

不同极性酸浆提取液对体外诱导的非酒精性脂肪肝细胞的影响

刘敏, 于洋, 雷钧涛, 郝艳丽, 张岚, 马洪波, 王舒然

(吉林医药学院公共卫生学院, 吉林吉林 132013)

摘要: 探讨不同极性酸浆提取液对体外诱导的非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 细胞的影响及其可能的作用机制。用不同极性有机溶剂对酸浆进行萃取, 采用 MTT 法筛选医用脂肪乳注射液使用浓度、酸浆提取液作用浓度, 光学显微镜观察油红 O 染色情况, 全自动生化仪检测甘油三酯 (TG)、谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 和谷氨酰转肽酶 (GGT) 水平。与正常肝细胞株 HL7702 相比, 模型组油红 O 染色后细胞浆内有大量被染成橘红色的脂滴, 细胞内 TG、ALT、AST 和 GGT 水平显著升高 ($p < 0.01$)。与模型组相比, 不同酸浆提取物治疗 12 h 组细胞浆内橘红色的脂滴数量明显减少, TG、ALT、AST 和 GGT 水平显著降低 ($p < 0.01$)。在体外成功建立非酒精性脂肪肝的细胞模型, 不同极性酸浆提取液处理能减轻 NAFLD 细胞中 TG 蓄积和 ALT、AST 和 GGT 的泄漏量。

关键词: 不同酸浆提取物; 非酒精性脂肪肝; 医用脂肪乳

文章编号: 1673-9078(2017)6-26-31

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.6.005

Effects of *Physalis alkekengi* Extracts with Different Polarities on *In Vitro* Induced Nonalcoholic Fatty Liver Cells

LIU Min, YU Yang, LEI Jun-tao, XI Yan-li, ZHANG Lan, MA Hong-bo, WANG Shu-ran

(Jilin Medical University, School of Public Health, Jilin 132013, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of *Physalis alkekengi* extracts with different polarities in an *in vitro* model of induced nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and identify the possible mechanism. *Physalis alkekengi* samples were extracted using organic solvents with different polarities. The concentrations of medical fat emulsion for injection and *Physalis alkekengi* extracts were selected by a 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. Lipid droplets stained with oil red O were observed under a light microscope. The triglyceride (TG), alanine aminotransferase (ALT), aspartate transaminase (AST), and gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) levels were determined by an automatic biochemical analyzer. Compared with normal liver cells, HL7702, the model group showed a large quantity of orange-red lipid droplets in the cytoplasm after oil red O staining, and the intracellular TG, ALT, AST, and GGT levels increased significantly ($p < 0.01$). Compared with the model group, the groups treated with different *Physalis alkekengi* extracts for 12 h exhibited a considerably reduced number of orange-red lipid droplets in the cytoplasm and significantly decreased levels of intracellular TG, ALT, AST, and GGT ($p < 0.01$). An *in vitro* cell model of nonalcoholic fatty liver disease was successfully established, and treatment with *Physalis alkekengi* extracts with different polarities could reduce the accumulation of TG and leakage of ALT, AST, and GGT in NAFLD cells.

Key words: *Physalis alkekengi* extracts with different polarities; nonalcoholic fatty liver; medical fat emulsion

非酒精性脂肪肝疾病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是人体脂新陈代谢紊乱的表现, 病因主要是人们饮食结构的不合理^[1]。NAFLD 已逐渐成为

收稿日期: 2016-07-10

基金项目: 吉林省教育厅“十二五”科学技术研究项目资助项目 (吉教科合字[2013]第 360 号); 吉林省卫生厅资助项目 (2014ZC063)

作者简介: 刘敏 (1984-) 女, 硕士, 实验师, 研究方向: 慢性病的营养防治

通讯作者: 马洪波 (1969-), 男, 副教授, 研究方向: 慢性病的营养防治;

王舒然 (1968-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 营养与食品卫生

为病毒性肝炎的第二大常见肝病, 早期临床表现为肝脏单纯性脂肪变性, 其后随病程的延长, 可能还会逐步发展为脂肪性肝炎、肝纤维化、肝硬化到肝癌等^[2]。近年来, 它的发病率不仅越来越高, 而且发病趋势越来越年轻化^[3]。因此, 积极研究开发预防与治疗 NAFLD 的高效、价格价廉和安全方便的药物意义重大。目前, 对于 NAFLD 的研究多以动物为模型, 但动物模型具有实验条件不可控等缺点, 本研究采用体外细胞模型。

