

基于非酒精性脂肪肝体外细胞模型对藏药“松蒂”基原植物中6个多酚类化合物的活性评价

阿都莫子力¹, 魏荣锐¹, 秦伟瀚², 冯海青³, 任刚¹, 朱继孝¹, 万鑫浩¹, 金重先¹, 蒋伟^{1*}, 钟国跃^{1*}

(1. 江西中医药大学中药资源与民族药研究中心, 江西南昌 330004; 2. 重庆市中药研究院, 重庆 400065; 3. 荆州市食品药品检验所, 湖北荆州 434000)

摘要: 目的 研究源自“松蒂”基原植物中6个多酚类化合物对非酒精性脂肪肝(NAFD)体外细胞模型各项指标及脂滴形成的影响。方法 采用SRB法确定各化合物对LO2细胞存活率的影响。化合物预处理LO2细胞24 h后,加入油酸诱导LO2细胞诱导非酒精性脂肪肝细胞模型,检测各组细胞TG、MDA、SOD水平,并采用油红O染色法观察各组细胞内脂滴的形成。结果 油酸(200 μmol/L)诱导LO2细胞24 h后,模型组细胞内脂滴形成增多,TG水平增多($P<0.01$)。药物干预后,山柰酚(25、50 μmol/L)及100 μmol/L异槲皮苷、没食子酸、白桦林烯酮、芦丁均能降低细胞内TG水平($P<0.05$, $P<0.01$);50 μmol/L山柰酚及100 μmol/L没食子酸、金丝桃苷、芦丁、白桦林烯酮能提高SOD水平($P<0.05$, $P<0.01$),异槲皮苷(50、100 μmol/L)提高SOD水平($P<0.05$);异槲皮苷、金丝桃苷、芦丁在50、100 μmol/L下能降低MDA水平($P<0.05$, $P<0.01$),50 μmol/L山柰酚及100 μmol/L没食子酸、白桦林烯酮降低MDA水平($P<0.01$),且细胞内红色脂滴形成情况与TG水平变化趋势基本一致。结论 “松蒂”类药材中山柰酚、异槲皮苷、没食子酸、金丝桃苷、芦丁和白桦林烯酮均可不同程度减少细胞内TG水平,抑制细胞内MDA水平同时提高SOD水平,并减少细胞内脂滴的形成。

关键词: 松蒂; 多酚; 非酒精性脂肪肝体外细胞模型; TG

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)10-2592-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.10.010

Non-alcoholic fatty liver *in vitro* cell model-based activity evaluation for six polyphenols from the Tibetan medicinal plant “Songdi”

A-du-mo-zi-li¹, WEI Rong-rui¹, QIN Wei-han², FENG Hai-qing³, REN Gang¹, ZHU Ji-xiao¹, WAN Xin-hao¹, JIN Zhong-xian¹, JIANG Wei^{1*}, ZHONG Guo-yue^{1*}

(1. Research Center for Resources of Traditional Chinese Medicine and Ethnic Minority Medicine, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. Chongqing Municipal Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China; 3. Jingzhou Municipal Institute for Food and Drug Control, Jingzhou 434000, China)

ABSTRACT: AIM The present study was designed to evaluate the pharmacological effects of six polyphenols derived from Tibetan medicinal plant “Songdi” in oleic acid (OA) -induced LO2 cell model of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). **METHODS** The SRB method was used to determine the effect of each compound on the

收稿日期: 2020-01-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(8186140780); 江西省教育厅科技项目(GJJ180664)

作者简介: 阿都莫子力(1995—),女(彝族),硕士生,从事中药及民族药的药效物质基础及资源综合评价研究。Tel: (0791) 87119060, E-mail: 448247376@qq.com

*通信作者: 蒋伟(1979—),男,博士,副教授,从事中药及民族药的药效物质基础及资源综合评价研究。Tel: (0791) 87119060, E-mail: dynastyjw@126.com

