

· 中药工业 ·

芪丹方主成分抑制肝星状细胞增殖及最佳配伍剂量[△]董人华¹, 徐焕焕¹, 王秀丽^{1*}, 李耿^{2*}, 曲舒显¹

1. 北京中医药大学, 北京 100102;

2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193

[摘要] 目的: 对芪丹方中的主成分丹酚酸 B (Sal B)、丹参酮 II_A (TSN)、白藜芦醇 (Res)、黄芪甲苷 (AsA) 和甘草次酸 (GA) 进行配伍研究, 以确定芪丹方最佳有效成分之间的配伍比例。方法: 采用甲基噻唑基二苯基四唑溴化铵 (MTT) 法观察不同药物对肝星状细胞 (HSC) 增殖的抑制作用, 单因素法筛选抗肝纤维化的最佳浓度; 在单因素试验的基础上, 采用响应面法筛选抗肝纤维化的处方。结果: 确定最佳配伍为 TSN: Sal B: AsA=5.57: 5.96: 5.55 (摩尔比), 对 HSC 增殖的抑制率可达 97.45%; 各组分单独给药则显示 Sal B、TSN、AsA 和 GA 对 HSC 增殖的抑制能力较强, Res 的抑制能力较弱, 且 TSN、Sal B 和 AsA 的浓度与抑制率有较大的联系; TSN 的抑制效果最好, 抑制率为 24.19%。结论: Sal B、TSN、Res、AsA 和 GA 单独给药均可抑制 HSC 的增殖, 并呈浓度依赖性。联合用药时, TSN、Sal B 和 AsA 对 HSC 增殖的抑制作用明显增强。

[关键词] 肝星状细胞; 芪丹方; 丹酚酸 B; 丹参酮 II_A; 甲基噻唑基二苯基四唑溴化铵法; 响应面法

[中图分类号] R286 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2023)04-0859-08

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20220919003

Inhibition of Hepatic Stellate Cell Proliferation by the Principle Components of Qidan Prescription and the Optimal Compatible Dose

DONG Ren-hua¹, XU Huan-huan¹, WANG Xiu-li^{1*}, LI Geng^{2*}, QU Shu-xian¹

1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

[Abstract] **Objective:** Qidan Prescription is a prescription for the treatment of liver fibrosis. The compatibility of salvianolic acid B (Sal B), tanshinone II_A (TSN), resveratrol (Res), astragaloside IV (AsA) and glycyrrhetic acid (GA) in Qidan Prescription was studied to determine the compatibility of the optimal effective components of Qidan Prescription. **Methods:** MTT method was used to observe the inhibitory effect of different drugs on the proliferation of hepatic stellate cells (HSCs), and the concentration of antihepatic fibrosis was screened by single factor method. On the basis of single factor experiment, the prescription of antihepatic fibrosis was screened by response surface methodology. **Results:** The optimal prescription was determined as TSN:Sal B:AsA=5.57:5.96:5.55 (mole ratio), with the inhibition rate of HSC proliferation up to 97.45%. The administration of each component alone unveiled potent inhibition of HSC proliferation by Sal B, TSN, AsA and GA and weak inhibition by Res. Moreover, the concentrations of TSN, Sal B and AsA were significantly correlated with the inhibition rates. TSN exhibited the best inhibitory effect with the inhibition rate of 24.19%. **Conclusion:** Administration of Sal B, TSN, Res, AsA and GA alone all inhibited the proliferation of HSCs in a concentration dependent manner. The inhibitory effect on the proliferation of HSC was significantly increased by combined drug administration, especially by TSN, Sal B and AsA.

[Keywords] hepatic stellate cells; Qidan Prescription; salvianolic acid B; tanshinone II_A; MTT assay; response surface methodology

[△] [基金项目] 国家自然科学基金项目 (81202928)

* [通信作者] 王秀丽, 副研究员, 研究方向: 药物新型给药系统; E-mail: Lnwangxiuli@163.com

李耿, 副主任药师, 研究方向: 中药质量信息化、中药产业及政策战略研究; E-mail: 13810507641@163.com

肝纤维化与肝脏的慢性炎症反应密切相关,是多数慢性肝病发展为肝硬化共同的必经病理阶段。现代研究表明,肝纤维化是由于肝胶原和其他细胞外基质(ECM)的增殖和降解处于失衡状态,导致肝脏纤维结缔组织异常沉积的可逆病理过程。ECM的分子来源包括肝星状细胞(HSC)、骨髓前体细胞和门脉肌成纤维细胞。HSC是肝纤维化过程中产生ECM的主要细胞,多种细胞因子可激活HSC,促进ECM的合成、分泌和沉积,导致肝纤维化的形成^[1-4]。因此,抗肝纤维化的中心环节是抑制HSC的活化及抑制活化HSC的增殖。