酸浆为茄科酸浆属多年生草本植物的果实, 又名

红姑娘、挂金灯和锦灯笼等^[4]。成熟果实为圆球形橙红色浆果,外有膨大的花萼疏松地包围在浆果之外^[5]。在我国主要分布在吉林、山东、河北及新疆等地^[6]。酸浆含有丰富的营养素,包括17种氨基酸、21种微量元素和矿物质、8种维生素,以及多种植物化学物,是食药两用价值很高的天然食品^[4]。国内外对酸浆果实中有益成分的功能性、单一成分的提取分离研究报道较多,但缺乏对这一资源的系统研究开发,尤其是有益成分功能性食品的开发还属空白^[7]。研究发现酸浆对人体具有降血糖、降血脂、抗病毒、抗癌、抗炎、抗氧化和强心等功效。目前酸浆对体外血脂水平影响的研究较少,本研究在建立非酒精性脂肪肝细胞模型的基础上,探讨不同极性酸浆提取物对体外诱导的非酒精性脂肪肝细胞模型的影响^[8,9]。为降血脂药物的开发及血脂代谢紊乱的治疗、控制及预防提供科学依据,同时提高对酸浆综合利用率,因此未来对酸浆有益成分的提取和精深加工将具有重要的经济价值和社会价值^[10]。

1 材料与方法

1.1 材料

HL7702 人正常肝细胞购自赢润生物有限公司;20%医用脂肪乳注射液购自四川科伦药业有限公司;胎牛血清、胰蛋白酶、MTT、DMSO 和 RPMI-1640 培养基购自美国 GBICO 公司等。

1.2 不同极性酸浆提取物的制备及化学物测定

用分析天平精确称取取出水分的酸浆 1.05 kg 放入粉碎机中粉碎(过 40 目筛),得到 1 kg 粗粉,备用。根据酸浆中各种成分在不同溶剂中的溶解度不同,选用对有效成分溶解度大、对杂质溶解度小的有机溶剂(95%乙醇),将有效成分从药材组织内部溶解出来。将酸浆粗粉(40 目)1 kg 装入 2000 mL 圆底烧杯中,用 95%乙醇润湿膨胀 2 h,90 °C 回流提取 4 h,共提取 4 次。将提取液进行旋蒸浓缩、回收乙醇、合并,直至成浸膏,反复干燥至恒重。将浸膏用水混悬后置于 1000 mL 分液漏斗中,将石油醚、乙酸乙酯、正丁醇以水饱和,依次放入分液漏斗中,进行等量萃取至溶液无色或得到稠膏量很少,用旋转蒸发器浓缩回收溶剂,将得到的稠膏进行冷冻干燥,称重。

对石油醚、乙酸乙酯、正丁醇以水饱和萃取物分别进行化学物含量测定,黄酮采用分光光度法,油脂采

用索氏提取法,多糖采用分光光度法。

1.3 正常肝细胞的培养

用含 20%胎牛血清、青链霉素各 10 U/L 的 RPMI-1640 培养液传代培养正常的 HL7702 细胞。置 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度孵育箱内培养。细胞生长状态良好,呈单层贴壁状。根据细胞生长情况,每 2~3 d 用 0.25%的胰蛋白酶消化,进行传代培养和冻存。