钟国跃(1958—),男,博士,研究员,从事中药及民族药研究。E-mail: zgy1037@163.com

网络出版日期: 2020-04-23

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20200423.0845.002.html>

survival rate of LO2 cells. LO2 cells pre-treated with compound for 24 h were induced into NAFLD models by oleic acid. And the levels of TG, MDA and SOD in each group were detected, and the formation of lipid droplets in each group was observed by oil red O staining. **RESULTS** LO2 cells subjected to 24 h OA induction (200 $\mu\text{mol/L}$) had increased formation of intracellular lipid droplets and TG level in the model group ($P<0.01$). Interventions of kaempferol (25, 50 $\mu\text{mol/L}$) and 100 $\mu\text{mol/L}$ isoquercitrin, gallic acid, betulin, and rutin reduced intracellular TG levels ($P<0.05$, $P<0.01$); 50 $\mu\text{mol/L}$ kaempferol and 100 $\mu\text{mol/L}$ gallic acid, hyperin, rutin, betulinone increased SOD levels ($P<0.05$, $P<0.01$), isoquercitrin (50, 100 $\mu\text{mol/L}$) increased SOD level ($P<0.05$); isoquercitrin, hyperin, and rutin at 50 and 100 $\mu\text{mol/L}$ reduced MDA level ($P<0.05$, $P<0.01$), 50 $\mu\text{mol/L}$ kaempferol, 100 $\mu\text{mol/L}$ gallic acid and betulinone reduced MDA levels ($P<0.01$). And the formation of red lipid droplets in the cells was basically consistent with the changing trend of TG levels. **CONCLUSION** Rutin, hyperoside, isoquercetin, kaempferol, gallic acid and platyphyllene, the six marker polyphenols found in "Songdi" can reduce the intracellular TG level, inhibit the MDA level, increase the SOD level and reduce the formation of intracellular lipid droplets.

KEY WORDS: Songdi; polyphenols; nonalcoholic fatty liver *in vitro* cell model; TG

“松蒂”是藏医临床用于治疗肝胆疾病的一类常用药材，其基原植物主要为多种藏区虎耳草属植物^[1]，具有清肝胆之热、排脓敛疮之效，多用于肝炎、胆囊炎等^[2]。高原民族喜吃牛羊肉、糌粑、酥油茶、甜茶等高热量食物，较少食用蔬菜瓜果等膳食纤维，这种高脂、高糖、高蛋白、低膳食纤维的饮食结构以及经济生活水平提高带来的体力活动减少使藏族人群中脂肪肝患者比例较高^[3-4]，并呈逐年上升趋势。在藏医临床上，“松蒂”类药材常作为组方药物用于治疗脂肪肝，如治疗肝胆类疾病的首选藏药二十五味松石丸^[5-6]。

非酒精性脂肪肝 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是指无过量饮酒史，肝细胞发生脂肪病变，形成脂质堆积的一种临床病理综合征，发病趋势主要从单纯性脂肪病变、脂肪性肝炎、肝纤维化最终衍变为肝细胞癌^[7]。目前，对 NAFLD 的研究通常采用的是动物模型，但存在个体差异大、研究周期长、实验条件不易控制等问题，而细胞模型很好地克服上述问题，同时能够有效缩短实验进程，适用于批量药物的筛选^[8]。前期对“松蒂”基原植物的药理研究表明，其提取物对动物或细胞化学性肝损伤具有一定的抵抗作用^[9-10]，另外相关化学文献显示其含有大量的黄酮类、酚酸类、二苯庚烷类等多酚类成分，而且抗各种类型肝损伤的研究报道较多。本实验复制了 NAFLD 体外 LO2 细胞模型模拟体内脂质堆积，然后给予单体成分对模型细胞进行干预，研究从“松蒂”基原植物中发现的 6 个多酚类成分对细胞内脂质形成的影响，从而探讨该类药材在治疗 NAFLD 方面的药效

成分基础及可能作用机制。

1 材料

1.1 细胞株 LO2 细胞株购自武汉普诺赛 (Procell) 生命科技有限公司，保存于江西中医药大学中药资源与民族药研究中心实验室。

1.2 试剂与药物 对照品芦丁 (批号 10000-201408)、金丝桃苷 (批号 11521-201205)、没食子酸 (批号 110831-200803)、山柰酚 (批号 110861-201310) 均购自中国食品药品检定研究院；异槲皮苷 (批号 1330-101226) 购自江西中药固体制剂制造技术国家工程研究中心。白桦林烯酮由本实验室自“松蒂”基原植物篦齿虎耳草中分离得到。胎牛血清 (上海双沏生物科技有限公司，批号 OH12343)；油酸 OA (美国 Sigma 公司，批号 SLBZ5247)；油红 O (美国 Sigma 公司，批号 002420145)；二甲亚砜 DMSO (北京 Solarbio 公司，批号 1012D032)；甘油三酯试剂盒 TG (南京建成生物工程研究所，批号 20191205)；BCA 蛋白试剂盒 (北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司，批号 98F00140)；超氧化物歧化酶 SOD 试剂盒 (南京建成生物工程研究所，批号 20190717)；细胞丙二醛 MDA 试剂盒 (南京建成生物工程研究所，批号 20190513)；PBS 缓冲液 (北京 Solarbio 公司，批号 P1020-500)；Trypsin-EDTA (北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司，批号 910080101100)；盖玻片、载玻片 (江苏世泰实验器材有限公司，批号 80312-2101)。