芪丹方由丹参、黄芪、甘草、虎杖组成,是临床治疗肝纤维化的有效药物。其主要有效成分为丹酚酸B(Sal B)、丹参酮Ⅱ_A(TSN)、黄芪甲苷(AsA)、甘草次酸(GA)和白藜芦醇(Res),据文献报道,这些有效成分均能抑制HSC的增殖。TSN是丹参中的脂溶性活性成分,覃筱燕等^[5]研究了TSN对抗CCl₄诱导大鼠肝纤维化,结果表明TSN可降低大鼠血清中透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)和羟脯氨酸(Hyp)的含量,减轻肝纤维化的病理损伤,降低肝脏转化生长因子(TGF)- β_1 和 α -平滑肌肌动蛋白(SMA)的表达;Sal B是丹参的水溶性活性成分,体外实验表明,其能抑制HSC的增殖和胶原生成,抑制TGF- β_1 的自分泌,抑制丝裂原活化蛋白激酶(MARK)活性及细胞外调节蛋白激酶(ERK)信号,减少HSC中I型胶原的合成和分泌^[6-7];张其胜等^[8]使用GA治疗肝纤维化,结果显示,患者服用GA后,肝脏中的胶原沉积显著减少,I型胶原和 α -SMA mRNA的表达显著降低;Res是一种直接抑制炎症反应的炎症抑制因子,在肝损伤过程中,其可以逆转由肿瘤坏死因子(TNF)- α 、纤溶酶原激活物抑制剂(PAL)-1和动脉粥样硬化因子诱导的白细胞介素(IL)-6的分泌,抑制炎症反应,改善损伤程度^[9-10]。此外,Res可抑制核转录因子(NF)- κ B的表达,发挥抗炎作用^[11];AsA可抑制纤维组织增生和肝组织纤维化,并降低肝组织中TGF- β 和Smad-3蛋白的表达,提示AsA可能通过调节TGF- β 和Smad-3蛋白来改善肝损伤^[12]。

本研究比较Sal B、TSN、Res、AsA和GA在不同配伍比例下对肝纤维化的治疗作用,从处方中筛选出各有效成分的最佳配伍比例,以期简化处方、提高药效,为开发新药提供参考。

1 材料

1.1 仪器

MCO-18AIC型(UV)CO₂细胞培养箱、高压灭菌器(日本SANYO公司);3-18K Sartorius型离心机(德国Sigma-Aldrich公司);ECLIPSE TS10型显微镜(日本尼康公司);KS4000ic型控温摇床(德国IKA公司);SpectraMax M2型酶标仪(美国Molecular Devices公司);KQ5200型超声波仪(昆山超声波仪器有限公司);Barnstead GenPure Pro型超纯水系统(美国Thermo Fisher公司)。

1.2 试剂

HSC(北京望京医院病理科);DMEM(含4.5 g·L⁻¹葡萄糖、L-谷氨酰胺和丙酮酸钠,美国康宁生命科学公司,批号:10013649R);胎牛血清(FBS,批号:41Q470K)、胰蛋白酶(批号:25200056)均购自美国Gibco公司;磷酸盐缓冲液(PBS,美国Lyclone公司,批号:NAB1338);甲基噻唑基二苯基四唑溴化铵(MTT,碧云天生物科技有限公司,批号:ST315);二甲基亚砜(DMSO,德国Sigma-Aldrich公司,批号:037K07662);乙二胺四乙酸(EDTA,北京经科宏达生物技术有限公司);CuSO₄(批号:F20110301)、Na₂HPO₄·12H₂O、KH₂PO₄(批号:D0060421)均购自北京化学试剂有限公司;氯化钠(批号:20110418)、氯化钾(批号:20110126)均购自中国国药集团化学试剂有限公司;GA(批号:111215,纯度>98%)、TSN(批号:120428,纯度>98%)、Sal B(批号:12020104,纯度>98%)、AsA(批号:130126,纯度>98%)、Res(批号:130213,纯度>98%)均购自中国宝鸡市国康生物科技有限公司。

2 方法

2.1 细胞培养

将HSC细胞系置于含10% FBS的高糖DMEM完全培养基中,在37℃,5% CO₂的湿空气中培养。细胞贴壁生长后24 h内传代,待细胞稳定生长融合达到80%时,用胰蛋白酶消化后按浓度接种至培养板。