1.4 脂肪乳注射液作用浓度的确定及非酒精性脂肪肝模型的建立

将 20%医用脂肪乳注射液原液用 PBS 分别稀释 5 倍、10 倍、20 倍、50 倍、100 倍和 200 倍后,则浓度分别为 4%、2%、1%、0.4%、0.2%和 0.1%^[11]。将处于对数生长期的 HL7702 细胞调整浓度为 5×10^4 个/mL 培养于 96 孔板中,分别加入不同浓度的脂肪乳注射液,以不加脂肪乳注射液为空白对照组,用 MTT 比色法在 570 nm 测定各组细胞吸光度值,细胞抑制率 = (空白对照组 OD 值 - 样品组 OD 值 / 空白对照组 OD 值) × 100%。样品组 OD 值达到空白对照组 OD 值 50% 时的样品浓度为抗增殖活性的半数有效抑制浓度 (EC₅₀),结合细胞形态观察,选择作为诱导细胞形成 NAFLD 细胞模型的最佳浓度。然后,将传代的细胞悬液调整浓度约为 1×10^5 个/mL,每孔 1 mL,接种于 24 孔板中。并分成两组,即:对照组和诱导组,对照组用正常培养基培养;诱导组用含有不同浓度脂肪乳注射液的培养基建立 NAFLD 细胞模型^[11]。

1.5 不同极性酸浆提取液作用浓度的确定及分组给药

不同极性酸浆提取液用 DMSO 溶解终浓度是 0.2%。将处于对数生长期的脂肪肝模型细胞调整浓度为 5×10^4 个/mL 培养于 96 孔板中,分别加入不同浓度 (0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 μg/mL) 的不同极性酸浆提取液作用 24 h,以不加不同极性酸浆提取液为空白对照组,用 MTT 比色法测定药物对细胞生长的抑制率 EC₅₀ 值,结合细胞形态观察,选择作为处理脂肪肝细胞的最佳浓度。然后,将细胞分为 3 组:对照组、模型组和酸浆提取液治疗组。调整细胞浓度,使每组细胞浓度均为 5×10^4 个/mL,对照组:即用正常培养基培养;模型组:即每毫升正常培养基中添加 1%脂肪乳诱导;酸浆治疗组:即 HL7702 细胞经诱导后改用含有不同浓度酸浆提取物的正常培养基进行培养。

1.6 油红 O 染色法观察细胞内脂滴

目前,在脂肪肝的研究中,脂类物质染色法常用来鉴别脂肪是否变性。本研究使用的是油红 O 染色法,油红 O 染色液可将细胞中性脂肪染成桔红色或红色。取对数生长期 HL7702 细胞和脂肪乳诱导后的细胞,以 0.25%胰蛋白酶溶液消化细胞,离心,制成单细胞悬液,计数,调整细胞浓度为 5×10^4 个/mL^[12]。接种浓度为 5×10^4 个/mL 的 HL7702 和诱导后细胞于放有盖玻片(预先经泡酸、清洗、高温灭菌)的 24 孔板内,每孔加 1 mL 细胞悬液。细胞培养 24 h、48 h 和 72 h 后,将 24 孔板置于倒置显微镜下观察^[12]。将倒置显微镜观察后的玻片从 24 孔板中取出, PBS 洗 5 min×3 次, 4%多聚甲醛固定 20 min, PBS 液洗细胞 2 次,异丙醇漂洗数秒,油红 O 染色 20 min,蒸馏水冲洗终止染色,光镜下观察,拍照。

1.7 细胞内甘油三酯水平的测定

TG 是药物治疗 NAFLD 的疗效评价的指标之一,通过测定 TG 水平的变化可直接反映脂质在肝脏内代谢和沉积情况。分别取对数生长期的 HL7702 细胞、诱导后的细胞,酸浆提取液处理后的细胞,以 0.25%胰蛋白酶溶液消化细胞,离心,制成单细胞悬液,计数。计数上述各组细胞各 10^6 个, 1500 r/min 离心 5 min,冷 PBS 洗 5 min×3 次,参照完全裂解 2×10^5 个细胞需 200 μ L 裂解液这一标准裂解细胞, 4 $^{\circ}$ C 剧烈振荡、裂解 30 min,低温离心 30 min,收集上清液,全自动生

化分析仪进行检测 TG 含量。

1.8 培养基中 ALT、AST、GGT 泄漏量测定

对于 ALT、AST 和 GGT 酶泄漏量的检测,可以反映肝细胞的损伤程度,因此,认为 ALT、AST 和 GGT 这三种指标的改变能比较准确、客观地反映药物对脂肪肝的真实的作用效果。分别取空白组细胞、模型组细胞,酸浆提取物治疗后的细胞, 4 $^{\circ}$ C、1500 r/min 离心 5 min,取离心后上清液,全自动生化分析仪检测 ALT、AST 和 GGT 水平变化。

