

垂盆草总黄酮及异鼠李素对对乙酰氨基酚诱导的 L02 细胞损伤的保护作用

蒋志涛¹, 王雪², 王建春¹, 陈晓峰¹, 王建平¹, 潘金火^{2*}

(1. 南京中医药大学附属张家港医院 江苏省企业研究生工作站, 江苏 张家港 215600;
2. 南京中医药大学药学院, 南京 210023)

[摘要] **目的:**探讨垂盆草总黄酮及异鼠李素对对乙酰氨基酚(APAP)诱导的人正常肝细胞(L02)损伤的保护作用。**方法:**以不同浓度的APAP刺激L02细胞,制备损伤模型,筛选APAP的有效刺激浓度;复制APAP诱导的L02细胞损伤模型,用细胞增殖与活性试剂(CCK-8)检测细胞存活能力,分析盆草总黄酮及异鼠李素对APAP诱导的L02细胞活性的影响;检测细胞上清液中丙二醛(MDA),谷胱甘肽(GSH)含量,超氧化物歧化酶(SOD),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)的含量。**结果:**与正常组比较,不同浓度的APAP处理的L02细胞活力显著降低,筛选出的造模条件为10 mmol·L⁻¹ APAP 孵育24 h,模型组肝细胞上清液中MDA含量升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),GSH含量降低,SOD,GSH-Px活性降低,AST和ALT含量升高;与模型组比较,垂盆草总黄酮、异鼠李素均能显著提高APAP损伤细胞的存活率,降低MDA含量,提高GSH含量,提高SOD,GSH-Px活性,降低ALT和AST的释放量($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论:**垂盆草总黄酮及异鼠李素对APAP损伤的L02细胞具有较好的保护作用。

[关键词] 垂盆草; 总黄酮; 异鼠李素; 对乙酰氨基酚; 人正常肝细胞

[中图分类号] R22;R24;R285.5;R281;R259 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)06-0121-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180631

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171226.1413.024.html>

[网络出版时间] 2017-12-27 15:20

Effect of Sedi Herba Total Flavanones and Isorhamnetin on APAP-induced Injured L02 Cells

JIANG Zhi-tao¹, WANG Xue², WANG Jian-chun¹, CHEN Xiao-feng¹, WANG Jian-ping¹, PAN Jin-huo^{2*}

(1. Zhangjiagang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Graduate Workstation of Enterprises in Jiangsu Province, Zhangjiagang 215600, China;
2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

[Abstract] **Objective:** To study the protective effect of Sedi Herba total flavanones and isorhamnetin on the acetaminophen (APAP) -induced injury of human normal hepatocytes (L02). **Method:** L02 cells were stimulated with different concentrations of APAP to prepare the injury model, and the effective stimulating concentration of APAP was screened. APAP-induced L02 cell injury models were then copied, and the effect of Sedi Herba total flavanones and isorhamnetin on the activity of L02 cells induced by APAP was analyzed by cell counting kit-8 (CCK-8) method. The contents of malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH), activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), and levels of alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) in supernatant were measured. **Result:** As compared with the normal group, the activity of L02 cells treated with different concentrations of APAP was significantly decreased, and the selected

[收稿日期] 20170930(010)

[基金项目] 江苏省科技支撑计划社会发展项目(BE2009682);苏州市科技计划项目(SYSD2017161)

[第一作者] 蒋志涛, 硕士, 主管药师, 从事中药质量分析及医院药学研究, Tel:0512-56380621, E-mail:253170992@qq.com

[通信作者] *潘金火, 博士, 硕士生导师, 从事中药制剂及质量分析研究, Tel:0512-56380951, E-mail:panjinhuonj@163.com

modeling condition was $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ for 24 h. The MDA content in the supernatant of the model group was increased and the GSH content was decreased, SOD and GSH-Px activity decreased, AST and ALT levels increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). As compared with the model group, the Sedi Herba total flavanones and isorhamnetin could significantly increase the survival rate of APAP-injured cells, decrease the content of MDA, increase the content of GSH, increase the activity of SOD and GSH-Px activity, and lower the release of ALT and AST ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** The Sedi Herba total flavanones and isorhamnetin have a good protective effect on APAP-injured L02 cells.