2.2 MTT测定

取处于对数生长期的HSC细胞制成单细胞悬液,

按 5×10^3 个/mL的密度接种于96孔板中,并在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 下培养24 h。去除上清液后,加入不含FBS的DMEM培养24 h。每孔加入液体(Sal B、TSN、Res、AsA和GA)200 μL 后,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下培养48 h。用PBS洗涤细胞2次,每个孔中添加MTT 200 μL (MTT:DMEM=1:10),在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下培养。培养4 h后,去除上清液,加入DMSO 150 μL ,在560 nm处检测吸光度值(A)。按公式(1)计算增殖抑制率(PI)。

$$\text{PI} = 1 - (A_2 - A_0) / (A_1 - A_0) \quad (1)$$

式中 A_0 为空白组吸光度值, A_1 为对照组吸光度值, A_2 为药物组吸光度值。

2.3 响应面法设计

采用响应面法研究4个变量对增殖抑制的影响,对TSN浓度(A)、Sal B浓度(B)、GA浓度(C)、AsA浓度(D)进行了优化(表1)。

表1 Box-Behnken 响应面法优化芪丹方中4个主成分抑制HSC增殖试验设计因素与水平

水平	A	B	C	D
-1	0	0	0	0
0	5	5	5	5
1	10	10	10	10

2.4 统计分析

采用Design-Expert 8.0.6对实验结果进行分析。除另说明外,所有实验均重复3次。

3 结果

3.1 MTT法测定给药浓度

采用MTT法研究了TSN、Sal B、Res、AsA和GA在不同浓度下对HSC增殖的抑制作用。结果见表3~表6、图1。

表2 TSN不同给药浓度抑制HSC增殖的结果($n=3$)

组别	测量 A	实际 A	PI/%
对照组	0.703 8	0.567 3	
5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TSN组	0.646 9	0.510 4	10.04
10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TSN组	0.566 6	0.430 1	24.19
15 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TSN组	0.427 7	0.291 2	48.68
20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TSN组	0.421 0	0.284 5	49.85
25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TSN组	0.348 5	0.212 0	62.64
空白组	0.136 5		

表3 Sal B不同给药浓度抑制HSC增殖的结果($n=3$)

组别	测量 A	实际 A	PI/%
对照组	0.666 5	0.543 2	
10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Sal B组	0.551 9	0.470 6	21.10
20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Sal B组	0.399 4	0.394 5	49.16
30 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Sal B组	0.202 8	0.104 7	85.36
40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Sal B组	0.127 2	0.004 1	99.29
50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Sal B组	0.121 2	0.000 9	100.38
空白组	0.123 3		

表4 GA不同给药浓度抑制HSC增殖的结果($n=3$)

组别	测量 A	实际 A	PI/%
对照组	0.527 8	0.387 4	
5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ GA组	0.501 8	0.361 4	6.70
10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ GA组	0.470 8	0.330 4	14.70
15 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ GA组	0.404 8	0.264 4	31.75
20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ GA组	0.364 5	0.224 1	42.16
40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ GA组	0.218 7	0.078 3	79.80
空白组	0.140 4		

表5 AsA不同给药浓度抑制HSC增殖的结果($n=3$)

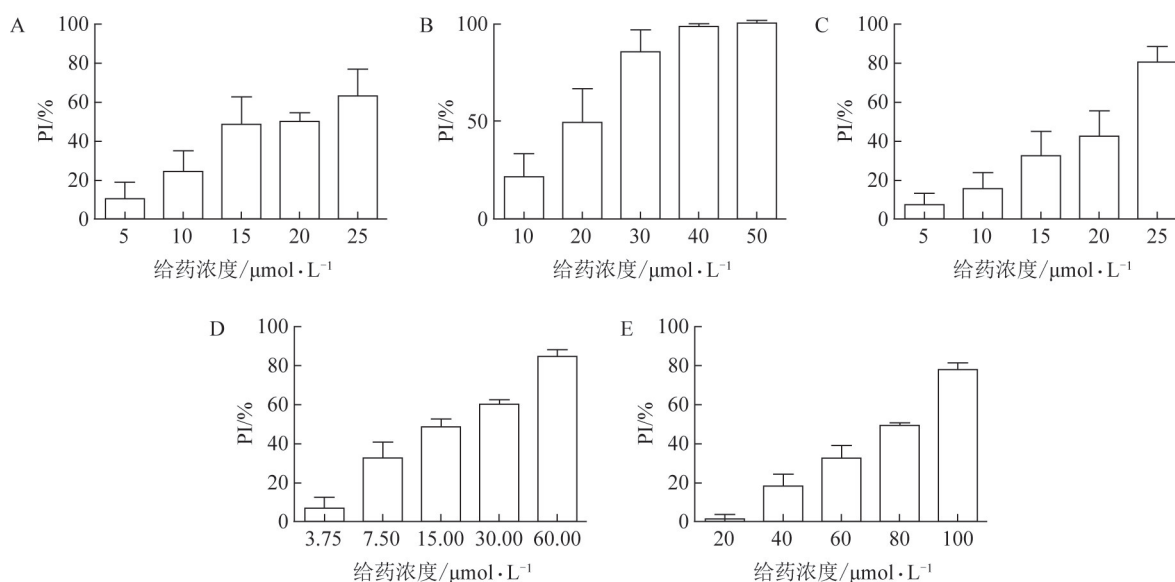
组别	测量 A	实际 A	PI/%
对照组	0.544 0	0.408 9	
3.75 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AsA组	0.513 4	0.378 2	7.50
7.50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AsA组	0.480 7	0.345 5	15.50
15.00 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AsA组	0.399 2	0.264 1	35.42
30.00 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AsA组	0.298 2	0.163 1	60.12
60.00 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AsA组	0.198 9	0.063 8	84.40
空白组	0.135 1		