1.9 统计学处理

用 SPSS 19.0 for Windows 统计学软件处理。检测数据以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,计量数据采用方差分析和 t 检验, $p < 0.05$ 表示有显著性差异, $p < 0.01$ 表示有极显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 酸浆提取物的提取率

酸浆石油醚萃取物的干膏重 90.35 g,出膏率 9.03%;酸浆乙酸乙酯萃取物的干膏重 14.06 g,出膏率 1.41%;酸浆正丁醇萃取物的干膏重 118.31 g,出膏率 11.83%;酸浆萃取液余下的水层抽滤后浓缩水浴干燥至干膏得水提取物重 40.87 g,出膏率 4.09%。提取物中黄酮、油脂和多糖得率见表 1。

表 1 不同极性酸浆提取液化学物含量

Table 1 Chemical content of *Physalis alkekengi* extracts with different polarities (n=8, $\bar{x} \pm s$)

萃取液	石油醚	乙酸乙酯	正丁醇	水饱和
黄酮得率/%	10.38±0.12	12.93±0.12	8.73±0.27	2.69±0.15
油脂得率/%	22.90±0.18	16.11±0.21	11.35±0.19	0.26±0.16
多糖得率/%	1.02±0.11	4.69±0.17	10.69±0.16	18.31±0.28

2.2 脂肪乳注射液作用浓度的确定

实验结果表明(表 2),随着脂肪乳稀释倍数浓度的增加,细胞生长的抑制率逐渐减小,脂肪乳稀释倍

数为 20 时细胞抑制率可以达到 50%左右,故选取浓度为 1%的脂肪乳注射液作为建立酒精性脂肪肝细胞模型的最佳诱导浓度^[12]。

表 2 不同浓度脂肪乳作用 HL7702 细胞的抑制率

Table 2 Inhibition rate of different concentrations of fat emulsion against HL7702 cells (n=8, $\bar{x} \pm s$)

脂肪乳稀释倍数	5 倍	10 倍	20 倍	50 倍	100 倍
抑制率/%	79.30±0.19	68.35±0.21	51.25±0.31	26.53±0.34	18.79±0.57

2.3 不同极性酸浆提取液作用浓度的确定

由表 3~表 6 可知:不同极性酸浆提取物对 HL7702 细胞生长抑制率不同,选取抑制率为 50%左右的浓度

为本实验的最佳浓度。酸浆石油醚提取液作用 HL7702 细胞最佳浓度为 0.2 μ g/mL,乙酸乙酯提取液作用 HL7702 细胞最佳浓度为 0.2 μ g/mL,正丁醇提取液作用 HL7702 细胞的最佳浓度为 0.4 μ g/mL,萃取液余下

的水提取液作用 HL7702 细胞最佳浓度为 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 。

表 3 不同浓度石油醚提取液作用 HL7702 细胞的抑制率

Table 3 Inhibition rate of different concentrations of petroleum ether extracts against HL7702 cells (n=8, $\bar{x}\pm s$)

提取液浓度/ $(\mu\text{g/mL})$	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
抑制率/%	29.20 \pm 0.12	49.35 \pm 0.18	61.85 \pm 0.20	67.32 \pm 0.24	69.79 \pm 0.31

表 4 不同浓度的酸浆乙酸酯提取液作用 HL7702 细胞的抑制率

Table 4 Inhibition rate of different concentrations of ethyl acetate extracts against HL7702 cells (n=8, $\bar{x}\pm s$)

提取液浓度/ $(\mu\text{g/mL})$	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8
抑制率/%	31.10 \pm 0.19	51.18 \pm 0.33	59.69 \pm 0.35	67.48 \pm 0.26	71.33 \pm 0.42

表 5 不同浓度的正丁醇提取液作用 HL7702 细胞的抑制率

Table 5 Inhibition rate of different concentrations of n-butyl alcohol extracts against HL7702 cells (n=8, $\bar{x}\pm s$)

提取液浓度/ $(\mu\text{g/mL})$	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
抑制率/%	41.20 \pm 0.18	53.32 \pm 0.28	60.35 \pm 0.24	68.38 \pm 0.34	79.35 \pm 0.31

