

枳椇 4 种成分对人肝细胞 HL7702 脂肪变性的抑制作用

杜瑞雪^{1,2}, 汪锐¹, 李善姬¹

(1. 吉林医药学院公共卫生学院, 吉林吉林 132013) (2. 延边大学医学院, 吉林延吉 133002)

摘要: 为了筛检出枳椇中解酒保肝的有效成分, 本文探讨了枳椇乙酸乙酯萃取物中的 4 种成分对肝细胞脂肪变性的影响。采用 MTT 法分析对照组、模型组和四种活性物高中低剂量组的细胞活性, 并通过分析乙醇造模后油红 O 染色观察细胞内的脂滴情况, 检测细胞 TG 以及肝酶 ALT、AST 的含量。通过 MTT 检测乙醇诱导细胞的最佳浓度发现, 与对照组相比, 0.9% 乙醇造模 48 h 后的细胞存活率下降, 油红 O 观察乙醇造模后细胞内的脂滴情况更加明显, 而且细胞肿胀变圆; 四种活性物干预乙醇造模细胞后, 与模型组相比, 二氢杨梅素和槲皮素干预后, 细胞的存活率略有提高; 与对照组相比, 模型组 TG 含量以及肝酶 ALT、AST 的泄漏量显著 ($p < 0.05$) 升高。另外, 与模型组相比, 0.9% 乙醇加二氢杨梅素或槲皮素共同作用正常人 HL7702 肝细胞 48 h 后, 其 TG 以及肝酶 ALT、AST 的含量显著 ($p < 0.05$) 下降。可见, 初步确证枳椇乙酸乙酯层中具有解酒保肝作用的有效成分主要为二氢杨梅素和槲皮素, 特别是前者。

关键词: 枳椇; 保肝; 二氢杨梅素; 槲皮素

文章编号: 1673-9078(2018)11-41-45

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.11.007

Inhibition of Ethanol-induced Hepatic Steatosis in Human HL7702 Liver Cells by Four Constituents Isolated from *Hovenia Acerba*

DU Rui-xue^{1,2}, WANG Rui¹, LI Shan-ji¹

(1. Jilin Medical College School of Public Health, Jilin 132013, China) (2. Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: To discover the effective substances in *Hovenia acerba* capable of dispelling the effects of alcohol and protecting the liver, this study examined the effects of four constituents in the ethyl acetate extract from *Hovenia acerba* on hepatic steatosis. The cells metabolic activity/viability of the control group, model group, or high-/medium-/low-dose group of the four bioactives was measured by the MTT assay. The lipid droplets in the cells were observed by Oil red O staining after ethanol modeling. The levels of cell TG and liver enzymes, ALT and AST, were determined. The optimal concentration of ethanol-induced cells was measured by the MTT assay. It was found that compared with the control group, the cell viability decreased after of 0.9% ethanol modeling for 48 h, along with the observations that Oil red O-stained lipid droplets became more obvious in the cells and the cells became swollen and round. after the exposure of ethanol-treated model cells to each of the four bioactives, a slight increase in the survival rate of the cells was induced by dihydromyricetin and quercetin as compared with the model group; compared with the control group, the TG content and the leakage of ALT and AST of the model group significantly increased ($p < 0.05$). Further, compared with the model group, the application of 0.9% ethanol combined with dihydromyricetin or quercetin on the normal human HL7702 hepatocytes for 48 h caused a significant ($p < 0.05$) decrease in the TG and ALT, AST contents in the liver. Accordingly, the active ingredients in the ethyl acetate phase obtained from *Hovenia acerba* that were capable of dispelling the effects of alcohol and protecting the liver were mainly dihydromyricetin and quercetin, especially the former.