[**Key words**] Sedi Herba; total flavanones; isorhamnetin; acetaminophen (APAP); L02 cells

垂盆草为景天科植物,有清热解毒、利尿消肿的作用,主要用于治疗急性慢性肝炎^[1]。研究表明,垂盆草中含有至少 10 余种黄酮类成分^[2],笔者的前期研究证明^[3],垂盆草总黄酮是垂盆草中重要的保肝降酶活性部位之一。在众多的垂盆草黄酮类成分中,有学者的研究表明^[4],异鼠李素对过氧化氢引起的 H9C2 细胞的损伤有保护作用,也有学者研究过异鼠李素对大鼠原代肝脏细胞的作用^[5],但没有学者对异鼠李素就人类正常肝脏细胞的保护作用做过研究,也没有学者将垂盆草总黄酮对人类正常肝脏细胞的保护作用与特定的垂盆草黄酮类单体做对比研究。因此在本研究中比较了垂盆草总黄酮、异鼠李素对药物性肝细胞损伤的保护作用。

肝脏是药物代谢的主要场所,近年来药物种类和药物滥用不断增加,药物性肝损伤的发病率也逐年增多,并且可引发脂肪肝、肝癌、爆发性肝功能衰竭,甚至可引发死亡^[6]。对乙酰氨基酚 (acetaminophen, APAP) 又称为扑热息痛,是临床常用的解热镇痛药,多种含 APAP 的药物重复使用或长期服用含 APAP 的药物都可能造成 APAP 过量引发毒性代谢产物大量蓄积而导致严重的急性肝损伤,甚至死亡^[7-8]。目前,有证据证实细胞内氧化应激是 APAP 引起急性肝损伤的重要生物学机制之一^[9-10],服用常规剂量的 APAP,体内 APAP 可经 II 相代谢与体内的葡萄糖醛酸等结合成大分子缀合物而排毒,不会产生毒性代谢产物 *N*-乙酰基-对苯醌亚胺 (NAPQI); 当体内有大量的 APAP 后,体内部分 APAP 在细胞色素 P450 酶作用下生成毒性中间代谢产物 NAPQI,肝内解毒 NAPQI 的 GSH 将被肝内过多的 NAPQI 耗竭,剩余的 NAPQI 与功能蛋白质巯基基团产生共价结合,继而引起严重的氧化应激,最终导致肝细胞破裂坏死^[11-12]。因此,探讨能够有效预防或缓解 APAP 引起的急性肝损伤途径具有积极的临床意义。本研究以细胞活性为考察指标建立了对乙酰氨基酚人肝细胞损伤模型,进而利用该细

胞模型考察了垂盆草总黄酮、异鼠李素的保肝作用并进行比较,为进一步阐明垂盆草保肝作用提供依据,并为垂盆草质量评价提供参考。同时在此项研究的基础上,笔者希望通过后续的体内实验及其他手段,筛选出有效治疗药物性肝损伤的药物。

1 材料

1.1 细胞 人正常肝细胞系 (L02 细胞,批号 20170323) 由中国科学院上海细胞库提供。

1.2 药物与试剂 垂盆草总黄酮 (张家港市中医医院自制,批号 170302,纯度约为 60%); 异鼠李素 (成都曼思特生物科技有限公司,批号 13053007,纯度 $\geq 98\%$); APAP (上海源叶生物科技有限公司,批号 SJ0711GA14,纯度 $\geq 99\%$); 细胞增殖与活性试剂 (CCK-8, 上海威奥生物科技有限公司,批号 1120201808); 超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒,丙二醛 (MDA) 试剂盒,谷胱甘肽 (GSH) 试剂盒,谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 试剂盒,丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 试剂盒,天门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所,批号分别为 20170520, 20170412, 20170220, 20170226, 20170505, 20170506)。