表 6 不同浓度的酸浆水提取液作用 HL7702 细胞的抑制率

Table 6 Inhibition rate of different concentrations of water extracts against HL7702 cells (n=8, $\bar{x}\pm s$)

提取液浓度/ $(\mu\text{g/mL})$	0.1	0.5	1.0	1.5	2.0
抑制率/%	23.36 \pm 0.23	50.32 \pm 0.13	62.33 \pm 0.34	67.86 \pm 0.31	72.23 \pm 0.29

2.4 油红 O 染色结果

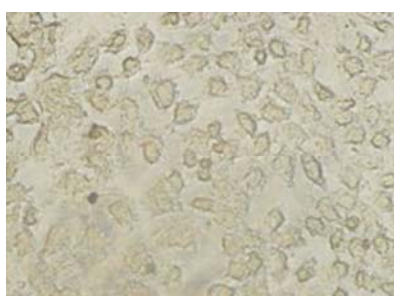


图 1 对照组 HL7702 细胞油红 O 染色

Fig.1 Oil red O staining of control group (HL7702) cells

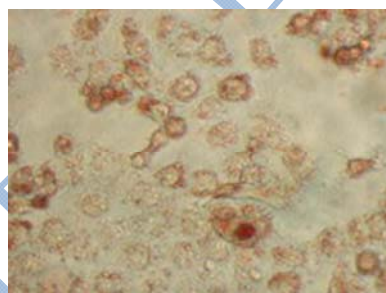


图 2 诱导 24 h 后的脂肪肝细胞油红 O 染色

Fig.2 Oil red O staining of fatty liver cells after 24 h induction

用 1%脂肪乳分别处理 HL7702 细胞 24 h、48 h 和 72 h 后，采用油红 O 染色后在倒置显微镜 $\times 400$ 下观察显示 (图 1~图 8)：对照组：HL7702 细胞胞浆丰富，细胞核膜完整，边缘清晰，核仁清楚可见，因未着色呈透亮状态 (图 1)；模型组：脂肪乳诱导 24 h 后，细胞内脂滴数量较正常细胞有所增多 (图 2)；脂肪乳诱导 48 h 后脂滴数量明显增多，细胞胞核居中，胞浆中大量被染成橘红色的颗粒，分布在靠近细胞膜的区

域，使整个细胞形态类似“印戒”，表明成功建立了 NAFLD 细胞模型 (图 3)；脂肪乳诱导 72 h 后可见细胞质内聚集了较多脂滴，部分脂滴融合，脱落，此期脂肪变细胞开始出现凋亡 (图 4)。结果表明用 1%脂肪乳处理 HL7702 细胞可以成功建立 NAFLD 细胞模型，并且 48 h 是最佳诱导时间。不同酸浆提取物处理 12 h 后胞浆中的橘红色的颗粒迅速减少，细胞质内脂滴数量也几乎不见，但可见微量细胞死亡、漂浮 (图 5~图 8)。