表6 Res不同给药浓度抑制HSC增殖的结果($n=3$)

组别	测量 A	实际 A	PI/%
对照组	0.576 2	0.463 6	
20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Res组	0.573 0	0.460 4	0.69
40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Res组	0.494 2	0.381 6	17.68
60 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Res组	0.428 3	0.315 7	31.90
80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Res组	0.347 9	0.235 3	49.26
100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Res组	0.218 8	0.106 2	77.09
空白组	0.112 6		

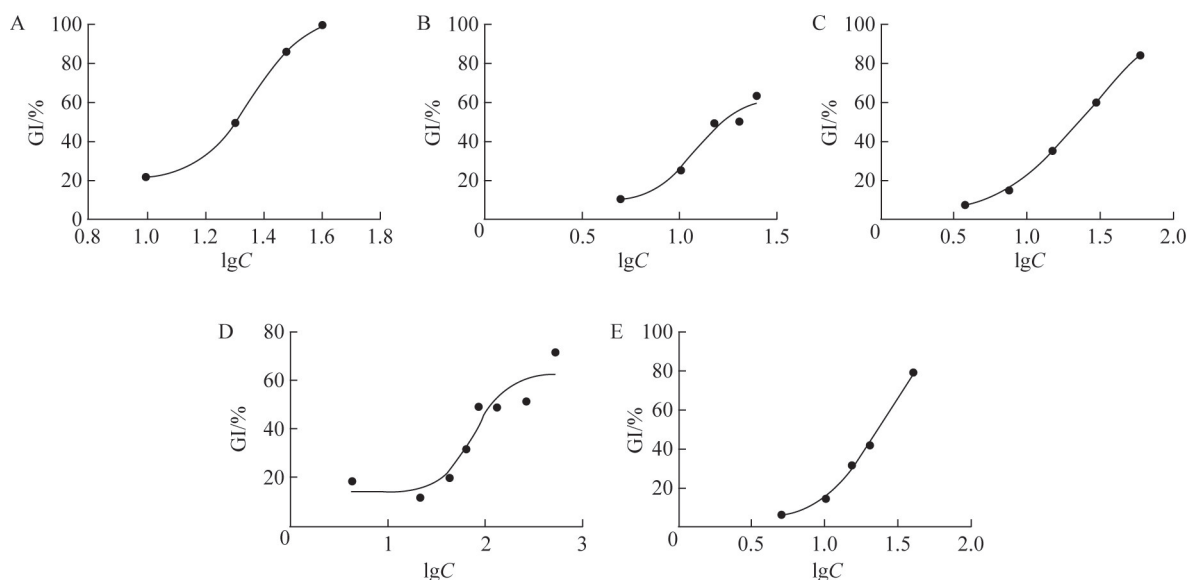
从表2~表6、图1可以看出,TSN、Sal B、Res、AsA和GA均能抑制HSC的增殖,且浓度和抑制率存在相关性。

半抑制浓度为药物对细胞增殖的抑制效果达到细胞正常增殖水平50%时的给药浓度,该值可反映药物对HSC增殖的抑制作用,半抑制浓度越低药物抑制细胞增殖的作用就越强。使用GraphPad Prism 5软件绘制对数浓度与GI之间的关系(图2)。



注：A~E分别为TSN、Sal B、GA、AsA、Res。

图1 不同给药浓度芪丹方主成分与HSC的PI柱状关系图 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)



注：GI为HSC的生长抑制率；A~E分别为Sal B、TSN、AsA、GA、Res。

图2 芪丹方5种主成分给药浓度对数和HSC生长抑制率的曲线关系图

从图2中可以看出，TSN的半抑制浓度为 $12.30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，Sal B的半抑制浓度为 $22.68 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，其浓度>TSN，表明Sal B的抑制作用弱于TSN。GA的半抑制浓度为 $25.56 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，AsA为 $26.20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，Res为 $86.50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