1.3 仪器 显微镜 (日本 Nikon 公司，型号 DMI300)；全波长酶标仪 (美国 Thermo 公司，型

号 Multiskan Go1510); 台式高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司, 型号 5430); 手持式匀浆机 (美国 Biodex 公司, 型号 Tissue-Tearor)。

2 方法

2.1 体外非酒精性脂肪肝细胞模型的复制 LO2 细胞培养于含 10% 胎牛血清、1% 双抗 (青霉素和链霉素) 的 RPMI-1640 培养基中, 置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养 24 h, 以 5×10⁴/孔密度接种于 6 孔培养板中, 取处于对数生长期的细胞进行试验, 设置空白组与模型组。根据前期实验结果建立脂肪肝细胞模型所用油酸的最佳作用浓度和时间分别为 200 μmol/L、24 h, 并检测模型 TG 水平, 结合油红 O 染色法观察细胞内脂滴变化, 评价体外非酒精性脂肪肝细胞模型是否复制成功。

2.2 磺酰罗丹明 B 比色法 (sulfonyl rhodamine B colorimetry, SRB) 检测化合物对 LO2 细胞增殖的影响 将 LO2 细胞按 5×10⁴/孔浓度接种于 6 孔板中, 于 37 °C、5% CO₂ 恒温箱中培养 24 h 后, 各化合物设置 3 个给药浓度 (100、50、25 μmol/L), 进行 3 次平行实验。给药 48 h 后, 采用 SRB 法检测细胞增殖, 选择对细胞活性无明显影响的浓度进行实验。

2.3 细胞内 TG、SOD、MDA 水平的测定 将 LO2 细胞按 5×10⁴/孔浓度接种于 6 孔板中, 于 37 °C、5% CO₂ 恒温箱中培养 24 h, 分为空白组、模型组及山柰酚 (50、25 μmol/L)、异槲皮苷 (100、50 μmol/L)、没食子酸 (100、50 μmol/L)、金丝桃苷 (100、50 μmol/L)、芦丁 (100、50 μmol/L)、白桦林烯酮 (100、50 μmol/L) 组, 除空白组外, 各给药组给药 24 h 后进行油酸造模, 24 h 后收集细胞悬液于 1.5 mL 离心管中, 预冷 PBS 清洗 1~2 次, 于 4 °C、1 000 r/min 下离心 10 min, 弃上清液留细胞沉淀, 加入裂解液 200 μL/管, 冰上裂解 20 min 后按照试剂盒说明书进行 TG 水平检测。在检测 SOD、MDA 时, 于细胞沉淀中加入预冷的 300 mL PBS 缓冲液进行手动匀浆破碎细胞, 再按照试剂盒说明书进行测定, 重复 3 次。

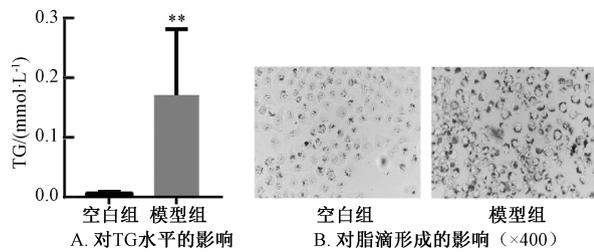
2.4 油红 O 染色观察细胞内脂滴的形成 将对数生长期的 LO2 细胞接种于 6 孔板中, 于 37 °C、5% CO₂ 恒温箱中培养 24 h, 按“2.3”项下方法分组, 除空白组外各组给药 24 h 后进行油酸造模, 24 h 后进行油红 O 染色, 甘油明胶封片, 显微镜下观察, 拍照, 重复 3 次。

2.5 统计学分析 采用 graphpad prism 6.01 软件

进行分析, 数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 分析。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 体外非酒精性脂肪肝细胞模型复制 在前期实验基础上发现, 造模剂油酸浓度为 200 μmol/L 时造模 24 h 后, 对 LO2 细胞存活无影响, 并且细胞内产生脂滴及甘油三酯相对较多, 故以其为非酒精性脂肪肝细胞模型复制的条件。与空白组相比, 模型组细胞内 TG 水平增加 (P<0.01, 图 1A), 同时模型组细胞内呈现脂滴 (图 1B)。