1.3 仪器 311 型二氧化碳培养箱, MicroCL 17R 型高速低温离心机, Multiskan MK3 型酶标仪 (Thermo Fisher Scientific 公司); LWD300-38LT 型倒置光学显微镜 (上海测维光电技术有限公司); SX700 型高压蒸气灭菌器 (日本 Tomy Digital Biology 公司); SW-CJ-2F 型洁净工作台 (苏净集团苏州安泰空气技术有限公司)。

2 方法

2.1 垂盆草总黄酮的制备 取适量垂盆草药材,加 8 倍量的乙醇回流提取 2 次,提取液减压浓缩为 1:1。经石油醚脱脂后,挥干石油醚,调节药液浓度以及 pH。用大孔树脂和聚酰胺联用法,进行上样、洗脱。洗脱液经减压浓缩后,冷冻干燥得垂盆草总黄酮药粉,总黄酮的纯度约为 60%。

2.2 L02 细胞的培养 将 L02 细胞置于含有 10% FBS 和 1% 青、链霉素的 RPMI 1640 培养基中,并在 37 ℃ 5% CO₂ 的培养箱中进行培养。每日换液,48 h 左右传代培养,取对数生长期的细胞进行以下实验。

2.3 L02 细胞损伤模型的制备^[8] 将 L02 细胞以 5 × 10⁵ 个/mL 的密度接种于 96 孔板中,每孔 100 μL。将细胞分为 0 (正常组) 1, 5, 10, 20, 40 mmol·L⁻¹ APAP 组,每组 10 个复孔。待细胞融合度达到 80% ~ 90% 时,吸干培养基,加入含有相应浓度 APAP 的培养基,置于培养箱中培养 24 h 后,各孔加入 CCK-8 试剂 10 μL,2 h 后 450 nm 检测各孔吸光度 A,计算各组 L02 细胞活性。

2.4 垂盆草总黄酮、异鼠李素处理损伤的肝细胞 将 L02 细胞以 5 × 10⁵ 个/mL 的密度接种于 96 孔板,每孔 100 μL。将细胞分为正常组,APAP 模型组,垂盆草总黄酮(0.5, 1, 2 g·L⁻¹)组,异鼠李素(5, 10, 20 μmol·L⁻¹)组,共计 8 组,每组 6 个复孔。置于培养箱中培养 24 h,观察不同浓度的垂盆草总黄酮、异鼠李素对 APAP 致肝细胞损伤的保护情况。

2.5 CCK-8 法检测细胞存活能力 加药刺激或保护后,直接在各个孔内加入 CCK-8 试剂 10 μL,按照说明书要求置于培养箱内培养 30 min 至 4 h,本实验中全部培养 2 h。之后使用酶标仪在 450 nm 的波长下测定各个孔的 A,细胞活性为(药物组 A - 空白孔 A)/(正常组 A - 空白孔 A) × 100%。

2.6 荧光素双醋酸酯(FDA)染色观察细胞形态 加药刺激或保护后,移液器每孔弃去 100 μL 的培养基,各孔加入 10 mg·L⁻¹ 的 FDA/PBS 溶液 100 μL,使 FDA 的终质量浓度为 5 mg·L⁻¹,孵育 10 min,在此过程中,FDA 进入活细胞膜,10 min 后弃去孔中的所有液体,各孔再加入 PBS 缓冲液 200 μL,丢弃 PBS 缓冲液,再次加入 PBS 缓冲液 200 μL,在 488 nm 的激发下发出荧光,荧光显微镜拍照。

2.7 细胞上清中 MDA, GSH, SOD, GSH-Px, AST, ALT 的检测 收集不同组别的细胞上清液,按照 MDA, GSH, SOD, GSH-Px, AST, ALT 检测试剂盒说明书测定各组上清液中的各个指标的含量或活力,各个指标检测所需 A 不同,严格按试剂盒说明书进行实验。

2.8 统计学分析 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析,组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