从以上结果可以看出，TSN的抑制作用最强，其次是Sal B、GA、AsA，Res抑制作用最弱，且半抑制浓度过高，不具备实际应用的价值。因此，对Sal B、TSN、AsA和GA进行了响应面试验。

3.2 Box-Behnken响应面试验结果

根据Box-Behnken法设计方案进行试验，测定A、B、C、D这4个变量对HSC增殖抑制的影响，计算综合评分，响应试验结果见表7。

3.3 拟合响应面模型

根据表7的结果，进行回归分析。回归方程为

$$Y = 16.27867A + 10.66346B + 0.87147C + 8.09621D - 0.18468AC - 0.29024CD - 1.10845A^2 - 0.52263B^2 + 0.33291C^2 - 0.37640D^2 - 36.53577$$
 ($r =$

表7 Box-Behnken响应面法优化芪丹方中4个主成分抑制HSC增殖试验设计与结果

序号	A/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	B/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	C/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	D/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	PI/%
1	0	0	10	10	23.63
2	10	5	5	10	99.89
3	0	10	10	5	82.01
4	0	0	10	0	8.34
5	0	5	5	5	28.42
6	5	5	0	5	58.49
7	10	5	10	0	73.76
8	10	0	0	0	18.89
9	5	5	0	5	83.69
10	0	0	0	5	4.42
11	0	5	5	5	30.42
12	10	10	0	5	99.74
13	5	5	5	5	79.56
14	5	10	5	0	80.00
15	0	10	0	10	64.38
16	5	0	5	5	40.68
17	5	5	10	10	99.62
18	0	10	10	5	72.26
19	5	10	5	0	79.62
20	5	0	5	5	41.87
21	10	0	10	5	60.80
22	10	0	0	10	48.83
23	0	10	0	0	12.61
24	5	5	5	5	78.69
25	10	10	10	10	100.00

0.957 2)。回归方程具有显著性和代表性。

通过拟合方程可得, TSN、Sal B和AsA的浓度对HSC的PI有很大影响, 而GA的浓度在联合配伍中几乎无影响, 可忽略。从结果可知, 给药浓度为 $10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 对HSC增殖抑制作用最强的TSN的抑制率仅为24.19%, 而联合用药后对HSC增殖的抑制作用显著增强。

3.4 响应面法优化的配伍结果

如图3、图4所示, 同时给予TSN和Sal B时对HSC增殖的抑制率最高。

根据上述分析, 采用软件优化得到的最佳处方为TSN: Sal B: AsA=5.57: 5.96: 5.55(摩尔比), 细胞PI为97.45%。

4 讨论

4.1 助溶剂的选择

在MTT法中, 研究了5种药物的溶出性。Sal B

具有水溶性, 可被培养基溶解。TSN、Res、GA和AsA是亲脂性成分, DMEM在细胞培养中难以溶解。因此, 有必要添加助溶剂来帮助溶解。脂溶性溶剂有很多种, 常用的有乙醇、聚山梨酯-80和DMSO^[13]。乙醇可以在较高浓度下溶解药物, 但细胞毒性很强、易挥发、容易导致药物沉淀; 聚山梨酯-80是一种非离子表面活性剂, 可与细胞膜相互作用并协助药物扩散, 但在低浓度下可损伤细胞。有研究者还使用羧甲基纤维素、乙酸乙酯, 但效果不佳^[14]。DMSO能溶解多种药物, 具有双极性、低细胞毒性、与细胞膜亲和力高的特点, 并能协助药物穿透细胞膜, 在细胞内迅速均匀分布^[15]。在本研究中, DMSO对TSN和AsA的溶解度明显优于其他2组溶剂, 且对GA和Res的溶解度良好, 因此选择DMSO作为助溶剂。

研究表明, 体积分数>0.5%的DMSO会引起细胞毒性, 而低浓度的DMSO作为脂溶性药物的溶剂是安全可行的^[16]。因此, 笔者研究了DMSO在4种药物中的溶解度。结果表明DMSO对GA和Res的溶解较好, DMSO 20 μL 可完全溶解GA 1 mg, DMSO 40 μL 可完全溶解1 mg Res; TSN和AsA不易溶解, 可采用超声波法溶解。