Key words: *Hovenia acerba*; dihydromyricetin; liver protection; quercetin

酒精性肝病 (alcoholic liver disease) 是肝脏内脂

收稿日期: 2018-06-05

基金项目: 吉林省卫生和计划生育委员会科研项目 (2015Z070)

作者简介: 杜瑞雪 (1992-), 女, 在读研究生, 研究方向: 食品营养与生理功能

通讯作者: 李善姬, 博士, 副教授, 研究方向: 食品营养与生理功能

肪过度沉积导致的肝脏疾病, 长期大量喝酒是该病发生的直接原因, 早期表现为脂肪肝、酒精性肝炎, 如能严格戒酒, 进行保肝治疗, 肝脏病变可以逆转, 如果任由其发展为肝纤维化和肝硬化, 则难以逆转^[1]。所以在酒精性肝病的早期阶段尽早治疗, 阻止肝脏病变的进一步扩展。酒精性肝病多发生于西方国家, 随

着人们生活水平的提高, 社交的需要和传统的“酒文化”导致我国脂肪肝发病率呈逐年上升的趋势, 其危害性已经不可小觑, 酒中的乙醇在肝脏代谢成为乙醛, 大量蓄积可引起肝细胞坏死和纤维化。轻中度患者恶心、肝区隐痛, 肝肿大和腹水, 重度患者可发生食管静脉曲张破裂出血, 肝性脑病等。我国很多学者也已经对该疾病的进行深入研究, 但由于酒精性脂肪肝的发病机制较为复杂涉及生理、生化、免疫和遗传等众多学科, 研究进展较为缓慢, 治疗效果不尽如人意。

枳椇 (*Hovenia acerba*) 为鼠李科枳椇属植物 (*Rhamnaceae genus*), 是我国公布的药食两用中药, 果实甘甜, 枳椇子可入药。在古代《唐本草》、《本草纲目》等多部医药著作中都对其解酒功效有具体的记载, 并且现代的众多药理实验研究表明枳椇属植物含皂苷、黄酮和生物碱等解酒成分, 其中以二氢杨梅素和黄酮类化合物中的槲皮素效果显著。中药的应用时间长且毒副作用小, 疗效优于西药^[2,3], 研究表明枳椇提取物有缓解酒精肝脂肪变性和炎症, 保护肝脏损伤的作用^[4-7], 谢立等^[8]证明了枳椇乙酸乙酯层的有效成分含量高于其他提取层, 也有实验证实了二氢杨梅素的解酒作用^[9,10]。课题组在前期研究中证明了枳椇乙酸乙酯提取层的解酒作用, 故本实验着手于枳椇乙酸乙酯层的4种单体(槲皮素、柚皮素、杨梅素、二氢杨梅素)来筛选解酒保肝的有效成分, 为进一步研究和开发有解酒保肝作用的保健食品提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

人肝脏 HL7702 细胞株, 武汉普诺赛生命科技有限公司; 二氢杨梅素、槲皮素、柚皮素、杨梅素, 中国医学科学院药物研究所; RPMI-1640 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶、二甲基亚砷, 美国 GIBCO 公司; 油红 O, 中国医药(集团)上海化学试剂公司; TG、ALT、AST 检测试剂盒, 上海岚派生物技术有限公司。

1.2 仪器与设备

双人单面净化工作台, 苏州净化设备有限公司; 恒温二氧化碳培养箱, Thermo; 全自动酶标仪, Olympus; 倒置生物显微镜, Olympus。

1.3 实验方法

1.3.1 人肝细胞 HL7702 培养及 MTT 法筛选乙

醇最佳诱导浓度

细胞培养所用培养基为含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基。细胞以 1×10^5 个/mL 接种于 96 孔培养板, 待细胞长满孔底加入配好的乙醇工作液(终浓度为 0.3%、0.6%、0.9%、1.2%、2.4%、3.6%), 继续培养 48 h, 吸出上清液, 每孔加 30 μ L (5 mg/mL) MTT, 置培养箱内培养 4 h 后吸去孔内上清液, 每孔加入 150 μ L DMSO, 全自动酶标仪于波长 570 nm 检测各孔吸光度值 (A), 同时设置调零孔(培养基、MTT、DMSO)、对照孔(细胞、培养基、MTT、DMSO)。

1.3.2 饱和油红 O 观察酒精性脂肪肝体外造模

将乙醇用 RPMI-1640 培养液稀释浓度为 0.6%、0.9%、1.2% 的工作液, 取对数生长期细胞于 24 孔板培养, 加入不同浓度乙醇工作液, 继续培养 48 h, 吸去旧培养液。用 1 mL PBS 缓冲液轻柔低漂洗 3 次, 加 4% 多聚甲醛固定 30 min。把饱和油红 O 及去离子水按照以下比例制成油红 O 稀释液, 饱和油红 O: 去离子水=3:2, 静置 10 min 左右, 滤膜过滤备用。每孔加 500 μ L 油红 O 稀释液覆盖孔板底部, 避光染色 1 h, 纯净水漂洗三次, 除去多余染料, 倒置显微镜观察。