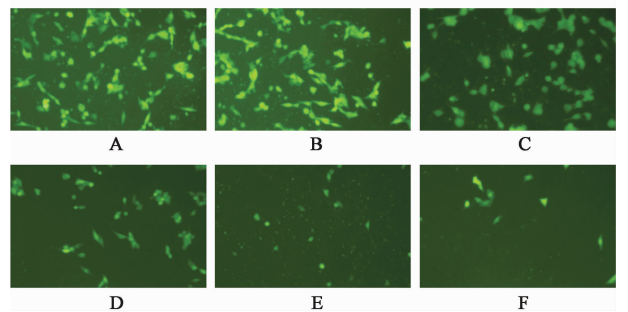
3.1 APAP 对 L02 细胞活性及形态的影响 APAP

处理 24 h 的 L02 细胞,1 mmol·L⁻¹ 浓度组与正常组之间差异无统计学意义;其余各浓度 APAP 损伤组与正常组比较细胞活性明显降低($P < 0.01$),且细胞活性与剂量之间存在量效关系,随着 APAP 浓度的增加,细胞活性降低,具有剂量依赖性(表 1)。观察各组细胞的形态,正常组细胞贴壁良好,结构正常,折光性较强,细胞形态清晰,APAP 组细胞胞体出现皱缩变圆球状、贴壁较不好、细胞个数较正常组变少的现象,同时观察到各组视野中细胞的数目与 CCK-8 测得的活性结果趋势一致,20 mmol·L⁻¹ 及 40 mmol·L⁻¹ 的 APAP 损伤作用太强,活细胞数目太少,而 5 mmol·L⁻¹ 组细胞存活率接近 90%,因此笔者最终选定 10 mmol·L⁻¹ 的 APAP 刺激 L02 细胞,作为模型复制的条件(图 1)。

表 1 不同浓度 APAP 对 L02 细胞活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 1 Effect of different dose of APAP on cell survival rate in L02 cells($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度/mmol·L ⁻¹	细胞存活率/%
正常	-	100.00 ± 5.16
APAP 模型	1	94.76 ± 9.16
	5	87.76 ± 3.92 ¹⁾
	10	62.38 ± 5.69 ¹⁾
	20	28.78 ± 3.33 ¹⁾
	40	9.26 ± 9.52 ¹⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$ 。



A. 正常组; B ~ E. APAP 1, 5, 10, 20, 40 mmol·L⁻¹ 组

图 1 不同浓度 APAP 对 L02 细胞形态的影响(FDA, × 100)

Fig. 1 Effect of different dose of APAP on cytomorphology in L02 cells(FDA, × 100)

3.2 垂盆草总黄酮、异鼠李素对 APAP 损伤肝细胞的保护作用 与正常组比较,APAP 模型组 L02 细胞存活率显著降低($P < 0.01$),细胞存活率与结果 3.1 项接近。说明 APAP 致肝细胞损伤模型复制成功。给予垂盆草总黄酮、异鼠李素后,各组细胞存活率均显著升高($P < 0.01$);说明垂盆草总黄酮、异鼠李素对 APAP 损伤肝细胞均具有保护作用,在设计

的浓度范围内,二者的保护作用相近(表 2)。FDA 活细胞荧光染色观察各组细胞的形态,正常组细胞和 APAP 组细胞状态与 3.1 项一致,给予不用浓度的垂盆草总黄酮、异鼠李素的细胞状态较 APAP 模型组有所改善,细胞胞体大都成纺锤体或梭形,突起较多且明显,贴壁也较好,同时观察到各给药组的细胞数目较模型组增多,各组视野中细胞的数目与 CCK-8 测得的活性结果趋势一致(图 2)。

