺血1 h再灌注6 h后尾静脉注射相应的药物7天,每天1次。

1.5 模型建立 3%戊巴比妥钠(3 mL/kg)腹腔注射麻醉大鼠,参照文献[9]方法沿颈部正中中线纵向切口,分离右侧颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)、颈内动脉(ICA)。使线栓通过CCA“V”型切口部进入ICA,结扎ICA切口和栓线,1 h后拔出栓线,再灌注6 h,造成脑缺血再灌注损伤模型。假手术组除了不插线

栓,其余同其他组。

1.6 神经功能评分 参照文献[10]5级评分方法进行评分。0分:正常,无神经功能缺损;1分:左侧前爪不能完全伸展,轻度神经功能缺损;2分:行走时,大鼠向左侧(瘫痪侧)转圈,中度神经功能缺损;3分:行走时,大鼠身体向左侧(瘫痪侧)倾倒,重度神经功能缺损;4分:不能自发行走,有意识丧失。评分为1~3分者判定造模成功,剔除0分和4分。

1.7 qRT-PCR法测定海马组织PI3K、Akt mRNA表达 剔除实验过程中各组造模不成功(神经功能评分为0分或4分)以及造模成功后分组观察未达预定时间死亡的模型大鼠,其余各组存活的大鼠颈椎脱臼处死,开颅取脑,分离右侧海马组织。Trizol法提取海马组织总RNA并进行纯度分析。引物由primer5.0软件设计,并由英俊公司合成,PI3K、Akt与内参基因序列详见表1。RNA反转录与扩增严格按照试剂盒说明进行,反应结束后,确认Real-Time PCR的扩增曲线和溶解曲线,由电脑自动分析并计算出反应体系中待测样本cDNA达到设定阈值的循环数(cycle count, Ct)。实验中各个样本均做3个复孔。以假手术组做对照,使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值计算mRNA相对表达情况。

1.8 统计学方法 采用SPSS20.0统计软件,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。

表1 PI3K、Akt和actin的引物设计

基因信息	序列(5'-3')	长度(bp)
PI3K	R-PI3K-F AGAAAGCACTGACAAATCAAAGG	122
	R-PI3K-R ACAGGCACGGCAGTAGGAC	
Akt	R-Akt-F TGAACGACGTAGCCATTGTGA	230
	R-Akt-R GCAGCGGATGATGAAGGTGT	
actin	R-actin-F CGTTGACATCCGTAAAGACCTC	110
	R-actin-R TAGGAGCCAGGGCAGTAATCT	

2 结果

各组大鼠海马组织中PI3K、Akt mRNA表达比较,见表2。与假手术组比较,模型组大鼠PI3K mRNA表达量显著减少,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,HSYA组、芍药苷组、合用组、银杏内酯组大鼠海马组织中PI3K mRNA的表达显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与合用组

比较,HSYA组、银杏内酯组大鼠PI3K mRNA的表达量较高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。各组大鼠海马组织中Akt mRNA的表达量虽有差异,但无统计学意义($P > 0.05$)。

表2 各组大鼠海马组织中PI3K、Akt mRNA表达比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	PI3K mRNA	Akt mRNA
假手术组	7	1.007 ± 0.125	1.008 ± 0.110
模型组	8	0.843 ± 0.140 ^①	1.014 ± 0.067
HSYA组	8	0.730 ± 0.084 ^{②③}	1.029 ± 0.160
芍药苷组	5	0.588 ± 0.055 ^②	1.036 ± 0.158
合用组	7	0.560 ± 0.096 ^②	0.980 ± 0.176
银杏内酯组	7	0.767 ± 0.124 ^{②③}	0.974 ± 0.044