注: 与空白组比较, ** P<0.01。

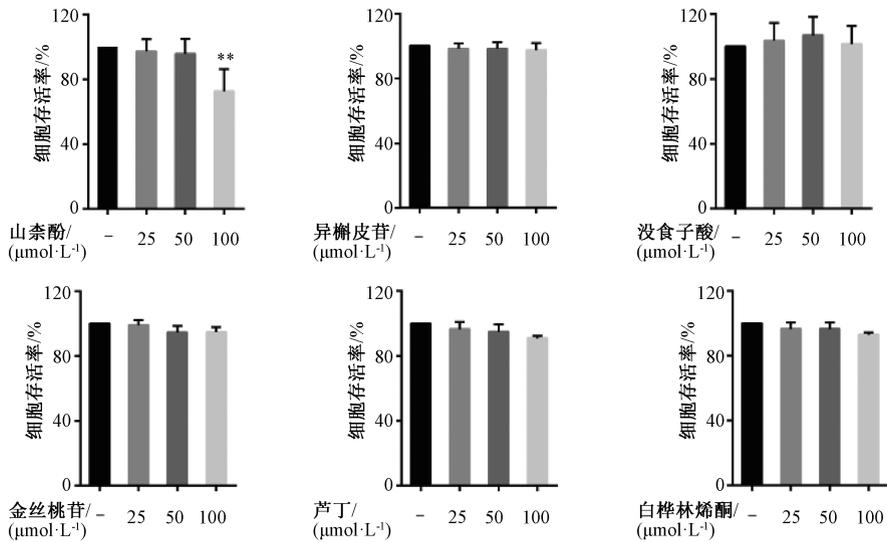
图 1 油酸对 LO2 细胞中 TG 水平及脂滴形成的影响

Fig. 1 Effects of oleic acid on TG level and lipid droplet formation in LO2 cells

3.2 各化合物实验给药浓度的选择 通过 SRB 法检测不同浓度化合物对 LO2 细胞的存活率, 选择对细胞存活率无明显影响者作为实验浓度, 每个化合物分别设置 3 个浓度 (25、50、100 μmol/L), 结果见图 2。其中, 异槲皮苷、没食子酸, 金丝桃苷、芦丁和白桦林烯酮浓度在 50、100 μmol/L 时对细胞存活率无明显影响, 而 100 μmol/L 山柰酚对细胞生长有抑制作用 (P<0.01), 故选择 25、50 μmol/L 进行下一步实验。

3.3 各化合物对 LO2 细胞中 TG 水平的影响 与空白组相比, 模型组 TG 水平升高 (P<0.01); 与模型组相比, 山柰酚浓度在 25、50 μmol/L 时均可降低 TG 水平 (P<0.01), 而异槲皮苷、没食子酸、芦丁、白桦林烯酮浓度在 100 μmol/L 时可降低 TG 水平 (P<0.05, P<0.01)。见图 3。

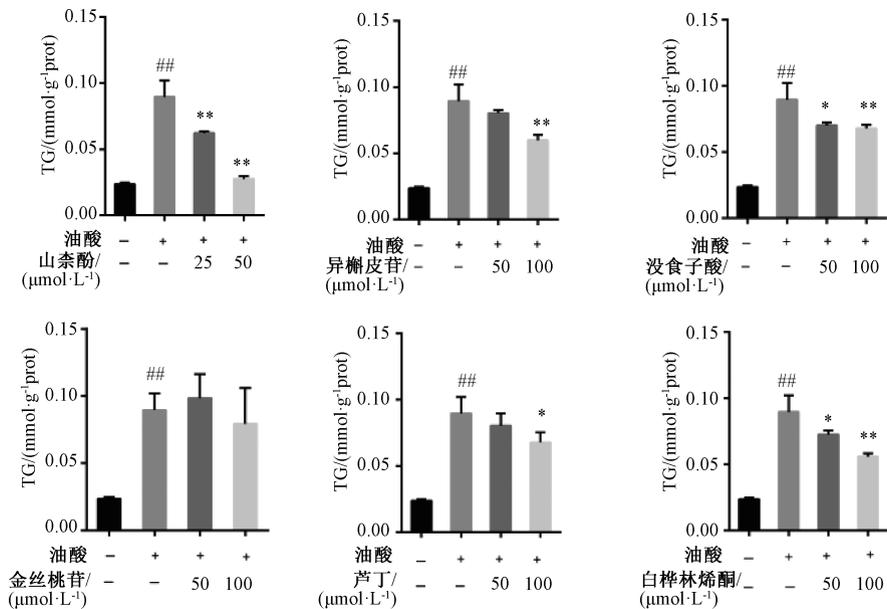
3.4 各化合物对 LO2 细胞中脂滴形成的影响 与空白组相比, 模型组细胞中形成的红色脂滴数量增多, 细胞外形成“连珠”状红色脂滴环; 与模型组相比, 各给药组细胞外红色脂滴的数量以及脂滴堆积程度均有所下降, 其中山柰酚、没食子酸及 100 μmol/L 异槲皮苷、芦丁、白桦林烯酮能减少红色脂滴形成, 细胞外“连珠”状脂滴尚未成环, 而金丝桃苷组较其他组降低脂滴形成的趋势较弱。见图 4。