1.3.3 MTT 法筛选四种成分对乙醇造模前后细胞活性的影响

实验分为正常对照组 N (含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液、细胞); 乙醇模型组 E (0.9% 酒精浓度工作液、含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液、细胞); 枳椇不同提取部位乙酸乙酯层 4 种成分(二氢杨梅素 A、槲皮素 B、柚皮素 C、杨梅素 D) 的高、中、低剂量实验组(相当于 4 mg/mL、3 mg/mL 和 2 mg/mL 的枳椇生药、0.9% 酒精浓度工作液、含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液、细胞)。取对数生长期细胞于 96 孔板, 置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 孵育箱培养 24 h, 加入预先配置的工作液, 每孔 100 μ L, 设 10 个平行孔。继续培养 48 h 后, 加入 MTT 于培养箱培养 4 h, 再加入 DMSO, 酶标仪检测吸光度。

1.3.4 检测肝酶 ALT、AST 和细胞内 TG 含量

取对数生长期细胞于 24 孔板培养 24 h, 0.9% 乙醇工作液干预 48 h, 加入不同浓度药物继续干预 48 h, 收集细胞。按照试剂盒操作说明检测肝酶 ALT、AST 和细胞内 TG 的含量。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件进行统计学处理, 实验数据用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较先检验正态性和方差齐性, 若方差齐, 采用单因素方差分析, 若不齐采用单因素 ANOVA 两两比较。选定 $p < 0.05$ 为差异

有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 MTT 筛选乙醇诱导的最佳浓度

表 1 不同浓度乙醇作用于 HL7702 肝细胞后细胞的活性情况

Table 1 The HL7702 cells activity change by different concentration ethanol

组别	OD 值($\bar{x} \pm s, n=10$)	细胞活性变化/%
对照组 0	0.78 \pm 0.02	100.00 \pm 0.00
乙醇组 0.3%	0.84 \pm 0.04	107.63 \pm 5.16
0.6%	0.78 \pm 0.08	99.26 \pm 10.39
0.9%	0.74 \pm 0.02	95.62 \pm 3.26
1.2%	0.66 \pm 0.04	85.01 \pm 5.71
2.4%	0.56 \pm 0.01	72.50 \pm 2.02
3.6%	0.49 \pm 0.05	64.37 \pm 7.07

MTT 法筛选乙醇造模的最佳诱导浓度,酶标仪检测吸光度,计算细胞活性变化,结果见表 1。当乙醇浓度为 0.9%时,体外造模效果最好。由表 1 结果可知,与对照组相比,乙醇浓度为 0.3%、0.6%时,细胞活性在 100%以上,OD 值较对照组稍增高,显微镜下观察这两种浓度下细胞形态,细胞形态和对照组相比无明显改变,生长良好,当乙醇浓度为 0.9%、1.2%时,细胞活性分别为 95.62%、85.01%,OD 值与对照组相比稍下降,细胞形态稍有增大,生长正常;当乙醇浓度为 2.4%、3.6%时,细胞活性在 80%以下,OD 值与对照组相比下降较明显,肝细胞体积明显增大,细胞存活率也明显下降。根据 MTT 检测结果、细胞活性变化再结合显微镜下细胞形态学观察,可以选择乙醇浓度为 0.9%或 1.2%工作液建立脂肪肝模型进行接下来药物筛检工作。

2.2 观察乙醇造模后细胞内的脂滴情况

油红 O 染色观察发现用 0.9%乙醇体外造模脂肪肝细胞效果最好,细胞肿胀变圆,脂肪颗粒清晰可见。正常对照组细胞形态正常,生长状态良好,胞浆内无明显脂滴形成;乙醇组细胞形态有不同程度的改变,细胞肿胀明显,细胞内有橘红色脂滴形成。0.9%浓度乙醇组细胞内脂滴颗粒呈连珠状排列,界限清楚且分布均匀;1.2%浓度乙醇组细胞内也有较多脂滴颗粒,但是分布不均匀,排列杂乱无序脂滴颗粒之间界限模糊,部分细胞出现胞膜破裂,细胞脱壁现象也明显。为提高实验的准确性,减少干扰因素,故结合表 1 实验结果,本试验最终选用浓度 0.9%乙醇进行体外酒精性脂肪肝造模。