与假手术组比较,① $P < 0.01$;与模型组比较,② $P < 0.05$;与合用组比较,③ $P < 0.05$

3 讨论

急性脑缺血再灌注损伤是一个复杂的生理病理过程,涉及能量代谢障碍、局部酸中毒、炎症因子释放、自由基损伤、细胞凋亡等方面^[11-12],其中海马区细胞的凋亡起着重要的作用。近年研究表明,PI3K/AKT信号通路是一条重要的细胞内抗凋亡信号通路。PI3K是细胞内磷脂酰肌醇激酶家族成员之一,同时也属于原癌基因,它参与细胞的生长、代谢、增殖、分化及凋亡等多种生物过程^[13]。细胞内重要的信号介导物质是PI3K的两个亚基p85和p110,p85具有调节功能,p110具有催化功能,当受到来自酪氨酸激酶或G蛋白耦联受体的信号后,p110亚基与p85亚基结合而活化Akt^[14]。细胞生长及抗凋亡的重要的分子是Akt,Akt是PI3K下游主要信号分子及PI3K信号转导时的重要靶激酶,它是一种丝氨酸(Ser473)/苏氨酸(Thr308)蛋白激酶^[15],Ser473是Akt底物结合部位磷酸化位点,Thr308是Akt的酶活性中心磷酸化位点。Akt分为3个亚型: Akt1, Akt2及Akt3,它们参与细胞的生长及增殖,其作用分别是促进细胞的增殖、参与胰岛素调节代谢的过程及细胞的生长及分化^[16]。活化的Akt通过磷酸化作用激活或抑制下游靶蛋白,进而调节细胞的凋亡、增殖、分化、迁移等过程^[17]。PI3K/Akt信号通路参与神经系统中神经元及神经胶质细胞的生存、分化,PI3K/Akt的激活对脑缺血再灌注损伤具有神经保护作用^[18]。

本研究发现给药7天后,模型组PI3K mRNA的表达量明显较假手术组低,HSYA组、芍药苷组、银

杏仁酯组、合用组 PI3K mRNA 的表达量明显较模型组低,表明 HSYA、芍药苷、银杏内酯均能抑制 PI3K mRNA 过度表达;合用组 PI3K mRNA 的表达量与 HSYA 组相比有明显的差别,但与芍药苷组相比无差别,表明 HSYA 与芍药苷联合用药对 PI3K mRNA 基因表达的抑制作用较 HSYA 单独用药效果好。各组大鼠海马组织中 Akt mRNA 的表达量虽有差别,其中合用组较低,但无统计学意义。

课题组的前期研究发现,HSYA 与芍药苷联合用药通过上调 PI3K/AKT 信号通路中 p-Akt 的蛋白表达而发挥抗急性脑缺血再灌注损伤的作用^[6,19]。本实验结果显示无论是单用 HSYA 或芍药苷,还是两者联合使用均能使大鼠海马组织中 PI3K mRNA 表达显著降低,其中合用组表达最低。各组大鼠海马组织中 Akt mRNA 的表达情况中,合用组和银杏内酯组下调表达,HSYA 或芍药苷单用则上调表达,但各组之间差异不明显,说明不管单用 HSYA 或芍药苷,还是两者联合使用,对 Akt mRNA 的表达影响不大。结果表明 HSYA 与芍药苷联合通过下调 PI3K mRNA 表达,起到对脑缺血再灌注损伤大鼠神经保护作用。但这与我们前期研究显示 HSYA 与芍药苷联合通过增加 PI3K、Akt 蛋白的表达来起作用的结果不一致,究其原因,分析是:①机体的反馈抑制,当 PI3K/Akt 信号通路中上游基因 PI3K 因过度表达其对下游基因的调控作用被抑制,其对下游基因的调控作用减弱,因此 Akt 基因的表达趋于正常;②药物对机体的作用;③机体的反馈抑制及药物的相互作用二者同时兼有;④蛋白调控表达可能需要多个基因的作用,这些原因致使 PI3K/Akt 信号通路被激活后,在脑缺血的前期 PI3K、Akt 基因表达为上调,而在脑缺血的后期基因表达为下调,其相关蛋白的表达是一直表现为上调,但这需要动态观察 PI3K/Akt 信号通路中 PI3K、Akt 基因的表达情况来证实。因此课题组后期的实验研究将会设计多时间点取材,以此来动态观察 PI3K、Akt 信号通路中 PI3K、Akt 基因的表达情况,验证本次研究的结果。