注：与空白组比较，** $P < 0.01$ 。

图2 不同浓度单体成分对LO2细胞存活率的影响

Fig. 2 Effects of different concentrations of monomer components on the survival rate of LO2 cells



注：与空白组比较，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

图3 单体成分对LO2细胞中TG水平的影响

Fig. 3 Effects of monomer components on TG level in LO2 cells

3.5 各化合物对LO2细胞中SOD水平的影响 与空白组相比，模型组SOD水平降低 ($P < 0.01$)；与模型组相比，50 $\mu\text{mol/L}$ 山柰酚及100 $\mu\text{mol/L}$ 没食子酸、金丝桃苷、芦丁、白桦林烯酮可升高SOD水平 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，而各浓度异槲皮苷均可升高SOD水平 ($P < 0.05$)。见图5。

3.6 各化合物对LO2细胞中MDA水平的影响 与空白组相比，模型组MDA水平升高 ($P < 0.01$)；与模型组相比，异槲皮苷、金丝桃苷、芦丁浓度在50、100 $\mu\text{mol/L}$ 时能降低MDA水平

($P < 0.05$, $P < 0.01$)，而50 $\mu\text{mol/L}$ 山柰酚及100 $\mu\text{mol/L}$ 没食子酸、白桦林烯酮可降低MDA水平 ($P < 0.01$)。见图6。

4 讨论

非酒精性脂肪肝是世界范围内最常见的慢性肝病，主要特征表现为脂质的积累和胰岛素抵抗^[11]。其发病机制多样，“二次打击”学说是目前最为广泛接受的学说，1988年由Day等首次提出^[12]。“首次打击”由胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 引起，此时外周脂肪分解及合成脂肪增加，