2.3 四种成分对乙醇造模细胞的影响

表 2 4 种成分对乙醇造模细胞的影响

Table 2 The Effects of 4 components on ethanol model cells

组别	OD 值($\bar{x} \pm s, n=6$)	细胞存活率/%
N	0.82 \pm 0.01	100.00 \pm 0.00
E (0.9%乙醇)	0.76 \pm 0.01	92.59 \pm 0.34
E+A 高剂量组	0.78 \pm 0.00	95.09 \pm 0.80
中剂量组	0.78 \pm 0.00	94.76 \pm 0.65
低剂量组	0.77 \pm 0.00	94.30 \pm 0.67
E+B 高剂量组	0.78 \pm 0.00	94.92 \pm 0.75
中剂量组	0.78 \pm 0.00	94.68 \pm 0.92
低剂量组	0.77 \pm 0.00	94.30 \pm 1.07
E+C 高剂量组	0.76 \pm 0.00	92.29 \pm 0.68
中剂量组	0.76 \pm 0.00	92.21 \pm 0.96
低剂量组	0.76 \pm 0.00	92.29 \pm 0.76
E+D 高剂量组	0.77 \pm 0.00	93.14 \pm 0.81
中剂量组	0.76 \pm 0.01	92.36 \pm 1.28
低剂量组	0.76 \pm 0.00	92.37 \pm 0.84

四种成分干预造模后细胞,MTT 法检测药物对细胞的存活率影响,结果见表 2。由表 2 结果可知,二氢杨梅素和槲皮素干预造模细胞的存活率为 94%~95%,OD 值与对照组相比略有下降但与模型组相比略有上升,说明这两种药物对体外酒精性脂肪肝细胞的效果明显。与对照组相比,枳椇乙酸乙酯层 4 种单体对酒精性脂肪肝模型进行干预,二氢杨梅素和槲皮素干预细胞后整体活性高于模型组,而柚皮素对细胞活性几乎无影响;组内比较,二氢杨梅素与槲皮素干预脂肪肝模型,随着药物剂量的增加细胞活性呈相对增加趋势,杨梅素只有高剂量组对细胞活性有微弱影响,柚皮素几乎无变化。

2.4 药物干预后细胞内 TG 含量检测

检测药物干预造模细胞后 TG 含量的变化,结果见表 3。细胞内甘油三酯的含量是检测脂肪肝的一项重要指标,造模细胞的 TG 含量增加,二氢杨梅素和槲皮素干预脂肪肝细胞, TG 含量相对减少,说明二氢杨梅素和槲皮素可以缓解脂肪肝细胞内甘油三酯的代谢紊乱。由表 3 结果可知,模型组 TG 含量为 0.28 mmol/L,相比对照组 0.07 mmol/L 增加,差异有统计学意义 ($p < 0.05$),与模型组比较,除柚皮素和杨梅素的低剂量组外,其他各组细胞内甘油三酯的含量有显著差异 ($p < 0.05$)。组内比较发现,二氢杨梅素高剂量组细胞内甘油三酯含量为 0.15 mmol/L,低于中低剂量组,说明随药物浓度增加,细胞内甘油三酯的含

量减少,合成受到抑制,而其他组的差异不明显。由此可知,二氢杨梅素有抑制细胞内 TG 合成的作用,且比槲皮素、柚皮素和杨梅素的效果好。

表3 各单体干预人正常 HL7702 肝细胞后 TG 含量

Table 3 The content of TG in HL7702 cells by four monomers

($\bar{x} \pm s, n=5, \text{mmol/L}$)

组别	TG 含量
N	0.07 \pm 0.05
E (0.9% 乙醇)	0.28 \pm 0.00 ^a
E+A 高剂量组	0.15 \pm 0.01 ^b
中剂量组	0.18 \pm 0.00 ^{bc}
低剂量组	0.21 \pm 0.01 ^{bc}
E+B 高剂量组	0.18 \pm 0.01 ^b
中剂量组	0.18 \pm 0.02 ^b
低剂量组	0.19 \pm 0.02 ^b
E+C 高剂量组	0.26 \pm 0.02 ^b
中剂量组	0.27 \pm 0.005 ^b
低剂量组	0.27 \pm 0.02 ^c
E+D 高剂量组	0.26 \pm 0.01 ^b
中剂量组	0.27 \pm 0.01 ^{bc}
低剂量组	0.27 \pm 0.01