综上所述,HSYA 与芍药苷联合用药对脑缺血再灌注损伤的保护机制从基因水平上可能与调节 PI3K/Akt 信号通路中 PI3K mRNA 基因的过表达和微调 Akt mRNA 过表达有关,从而发挥抗急性脑缺血再灌注损伤的作用,未来将进一步研究 HSYA 与芍药

苷联合用药对 PI3K/Akt 信号通路作用的最佳时间点及其他靶点基因的影响。

[参考文献]

- [1] Zhang S, Zis O, Ly PT, et al. Down-regulation of MIF by NF kappa B under hypoxia accelerated neuronal loss during stroke[J]. *FASEB J*, 2014, 28(10): 4394-4407.
- [2] 2015 年“世界卒中日”宣传主题及提纲[J]. *疾病监测*, 2015, 30(10): 879-885.
- [3] 王陇德. 中国脑卒中防治报告[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2015: 23.
- [4] Tang NY, Liu CH, Hsieh CT, et al. The anti-inflammatory effect of paeoniflorin on cerebral infarction induced by ischemia-reperfusion injury in Sprague-Dawley rats[J]. *Am J Chin Med*, 2010, 38(1): 51-64.
- [5] Chen L, Xiang Y, Kong L, et al. Hydroxysafflor yellow A protects against cerebral ischemia reperfusion injury by anti-apoptotic effect through PI3K/Akt/GSK3beta pathway in rat [J]. *Neurochem Res*, 2013, 38(11): 2268-2275.
- [6] 秦莎莎, 余梦黎, 廖金明, 等. 羟基红花黄色素 A 与芍药苷联合用药对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *广东药学院学报*, 2016, 32(6): 747-751, 761.
- [7] Schattner M. Platelets and galectins [J]. *Ann Transl Med*, 2014, 2(9): 85.
- [8] 王晓平, 倪京满. 脑缺血再灌注损伤的研究及药物治疗进展[J]. *中国新药杂志*, 2016, 25(6): 659-663.
- [9] 马贤德, 孙宏伟, 柴纪严, 等. 线栓法制备大鼠脑缺血再灌注模型的方法研究[J]. *中华中医药学刊*, 2009, 27(6): 1200-1201.
- [10] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [11] 黄宇星, 胡胜利, 邹永杰, 等. 高压氧预适应对大鼠大脑中动脉闭塞后骨桥蛋白表达的影响[J]. *第三军医大学学报*, 2013, 35(1): 15-19.
- [12] Turley KR, Toledo-Pereyra LH, Kothari RU. Molecular mechanisms in the pathogenesis and treatment of acute ischemic stroke[J]. *J Invest Surg*, 2005, 18(4): 207-218.
- [13] Cantrell DA. Phosphoinositide 3-kinase signalling pathways[J]. *J Cell Sci*, 2001, 114(Pt8): 1439-1445.
- [14] Gao N, Flym DC, Zhang Z, et al. G1 cell cycle progression and the expression of G1 cyclins are regulated by PI3K/AKT/mTOR/p70S6K1 signaling in human ovarian cancer cells[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 287(2): C281-291.