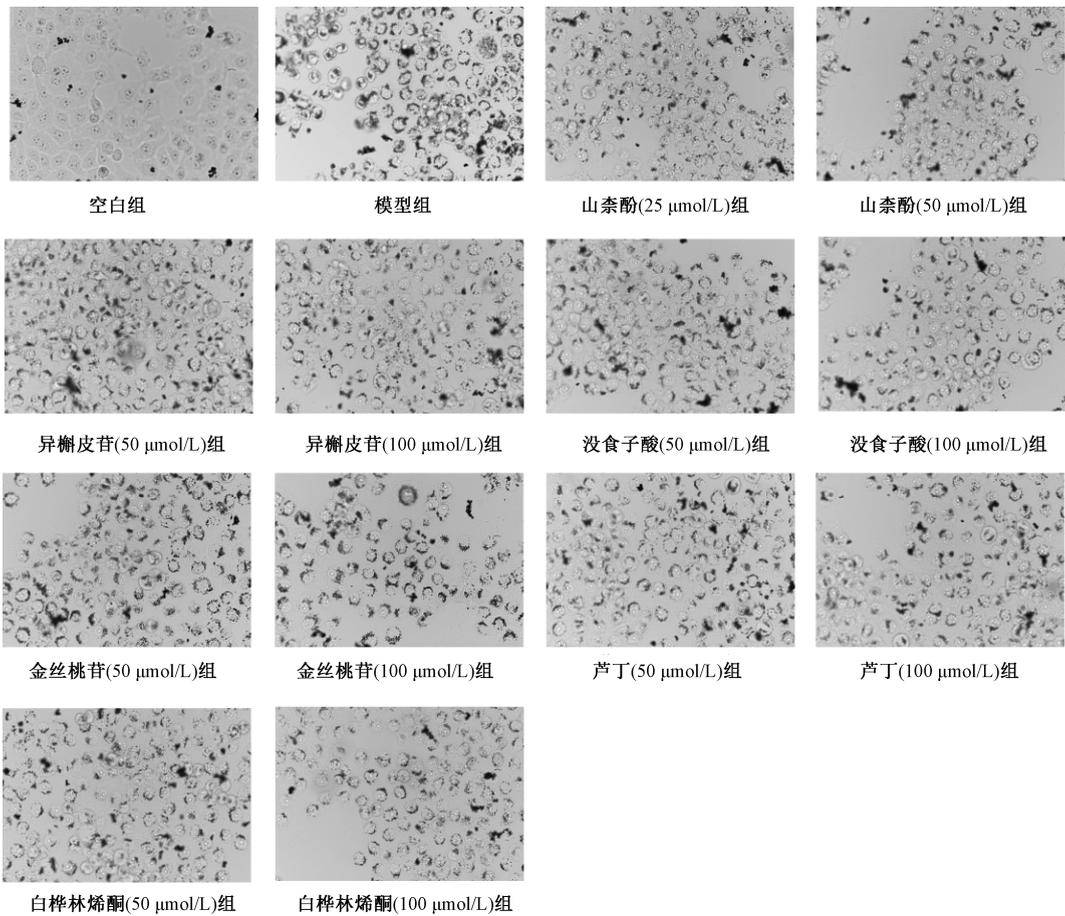
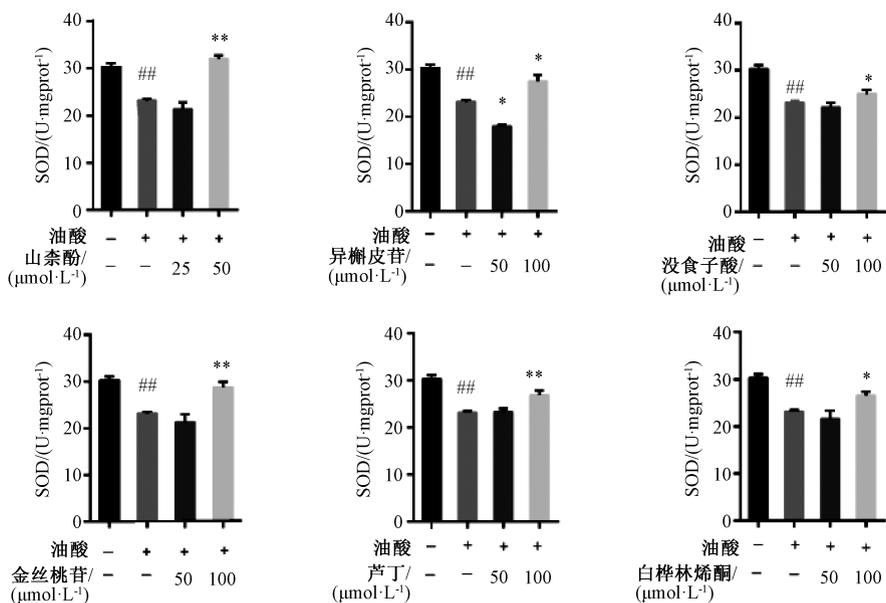


图4 单体成分对 LO2 细胞中脂滴形成的影响 (×400)

Fig. 4 Effects of monomer components on the formation of lipid droplets in LO2 cells (×400)



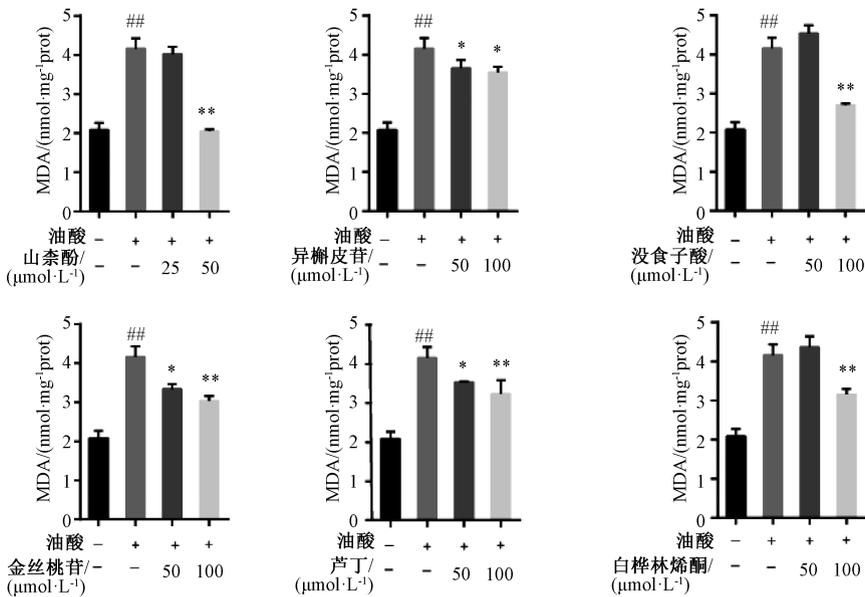
注: 与空白组比较, ^{##}*P*<0.01; 与模型组比较, ^{*}*P*<0.05, ^{**}*P*<0.01。