4.2 复方中药配伍应用的优势

联合治疗是指同时使用2种或2种以上的药物, 协同作用是指联合用药后, 治疗效果提高, 不良反应减弱或消除。联合治疗可以降低耐药的可能性, 提高药物的抗菌活性, 降低毒性, 扩大治疗范围。中药配伍可以充分发挥药物的相互作用, 最大限度地发挥疗效。例如, 六神丸中麝香、牛黄和蟾蜍单独抗炎的作用很小, 很难治愈患者, 但若将3种中药制成六神丸, 可最大化发挥抗炎作用^[17]。在张仲景的五苓散中, 苍术、茯苓、泽泻的利尿作用较差, 三药合用效果不显著。但加入桂枝后, 利尿效果明显改善, 说明中药配伍的重要性^[18]。

中药复方体系的疗效是天然药物中单体化合物协同多靶点作用的结果, 这不仅仅是药物单靶点作用的叠加, 更是药物组合形成的交互正负反馈信号放大和减弱的协同效应。中医认为, 有效药物的合理配伍可达到最佳的疗效, 并可减小不良反应。许多严重疾病, 如癌症, 其病因复杂, 属于多靶点疾病。多靶点联合用药比单靶点用药更容易达到治疗目的, 药物组合可以产生多层次的相互作用, 最终