- [15] Downward J. Mechanisms and consequences of activation of protein kinaseB/Akt[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1998, 10(2): 262-267.
- [16] Zhao H, Sapolsky RM, Steinberg GK. Phosphoinositide-3-kinase /akt survival signal pathways are implicated in neuronal survival after stroke [J]. *Molecular Neurobiology*, 2006, 34(3): 249-270.
- [17] 张乐, 李晓艳, 李震, 等. 神经节苷脂联合依达拉奉对局灶性脑缺血再灌注大鼠 PI3K、Akt 蛋白表达的影响研究[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2015, 23(4): 142-145.
- [18] 刘媛媛, 崔颖, 高俊玲, 等. P-Akt、Bid 与小鼠局灶性脑缺血后处理保护作用的关系[J]. *解剖学报*, 2011, 42(2): 164-169.
- [19] 祝赫, 黄海艳, 张继平, 等. 补阳还五汤预处理对脑缺血再灌注大鼠脑组织海马区 Akt 磷酸化水平的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2015, 26(4): 451-455.
- (责任编辑: 冯天保, 郑锋玲)

HPLC 法对决明子中 3 种有效成分含量的测定

张梅¹, 冯良², 潘娜¹

1. 郑州市妇幼保健院, 河南 郑州 450000; 2. 河南中医药大学第三附属医院, 河南 郑州 450000

[摘要] 目的: 高效液相色谱法测定决明子中红鞣霉素龙胆二糖苷、决明子苷 C 及橙黄决明素-6-O-β-D-葡萄糖苷 3 种有效成分的含量。方法: 采用 Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱, 柱温 30℃, 以乙腈和四氢呋喃混合溶液 (A)-1%冰醋酸 (B) (A : B=30 : 70) 为流动相等度洗脱, 流速 1.0 mL/min, 检测波长为 278 nm。结果: 3 种有效成分得到了基线分离。红鞣霉素龙胆二糖苷、决明子苷 C 及橙黄决明素-6-O-β-D-葡萄糖苷分别在 0.136 4~1.091 μg、0.117 9~0.943 μg、0.126 3~1.010 μg 与相应的峰面积呈现良好的线性关系, 回归方程分别为 $Y=3.78 \times 10^6 X-143\ 929$ 、 $Y=2.67 \times 10^6 X-78\ 435$ 、 $Y=3.15 \times 10^6 X-108\ 435$; 平均加样回收率分别为 100.53%、98.95%、102.30%。对不同产地决明子药材进行测定, 结果显示 3 种有效成分的含量差异较大。结论: 经过方法学验证, 本方法准确、可靠、重复性好, 可以为决明子药材评价与质量控制提供有效参考。

[关键词] 决明子; 红鞣霉素龙胆二糖苷; 决明子苷 C; 橙黄决明素-6-O-β-D-葡萄糖苷; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2018) 01-0015-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2018.01.004

Determination of Content of Three Effective Components in Cassia Seed with HPLC

ZHANG Mei, FENG Liang, PAN Na

Abstract: Objective: To establish methods of high performance liquid chromatograph(HPLC) so as to determine content of rubrofusarin gentiobioside, assiaside C and Aurantio-obtusifolin-6-O-β-D-glucopyranoside of cassia seed. **Methods:** Performed Zorbax Eclipse XDB - C18 column at the temperature of 30℃, and used acetonitrile and tetrahydrofuran(A)-1% acetic acid (B) (A : B=30 : 70) as mobile phase by isocratic elution, with the flow rate being 1.0 mL/min and detection wavelength at 278 nm. **Results:** Three effective components achieved a baseline resolution. Rubrofusarin gentiobioside, assiaside C and Aurantio-obtusifolin-6-O-β-D-glucopyranoside respectively demonstrated a good linear relationship with the peak area in the range of 0.136 4~1.091 μg, 0.117 9~0.943 μg, and 0.126 3~1.010 μg. The respective typical equation was $Y=3.78 \times 10^6 X-143\ 92$, $Y=2.67 \times 10^6 X-784\ 35$, $Y=3.15 \times 10^6 X-108\ 435$ respectively, and their average recovery was 100.53%, 98.95% and 102.30% respectively. For the determination of cassia seed from different habitats, the result indicated there was great difference among the content of these three effective components. **Conclusion:** By methodology

[收稿日期] 2017-05-19

[作者简介] 张梅 (1983-), 女, 主管中药师, 研究方向: 中药学及医院药学。