图5 单体成分对 LO2 细胞中 SOD 水平的影响

Fig. 5 Effects of monomer components on SOD level in LO2 cells

进入肝脏的游离脂肪酸增加, 游离脂肪酸氧化加强, 促进细胞内活性氧、肠源性内毒素、促炎性细

胞因子的过度产生, 引起激素敏感性脂肪酶的抑制作用下降, 多余的游离脂肪酸蓄积在肝脏中, 形成



注：与空白组比较，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

图 6 各单体成分对 LO2 细胞中 MDA 水平的影响

Fig. 6 Effects of monomer components on MDA level in LO2 cells

TG 在肝脏上的堆积^[13]，而油酸是一种不饱和脂肪酸，是细胞内游离脂肪酸的来源，可引起脂毒性，导致线粒体功能破坏抑制脂代谢相关酶的活性，引发氧化应激形成二次打击^[14]。NAFLD 的氧化应激源于细胞内过量游离脂肪酸的氧化过程，这将导致活性氧 ROS 的过度产生^[15]。SOD 是生物体内最为重要的抗氧化酶之一，是清除 ROS 的第一道防线^[16]，其活性降低将导致自由基在体内蓄积引发脂质过氧，而 MDA 是一种稳定的脂质过氧化产物，常常作为判断脂质过氧化的指标^[17]。

在抗 NAFLD 体外药效评价实验的文献报道中^[11-16]，均未见设立阳性对照组，原因可能是目前还没有针对本实验中所采用 NAFLD 体外模型的合适阳性药物。本研究也未设立阳性对照组，而药物组相较于模型组的各项指标变化，也足以说明药物效果。

基于以上 NAFLD 的发病机制及已有相关体外模型的国内外文献报道，本研究不断优化造模实验条件，最终选择 200 μmol/L 油酸作用于 LO2 细胞 24 h，成功复制非酒精性脂肪肝细胞模型，显微镜下观察模型组相较于空白对照组，红色脂滴数量明显增多，细胞外形成“连珠”状红色脂滴环，细胞内 TG、氧化应激水平显著增加（MDA 水平显著升高，SOD 水平显著降低），与文献中模型建立成功的评价指标基本一致^[8,14,18-19]，说明本研究体外细胞模型复制成功，可用于抗 NAFLD 药物的体外

药效评价实验。

本研究中的多酚类化合物在藏区虎耳草属多种植物（“松蒂”基原植物）的化学成分相关文献中均有报道^[20-25]，在“松蒂”基原植物的化学成分组成中具有一定的代表性，而且在抗各种肝损伤活性方面有较多研究报道^[26-29]。本研究利用 NAFLD 体外细胞模型对上述化合物进行药效评价研究，表明它们均可不同程度减少细胞内 TG 水平，抑制 MDA 水平，同时提高 SOD 活性，并减少细胞内脂滴形成，从而一定程度上说明“松蒂”类药材中所含具有一定代表性的多酚类成分可能是其抗 NAFLD 的药效物质组成成分，其抑制体外脂肪肝细胞模型中脂质形成的机制可能与多酚类成分的抗氧化应激作用相关，值得继续深入研究。

参考文献：

- [1] 钟国跃, 王昌华, 刘翔, 等. 常用藏药“蒂达(藏茵陈)”的资源与使用现状调查[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2010, 12(1): 122-128.
- [2] 费曜, 蒋伟, 钟国跃. 藏药松蒂(篦齿虎耳草)中总黄酮及绿原酸、芦丁、槲皮素的含有量测定[J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(4): 411-415.
- [3] 杨夕霞, 次仁措姆, 于海涛, 等. 拉萨地区 30421 例健康体检资料分析及预防干预[J]. 西藏医药, 2017, 38(1): 51-54.
- [4] 何朗. 高原地区居民脂肪肝患病状况调查[J]. 现代预防医学, 2013, 40(1): 164-165.
- [5] 李卫民. 藏药二十五味松石丸配合清肠清脂汤治疗脂肪肝