表 2 垂盆草总黄酮和异鼠李素对损伤肝细胞存活能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of SSTF and isorhamnetin on cell survival rate in injured L02 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	浓度	细胞存活率/%
正常	-	100.00 ± 2.70
APAP 模型	10 mmol·L ⁻¹	67.21 ± 3.39 ¹⁾
垂盆草总黄酮	0.5 g·L ⁻¹	73.06 ± 5.73 ²⁾
	1 g·L ⁻¹	77.10 ± 6.68 ²⁾
	2 g·L ⁻¹	81.24 ± 3.44 ²⁾
异鼠李素	5 μmol·L ⁻¹	73.32 ± 3.20 ²⁾
	10 μmol·L ⁻¹	81.85 ± 5.24 ²⁾
	20 μmol·L ⁻¹	78.22 ± 5.02 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与 APAP 模型组比较²⁾ $P < 0.01$ 。

3.3 垂盆草总黄酮、异鼠李素对损伤肝细胞中 SOD, MDA, GSH, GSH-Px, ALT 和 AST 的影响 与正常组比较,模型组肝细胞上清液中 MDA 含量升高, GSH 含量降低, SOD, GSH-Px 活性降低, AST 和 ALT 含量升高,且差异有显著性($P < 0.01$);在垂盆草总黄酮和异鼠李素孵育后的细胞的上清液中,

表 3 垂盆草总黄酮和异鼠李素对损伤肝细胞上清液中多种酶的活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

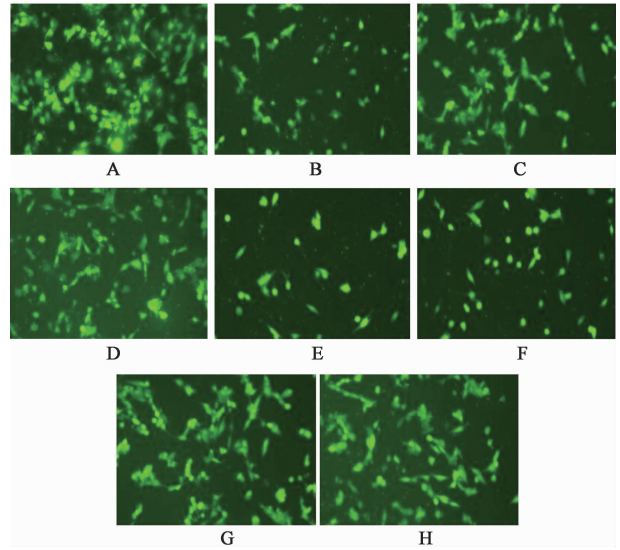
Table 3 Effect of SSTF and isorhamnetin on enzyme activities in cellular supernatant of injured L02 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	浓度	SOD/U·L ⁻¹	MDA/μmol·L ⁻¹	GSH/μmol·L ⁻¹	GSH-Px/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹
正常	-	0.74 ± 0.10	32.57 ± 2.46	11.07 ± 1.36	631.6 ± 32.6	29.68 ± 4.95	17.07 ± 2.92
APAP 模型	10 mmol·L ⁻¹	0.27 ± 0.09 ¹⁾	76.37 ± 5.28 ¹⁾	2.12 ± 0.12 ¹⁾	213.8 ± 46.6 ¹⁾	81.02 ± 10.53 ¹⁾	69.90 ± 10.51 ¹⁾
垂盆草总黄酮	0.5 g·L ⁻¹	0.39 ± 0.06 ²⁾	68.85 ± 4.21 ²⁾	2.04 ± 0.13	387.0 ± 56.4 ³⁾	65.52 ± 10.29 ²⁾	57.58 ± 7.23 ²⁾
	1 g·L ⁻¹	0.48 ± 0.16 ²⁾	57.96 ± 5.07 ³⁾	6.95 ± 1.09 ³⁾	476.1 ± 34.3 ³⁾	52.09 ± 8.69 ³⁾	42.51 ± 7.10 ³⁾
	2 g·L ⁻¹	0.55 ± 0.11 ³⁾	42.74 ± 6.81 ³⁾	9.26 ± 1.69 ³⁾	575.3 ± 40.4 ³⁾	40.26 ± 8.16 ³⁾	36.64 ± 6.98 ³⁾
异鼠李素	5 μmol·L ⁻¹	0.41 ± 0.11 ²⁾	57.17 ± 5.36 ³⁾	2.19 ± 0.41	281.3 ± 103.1 ³⁾	65.87 ± 10.16 ²⁾	56.07 ± 8.47 ²⁾
	10 μmol·L ⁻¹	0.54 ± 0.08 ³⁾	45.13 ± 7.02 ³⁾	4.88 ± 0.96 ³⁾	334.1 ± 76.5 ³⁾	53.64 ± 7.11 ³⁾	44.31 ± 6.72 ³⁾
	20 μmol·L ⁻¹	0.68 ± 0.15 ³⁾	48.94 ± 7.81 ³⁾	7.10 ± 1.10 ³⁾	582.3 ± 43.1 ³⁾	47.70 ± 6.93 ³⁾	29.15 ± 8.19 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