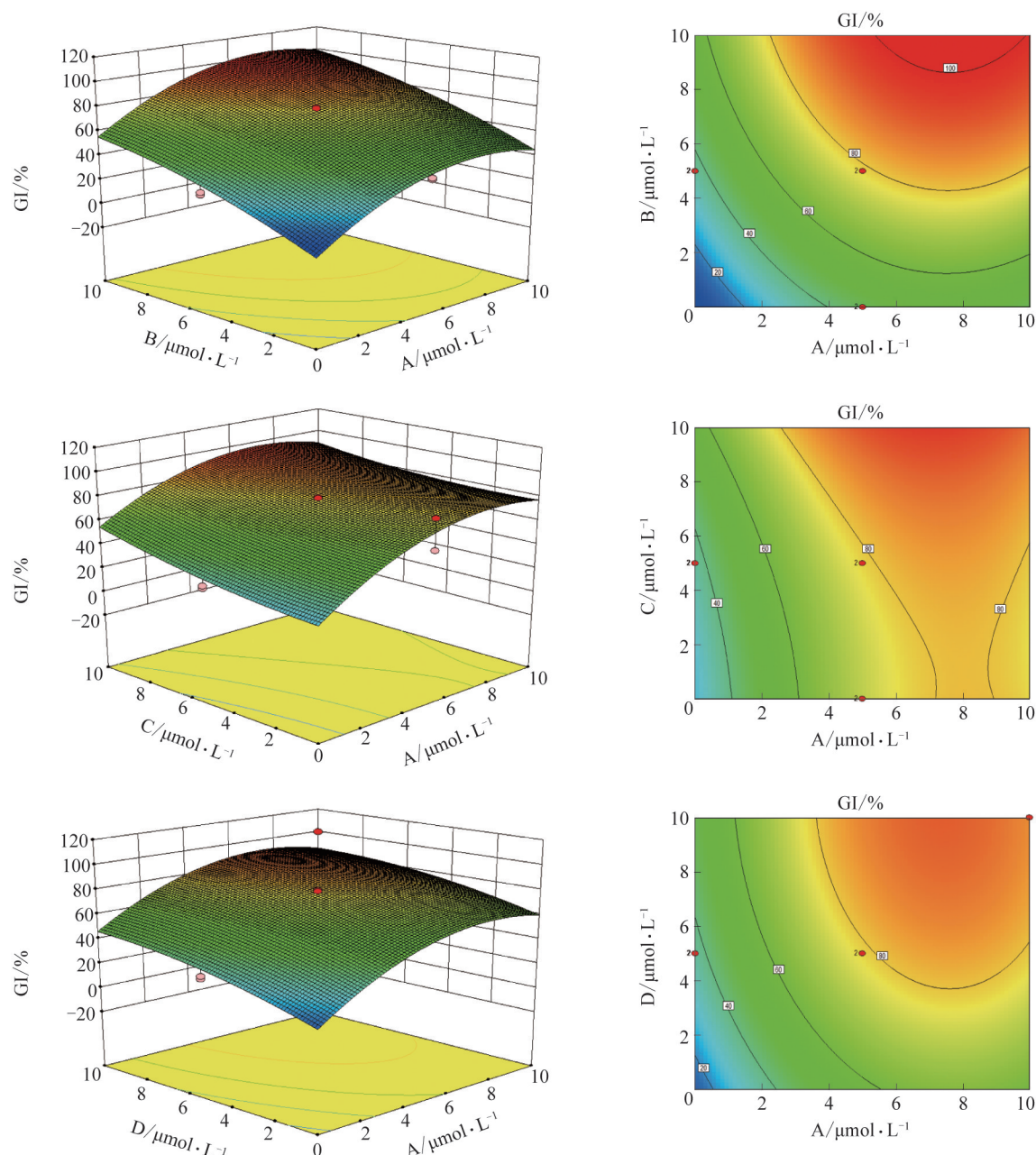


图3 AB、AC、AD对HSC的GI影响响应面和等高线图

表现出协同、相加或拮抗作用。多药联合的动机,如疾病的治疗需要针对多个环节或目标,患者常患多种疾病,除病因治疗外,还需对症治疗;药物的适应证和治疗窗口有限,具有不同性质和不同程度的不良反应。因此,联合用药的目的是获得最大的治疗效果,并尽量减少不良反应。对于恶性肿瘤、传染病、心脑血管疾病等严重疾病的治疗,联合用药的疗效非常显著。从解决问题的可行性和实际效果来看,联合用药或复方新药的开发可为疾病治疗和新药开发开辟更广阔的道路。

5 结论

综上,本研究证实芪丹方中的主要有效成分Sal B、TSN、AsA、GA和Res均可抑制肝HSC的增殖,并呈浓度依赖性。联合配伍用药时,特别是TSN、Sal B和AsA的联用可明显增强对HSC增殖的抑制作用。同时,只有选择合适的配伍剂量,才能达到抑制HSC增殖的最优药效作用。最终筛选出的芪丹方主要有效成分的最佳配伍比例可为芪丹方中成分的配伍、提取及药效的应用等提供参考。