- 60例[J]. 中国民族医药杂志, 2007, 13(9): 25.
- [6] 才 科. 二十五味松石丸治疗肝胆疾病[J]. 中国民间疗法, 2008, 16(9): 38.
- [7] 杨家耀, 陶冬青, 刘 嵩, 等. 3种温阳健脾汤药对非酒精性脂肪肝细胞增殖与凋亡的影响[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(8): 1591-1596.
- [8] 刘 江, 厉有名, 陈韶华, 等. 一种实用的体外非酒精性脂肪肝细胞模型[J]. 浙江大学学报(医学版), 2009, 38(6): 626-629.
- [9] 李姗姗, 李 博, 张寿文, 等. 藏药“松达”的6种主要基原植物提取物对急性肝内胆汁淤积小鼠药理作用的比较研究[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(3): 314-319.
- [10] 王日康, 杜小浪, 慕泽涇, 等. 3种虎耳草属药材提取物对CCl₄致小鼠急性肝损伤防治作用的比较[J]. 中成药, 2018, 40(7): 1595-1599.
- [11] Dhami-Shah H, Vaidya R, Udipi S, *et al.* Picoside II attenuates fatty acid accumulation in HepG2 cells via modulation of fatty acid uptake and synthesis[J]. *Clin Mol Hepatol*, 2018, 24(1): 77-87.
- [12] 刘燕妮. 小檗碱对非酒精性脂肪变性肝细胞模型的作用及机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [13] Liu Y Y, Zhai T, Yu Q Q, *et al.* Effect of high exposure of chlorogenic acid on lipid accumulation and oxidative stress in oleic acid-treated HepG2 cells[J]. *Chin Herb Med*, 2018, 10(2): 199-205.
- [14] Xie C, Chen Z, Zhang C, *et al.* Dihydromyricetin ameliorates oleic acid-induced lipid accumulation in LO2 and HepG2 cells by inhibiting lipogenesis and oxidative stress [J]. *Life Sci*, 2016, 157: 131-139.
- [15] Zhang D, Xie L, Jia G, *et al.* Comparative study on antioxidant capacity of flavonoids and their inhibitory effects on oleic acid-induced hepatic steatosis *in vitro*[J]. *Eur J Med Chem*, 2011, 46(9): 4548-4558.
- [16] Patel T P, Rawal K, Soni S, *et al.* Swertiamarin ameliorates oleic acid induced lipid accumulation and oxidative stress by attenuating gluconeogenesis and lipogenesis in hepatic steatosis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 83: 785-791.
- [17] 黄文杰, 马建林. 脂质过氧化物临床研究进展[J]. 医学新知, 2019, 29(1): 78-79.
- [18] 张玲荣, 赵晶晶, 王勤英. 非酒精性脂肪肝离体细胞模型的建立[J]. 中国药物与临床, 2015, 15(3): 349-350.
- [19] 赵梦鸽, 杨慧敏, 蒋翠花, 等. 青钱柳三萜化合物对游离脂肪酸诱导的脂肪变性的干预作用[J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(3): 333-340.
- [20] 左国营, 张志军, 陈丽蓉, 等. 藏药黑蕊虎耳草的化学成分[J]. 云南植物研究, 2005, 27(6): 691-694.
- [21] 杨爱梅, 李玉兰. 藏药甘青虎耳草化学成分研究[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(9): 1975-1977.
- [22] Yang A M, Wu R, Yuan H J, *et al.* Chemical constituents of *Saxifraga umbellulata*[J]. *Chem Nat Compd*, 2015, 51(2): 330-331.
- [23] Liu J X, Di D L, Shi Y P. Diversity of chemical constituents from *Saxifraga montana* H. [J]. *J Chin Chem Soc*, 2008, 55(4): 863-870.
- [24] Dang J, Tao Y, Yun S, *et al.* Antioxidative extracts and phenols isolated from Qinghai-Tibet Plateau medicinal plant *Saxifraga tangutica* Engl [J]. *Ind Crop Prod*, 2015, 78: 13-18.
- [25] Dang J, Jiao L J, Wang W D, *et al.* Chemotaxonomic importance of diarylheptanoids and phenylpropanoids in *Saxifraga tangutica* (Saxifragaceae) [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2017, 72: 29-31.
- [26] 闫 冬. 石榴花多酚对非酒精性脂肪肝的作用及机制初探[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2014.
- [27] 喻青青. 二氢姜黄素对油酸诱导的非酒精性脂肪肝体外模型的预防和治疗作用与机制研究[D]. 武汉: 湖北大学, 2018.
- [28] 黎运呈, 曾 芳, 王秋景, 等. 山楂叶总黄酮对NAFLD肝细胞凋亡影响的研究[J]. 浙江医学, 2018, 40(10): 1037-1040; 1053; 1150.
- [29] 何国鑫, 陈华国, 邓青芳, 等. 黄酮类化合物抗肝损伤的作用机制研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(12): 1583-1591.