本文应用了不同浓度的 APAP 孵育 L02 细胞 24 h 来制备经典的肝细胞损伤模型。应用 CCK-8 法检测细胞的活性,应用 FDA 活细胞荧光染色法观察细胞的形态和数目,根据结果得到了制备药物性



A. 正常组;B. APAP 模型组;C ~ E. 垂盆草总黄酮 0.5, 1, 2 g·L⁻¹ 组;F ~ H. 异鼠李素 5, 10, 20 μmol·L⁻¹ 组

图 2 垂盆草总黄酮和异鼠李素对损伤肝细胞形态的影响 (FDA, ×100)

Fig. 2 Effect of SSTF and Isorhamnetin on cytomorphology in injured L02 cells (FDA, ×100)

与模型组比较,除垂盆草总黄酮 0.5 g·L⁻¹ 组与异鼠李素 5 μmol·L⁻¹ 组的 GSH 含量无显著变化,其余各组的 MDA 含量降低, GSH 含量升高, SOD, GSH-Px 升高, ALT 和 AST 的水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);所测的指标中,除异鼠李素对 MDA 含量的影响没有显示剂量依赖性外,其余不同剂量的垂盆草总黄酮和异鼠李素对不同酶的活性的影响均呈现明显的剂量依赖性(表 3)。

肝损伤的最佳造模条件为 10 mmol·L⁻¹ APAP 作用于 L02 细胞 24 h。赵慧等^[8]复制了 APAP 致人肝细胞损伤模型,摸索了相应的时间和浓度等条件,选择的最佳条件为 15 mmol·L⁻¹ APAP 作用 12 h。

本研究发现不同浓度的垂盆草总黄酮和异鼠李

素对 APAP 致人肝细胞损伤模型的细胞存活能力有显著的提高作用,同时对肝脏细胞的形态有改善作用,但异鼠李素的这种作用不存在剂量依赖型,垂盆草总黄酮存在剂量依赖性,可能是因为异鼠李素作为单体药物在高浓度时具有较高的细胞毒性^[4]。

许多研究表明,肝损伤时存在 SOD, GSH, GSH-Px, MDA 的变化,在肝细胞损伤时 SOD, GSH, GSH-Px 的含量会减少,而 MDA 含量显著升高^[13-14],因此检测 SOD, MDA, GSH, GSH-Px 可以间接的反应肝细胞的损伤程度。本实验中,模型组细胞上清液中 MDA 含量显著升高, GSH 含量显著降低, SOD 及 GSH-Px 的活性显著降低,应用不同浓度的垂盆草总黄酮和异鼠李素孵育后,细胞上清液中 MDA 含量显著降低, GSH 含量显著升高, SOD 及 GSH-Px 的活性显著升高。同时, ALT 和 AST 是目前最常用的肝功能指标,在肝细胞损伤时会显著升高,其升高的程度与肝细胞受损的程度一致^[15-17]。本实验检测了各组细胞上清中 ALT 和 AST 的水平,模型组 ALT 和 AST 水平显著升高,说明肝脏细胞确实遭受了严重的损伤,而给予不同浓度的垂盆草总黄酮和异鼠李素后, ALT 和 AST 的含量均显著下降。ALT 和 AST 是目前最常用的肝功能指标,在肝细胞损伤时会显著升高,其升高的程度与肝细胞受损的程度一致^[15]。ALT 主要在肝细胞细胞质内, AST 则主要分布在肝细胞细胞质和线粒体内。若仅肝细胞损伤,线粒体仍完整,则仅 ALT 水平上升^[16];若肝细胞线粒体受到严重的破坏, AST 水平则显著升高^[17]。本实验检测了各组细胞上清中 ALT 和 AST 的水平,模型组 ALT 和 AST 水平显著升高,说明肝脏细胞确实遭受了严重的损伤,而给予不同浓度的垂盆草总黄酮和异鼠李素后, ALT 和 AST 的含量均显著下降。