注: a 表示模型组与对照组相比, $p<0.05$; b 表示与模型组相比, $p<0.05$; c 表示与各组高剂量相比, $p<0.05$ 。下表同。

2.5 药物干预后细胞肝酶 ALT、AST 泄漏量检测

表4 各单体干预细胞后肝酶 ALT、AST 泄漏量

Table 4 The leakage of ALT, AST on HL7702 by four monomers ($\bar{x} \pm s, n=5, \text{mmol/L}$)

组别	ALT 含量	AST 含量
N	4.56 \pm 0.01	14.19 \pm 0.00
E (0.9% 乙醇)	9.79 \pm 0.01 ^a	22.26 \pm 0.01 ^a
E+A 高剂量组	6.56 \pm 0.00 ^b	17.15 \pm 0.01 ^b
中剂量组	7.06 \pm 0.00 ^{bc}	17.95 \pm 0.04 ^{bc}
低剂量组	7.45 \pm 0.00 ^{bc}	18.25 \pm 0.01 ^{bc}
E+B 高剂量组	7.33 \pm 0.01 ^b	17.64 \pm 0.04 ^b
中剂量组	7.34 \pm 0.01 ^b	17.71 \pm 0.02 ^b
低剂量组	7.36 \pm 0.01 ^{bc}	17.84 \pm 0.01 ^{bc}
E+C 高剂量组	9.68 \pm 0.02 ^b	21.84 \pm 0.02 ^b
中剂量组	9.71 \pm 0.01 ^b	21.92 \pm 0.02 ^{bc}
低剂量组	9.73 \pm 0.01 ^b	21.98 \pm 0.01 ^{bc}
E+D 高剂量组	9.28 \pm 0.00 ^b	21.71 \pm 0.07 ^b
中剂量组	9.29 \pm 0.00 ^{bc}	21.81 \pm 0.04 ^b
低剂量组	9.32 \pm 0.00 ^{bc}	21.95 \pm 0.01 ^b

检测药物干预造模细胞 ALT、AST 泄漏量的变化,结果见表4。肝酶 ALT、AST 含量与肝损伤有关,泄漏量越多肝损伤越明显,结果显示,模型组 ALT、AST 泄漏量明显升高,二氢杨梅素和槲皮素干预脂肪肝细胞,ALT、AST 泄漏量下降明显。由表4结果可知,模型组细胞的肝酶 ALT、AST 泄漏量分别为 9.79 mmol/L 和 22.6 mmol/L,相比对照组 4.56 mmol/L 和 14.19 mmol/L 明显升高,有显著差异 ($p<0.05$);与模型组比较,各药物干预组的肝酶泄漏量均有显著差异 ($p<0.05$),其中效果最好的是二氢杨梅素高剂量组,ALT 泄漏量为 6.56 mmol/L,AST 泄漏量为 17.15 mmol/L;与高剂量组相比,二氢杨梅素和杨梅素中低剂量的 ALT 泄漏量升高,差异有统计学意义 ($p<0.05$),二氢杨梅素和柚皮素中低剂量 AST 升高,差异有统计学意义 ($p<0.05$),综合比较,二氢杨梅素抑制肝细胞内 ALT、AST 泄漏量效果最好。

3 结论

3.1 肝脏是人的重要解毒器官,酒精的代谢过程(90%~95%)主要在肝脏进行,当长期大量摄入酒精,超出肝脏的解毒能力,就会导致机体内重要的生理生化代谢失衡,严重损伤肝细胞,导致酒精性脂肪肝。枳椇作为传统解酒良药,一直发挥它的有效作用,研究表明^[3]中国传统解酒良方枳椇云母汤可以通过清除自由基、抗脂质过氧化、降低肝组织中细胞因子的表达起到保肝作用。

3.2 合理利用枳椇解酒护肝中的有效成分并进行提取分离成为现代研究的新思路,本课题组前期实验确定了枳椇乙酸酯层的解酒效果最佳,因此本次研究从乙酸酯层提取了4种成分,分别为二氢杨梅素、槲皮素、柚皮素和杨梅素,通过建立体外酒精性脂肪肝模型,药物干预,检测药物对模型细胞的抑制率,观察药物干预前后细胞内脂肪颗粒的变化,检测细胞 TG、ALT、AST 含量变化,来筛选枳椇乙酸酯层中解酒保肝的有效成分。