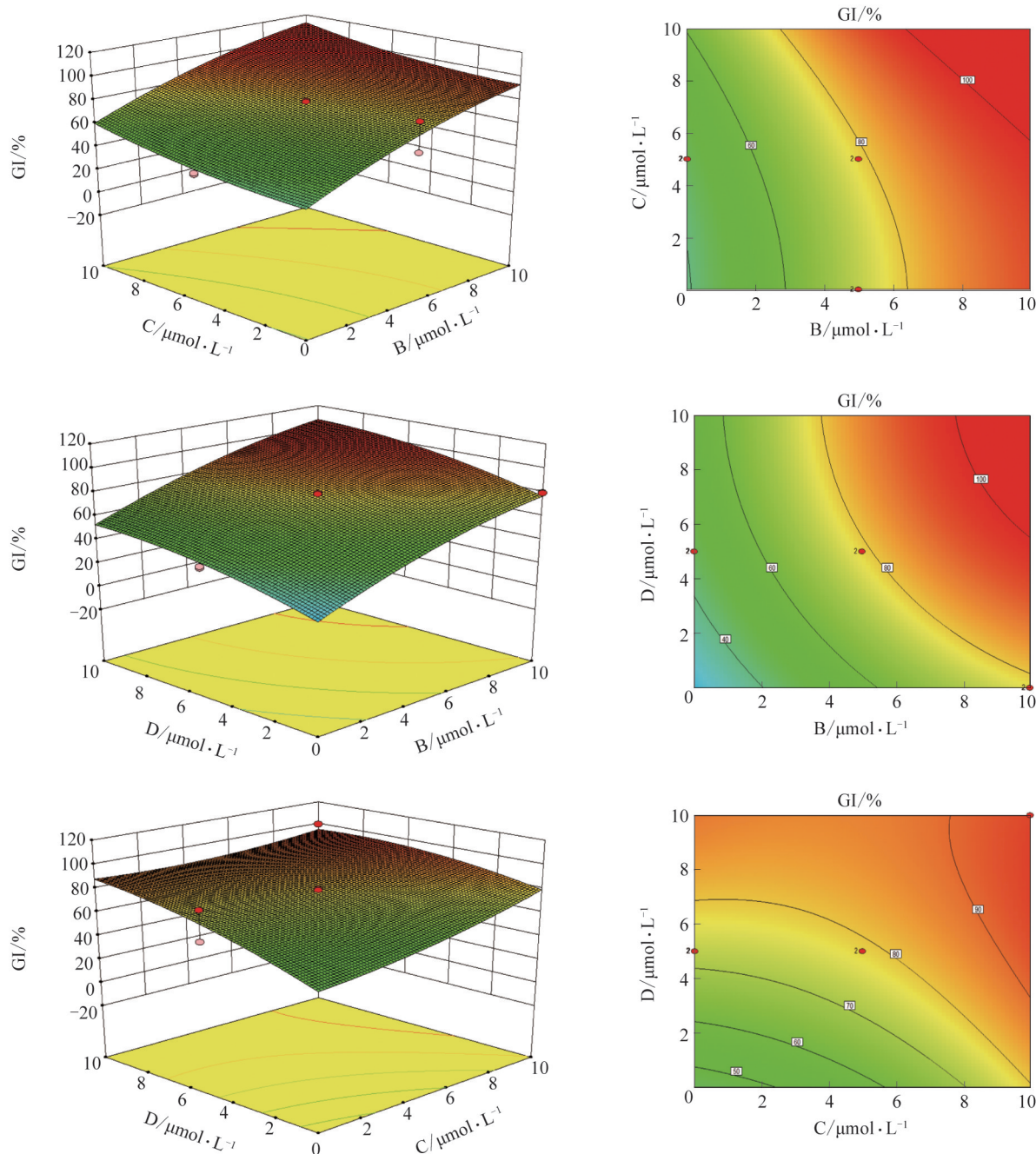


图4 BC、BD、CD对HSC的GI影响响应面和等高线图

参考文献

- [1] DRANOFF J A, WELLS R G. Portal fibroblasts: Underappreciated mediators of biliary fibrosis [J]. Hepatology, 2010, 51(4): 1438-1444.
- [2] NOVO E, BUSLETTA C, DI BONZO L V, et al. Intracellular reactive oxygen species are required for directional migration of resident and bone marrow-derived hepatic pro-fibrogenic cells [J]. J Hepatol, 2011, 54(5): 964-974.
- [3] KISSELEVA T, UCHINAMI H, FEIRT N, et al. Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis [J]. J Hepatol, 2006, 45(3): 429-438.
- [4] ZEISBERG M, YANG C Q, MARTINO M, et al. Fibroblasts derive from hepatocytes in liver fibrosis via epithelial to mesenchymal transition [J]. J Biol Chem, 2007, 282(32): 23337-23347.
- [5] 覃筱燕, 严莉, 唐丽, 等. 丹参酮Ⅱ_A抗慢性肝纤维化大鼠作用及部分机制研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(增1): 219-222.

- [6] 刘成,赵俊芳,刘成海,等. 丹酚酸B对转化生长因子 β_1 促肝星状细胞分泌胶原的影响[J]. 肝脏,2003,8(3):20-22.
- [7] 薛冬英,洪嘉禾,徐列明. 丹参酚酸B对大鼠肝星状细胞中丝裂原激活的蛋白激酶通路的抑制作用[J]. 中华肝脏病杂志,2004(8):471-474.
- [8] 张其胜,JOHN M L,张健,等. 甘草次酸靶向肝星状细胞治疗肝纤维化的体内研究[J]. 中华肝脏病杂志,2005(9):664-667.
- [9] KOWALSKI J, SAMOJEDNY A, PAUL M, et al. Effect of apigenin, kaempferol and resveratrol on the expression of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α genes in J774. 2 macrophages[J]. Pharmacol Rep, 2005, 57(3): 390-394.
- [10] AHN J, LEE H, KIM S, et al. Resveratrol inhibits TNF- α -induced changes of adipokines in 3T3-L1 adipocytes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 364(4): 972-977.
- [11] EL-MOWAFY A M, ABOU-ZEID L A, EDAFIOGHO I. Recognition of resveratrol by the human estrogen receptor- α : A molecular modeling approach to understand its biological actions[J]. Med Princ Pract, 2002, 11(2):86-92.
- [12] 蒋园,白云,刘萍,等. 黄芪甲苷对CCl₄所致小鼠肝损伤的影响[J]. 中药药理与临床,2015,31(6):24-27.
- [13] MÜLLER R H, RÜHL D, RUNGE S, et al. Cytotoxicity of solid lipid nanoparticles as a function of the lipid matrix and the surfactant[J]. Pharm Res, 1997, 14(4): 458-462.
- [14] HENNI-SILHADI W, DEYME M, BOISSONNADE M M, et al. Enhancement of the solubility and efficacy of poorly water-soluble drugs by hydrophobically-modified polysaccharide derivatives [J]. Pharm Res, 2007, 24(12):2317-2326.
- [15] MELKONYAN H, SORG C, KLEMPT M. Electroporation efficiency in mammalian cells is increased by dimethyl sulfoxide (DMSO) [J]. Nucleic Acids Res, 1996, 24(21):4356-4357.
- [16] 吴迪,巴哈尔古丽·卡哈尔,吴桂荣,等. 溶媒二甲基亚砷对细胞生长与活力的影响研究[J]. 新疆医科大学学报,2010,33(5):489-491.
- [17] 鲁红伟,刘轲. 中医解毒降浊法治疗缺血性脑卒中的实验研究进展[J]. 时珍国医国药,2011,22(12):2982-2985.
- [18] 王路坤. 中药配伍与辨证用药体会[J]. 中西医结合心血管病电子杂志,2016,4(11):135-136.

(收稿日期: 2022-09-19 编辑: 王笑辉)