综上所述,垂盆草总黄酮、异鼠李素对 APAP 致人肝细胞的损伤具有保护作用,体现在提高细胞活性,改善受损细胞形态,降低损伤细胞上清液中 MDA 含量,提高 GSH 含量,提高 SOD, GSH-Px 活性,降低 ALT 和 AST 的释放量。在治疗药物性肝损伤相关药物的开发与研究中具有重要的参考价值,但具体的治疗机制和更为详细的药物筛选还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 林远灿, 骆海莺, 金乾兴. 垂盆草总黄酮影响肝星状细胞凋亡的作用机制研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(16): 3273-3277.

[2] 邵成雷. 垂盆草化学成分及其药理临床研究[D]. 济南: 山东大学, 2006.

[3] 潘金火, 潘萍. 垂盆草总黄酮的保肝降酶作用及其化学成分的鉴别研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(8): 1930-1934.

[4] 董曦, 孙桂波, 罗云, 等. 异鼠李素对 H₂O₂ 引起的 H9C2 细胞氧化应激损伤的保护作用研究[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(6): 853-860.

[5] 梁容佳, 陈俊秀, 只德贤, 等. 异鼠李素对人肝微粒体 CYPs 活性及大鼠原代肝细胞毒性作用研究[J]. 药物评价研究, 2017, 40(5): 627-632.

[6] AN H R, WU X Q. Antituberculosis drugs and hepatotoxicity [J]. Chin J Antibiotics, 2010, 35(10): 727-733.

[7] 陈军宝, 徐智, 覃小艳, 等. 扑热息痛肝损伤机制的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(20): 3479-3480.

[8] 赵慧, 吕佳, 曹燕妮, 等. 甘草酸铵对乙酰氨基酚致人肝细胞损伤的保护作用研究[J]. 中南药学, 2017, 15(3): 301-304.

[9] 贺兰芝, 孟雅坤, 韩延忠, 等. 木犀草素对乙酰氨基酚诱导的 L02 肝细胞损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(22): 4234-4239.

[10] 魏鹏, 刘伟霞, 贾凤兰, 等. 8-甲氧补骨脂素对乙酰氨基酚致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(8): 682-686.

[11] Jaeschke H, Mc Gill M R, Ramachandran A. Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity [J]. Drug Metab Rev, 2012, 44(1): 88-106.

[12] 刘霞飞, 吴骁, 杨方秀, 等. 正柴胡饮对乙酰氨基酚所致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2017, 31(1): 101-111.

[13] 鲁合军. 垂盆草水煎液对 4 种肝损伤模型小鼠的保肝作用[J]. 中医学报, 2017, 32(3): 409-414.

[14] 王君明, 崔瑛, 王峥涛, 等. 超氧化物歧化酶参与肝损伤的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 265-269.

[15] 王英, 贾杰. AST/ALT 比值在各种肝病中的变化和意义[J]. 中国热带医学, 2001, 1(3): 222-223.

[16] Hsiao G, LIN Y H, LIN C H, et al. The protective effects of PMC against chronic carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity *in vivo* [J]. Biol Pharm Bull, 2001, 24(11): 1271-1276.

[17] JIN S, DAI C, YANG Y, et al. Effect of hepatic blood inflow occlusion without hemihepatic artery control on apoptosis of liver cells in rats [J]. Hepato Gastroenterol, 2010, 57(97): 35-40.

[责任编辑 邹晓翠]