3.3 实验结果表明,二氢杨梅素的解酒效果最佳,潘仁奇^[9]等人对二氢杨梅素解酒作用的研究表明,二氢杨梅素能延长醉酒小鼠的耐受时间,并能明显地缩短醒酒的时间,证实二氢杨梅素有较好的防醉解酒效果,与本次研究结果一致,在今后的保健食品及其相关产品开发中,考虑其解酒的药效作用,为产品开发提供理论依据。

参考文献

[1] 高广甫,张淑凤,王长武,等.206 例酒精性肝病患者的临床

- 特点[J].临床肝胆病杂志,2017,33(9):1766-1768
- GAO Guang-pu, ZHANG Shu-feng, WANG Chang-wu, et al. Clinical features of alcoholic liver disease: a clinical analysis of 206 cases [J]. Journal of Clinical Hepatology, 2017, 33(9): 1766-1768
- [2] 贾伟,王海涛,张红,等.解酒复肝方治疗酒精性脂肪肝临床研究[J].中国中医药现代远程教育,2012,10(24):29-30
- JIA Wei, WANG Hai-tao, ZHANG Hong, et al. The clinical research about the compet of alleviate hangover to treat Alcoholic fatty liver [J]. Chinese Medicine Modern Distance Education of China, 2012, 10(24): 29-30
- [3] 张敏娜.枳椇云母汤对大鼠急性酒精性肝损伤模型 SOD、MDA 及 TNF- α 的影响[J].福建中医药,2012,43(3):52-53
- ZHANG Min-na. The effect of trifoliolate orange decoction on SOD, MDA and TNF- α in rats with acute alcoholic liver injury [J]. Fujian Journal of Traditional Chinese Medicine, 2012, 43(3): 52-53
- [4] Choi RY, Woo MJ, Ham JR, et al. Anti-steatotic and anti-inflammatory effects of *Hovenia dulcis Thunb* extracts in chronic alcohol-fed rats [J]. Biomed Pharmacother. 2017, 90: 393-401
- [5] Han JM, Lim HN, Jung HJ. *Hovenia dulcis Thunb.* and its active compound ampelopsin inhibit angiogenesis through suppression of VEGFR2 signaling and HIF-1 α expression [J]. Oncology Reports. 2017, 38(6): 3430-3438
- [6] Kim H, Kim YJ, Jeong HY, et al. A standardized extract of the fruit of *Hovenia dulcis* alleviated alcohol-induced hangover in healthy subjects with heterozygous ALDH2: A randomized, controlled, crossover trial [J]. Journal of Ethnopharmacology. 2017, 209: 167-174
- [7] 王楠,杜双奎,冯宪超,等.枳椇乳酸菌发酵饮料对小鼠酒精肝损伤的保护作用[J].现代食品科技,2016,32(8):28-41
- WANG Nan, DU Shuang-kui, FENG Xian-chao, et al. Protective effect of lactic acid-fermented beverage prepared from the peduncles of *Hovenia dulcis* on alcohol-induced liver damage in mice [J]. Modern Food Science & Technology, 2016, 32(8): 28-41
- [8] 谢立,陈振德,孙新华,等.枳椇子解酒活性提取部位的研究[J].中国药房,2007,18(33):462-465
- XIE Li, CHEN Zhen-de, SUN Xin-hua, et al. Study on the bioactive fraction of the seeds of *Hovenia Dulcis Thunb.* for acute alcoholism [J]. China Pharmacy, 2007, 18(33): 462-465
- [9] 潘人琦,郁建平.二氢杨梅素解酒作用的研究[J].山地农业生物学报,2012,31(3):247-249
- PAN Ren-qi, YU Jian-ping. An investigation in the disintoxication effects of dihydromyricetin [J]. Journal of Mountain Agriculture and Biology, 2012, 31(3): 247-249
- [10] Cai-Jie Lu, Yi-Feng He, Wei-Zhuang Yuan, et al. Dihydromyricetin-mediated inhibition of the Notch1 pathway induces apoptosis in QGY7701 and HepG2 hepatoma cells [J]. 2017, 23(34): 6242-6251