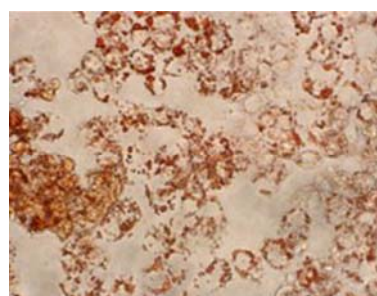


图 3 诱导 48 h 后的脂肪肝细胞油红 O 染色

Fig.3 Oil red O staining of fatty liver cells after 48 h of induction

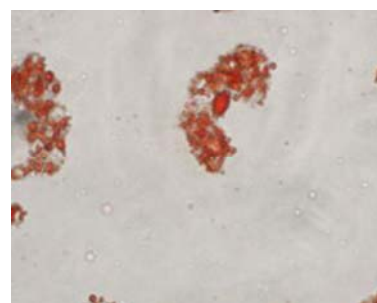


图 4 诱导 72 h 后的脂肪肝细胞油红 O 染色

Fig.4 Oil red O staining of fatty liver cells after 72 h of induction

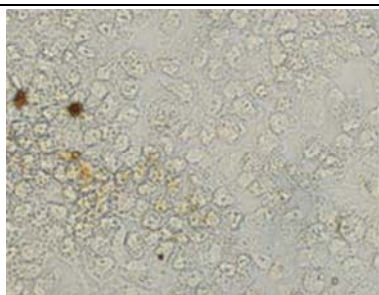


图 5 石油醚提取液治疗组油红 O 染色

Fig.5 Oil red O staining of petroleum ether extract-treated cells



图 7 正丁醇提取液治疗组油红 O 染色

Fig.7 Oil red O staining of n-butyl alcohol extract-treated cells



图 6 乙酸乙酯提取液治疗组油红 O 染色

Fig.6 Oil red O staining of ethyl acetate extract-treated cells

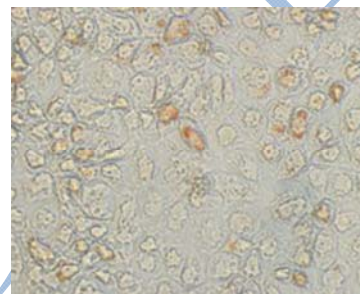


图 8 水提取液治疗组油红 O 染色

Fig.8 Oil red O staining of water extract-treated cells

表 7 各组细胞内甘油三酯水平

Table 7 Changes in the levels of intracellular TG in various treatment groups (n=8, $\bar{x}\pm s$, mmol/L)

指标	对照组	模型组	石油醚提取液治疗组	乙酸乙酯提取液治疗组	正丁醇提取液治疗组	水提取液治疗组
TG	1.08±0.40	*1.98±0.26	☆1.18±0.38	☆1.21±0.40	☆1.25±0.24	☆1.33±0.15
p 值	-	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01

注: *空白对照组与模型组比较, p<0.01 差异极显著; ☆模型组与不同提取液治疗组比较, p<0.01 差异极显著。

2.5 细胞内甘油三酯水平的变化

测量细胞内 TG 水平发现 (见表 7): 与正常 HL7702 细胞相比诱导后的脂肪肝细胞模型组 TG 水平显著升高, 进一步证明 NAFLD 细胞模型建立成功; 与模型组相比, 经酸浆提取液处理后, 脂肪肝细胞内 TG 量显著减少 (p<0.01)。

2.6 培养基中 ALT、AST 和 GGT 泄漏量变化

测量细胞内 ALT、AST 和 GGT 泄漏量发现 (见表 8): 与正常 HL7702 细胞相比诱导后的脂肪肝细胞模型组 ALT、AST 和 GGT 泄漏量显著增多; 与模型组相比, 经酸浆提取液处理后, 脂肪肝细胞 ALT、AST 和 GGT 泄漏量显著减少 (p<0.01)。

表 8 各组细胞 ALT、AST、GGT 泄漏量变化

Table 8 Changes in the levels of ALT, AST, and GGT in various treatment groups (n=8, $\bar{x}\pm s$, mmol/L)

指标	对照组	模型组	石油醚提取液治疗组	乙酸乙酯提取液治疗组	正丁醇提取液治疗组	水提取液治疗组
ALT	0.80±0.12	*19.80±0.17	☆5.98±0.16	☆7.51±0.25	☆7.85±0.13	☆11.03±0.18
AST	23.17±0.17	*226.39±0.31	☆79.75±0.36	☆83.34±0.16	☆31.16±0.32	☆69.26±0.27
GGT	1.10±0.18	*12.28±0.11	☆2.10±0.14	☆2.39±0.24	☆3.12±0.32	☆5.24±0.19
p 值	-	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01

注: *空白对照组与模型组比较, p<0.01 差异极显著; ☆模型组与不同提取液治疗组比较, p<0.01 差异极显著。

3 结论

本研究用酸浆石油醚萃取物的出膏率为 9.03%; 酸浆乙酸乙酯萃取物的出膏率为 1.41%; 酸浆正丁醇萃取物的出膏率为 11.83%; 酸浆萃取液余下的水层抽滤后浓缩水浴干燥至干膏得出膏率为 4.09%。研究发

现, 医用脂肪乳注射液主要成分是大豆油、卵磷脂、甘油, 可以取代油酸和亚油酸等作为非酒精性脂肪肝细胞的诱导剂, 本研究用浓度为 1%的医用脂肪注射液成功建立体外非酒精性脂肪肝细胞模型, 并可较好的模拟人非酒精性脂肪肝的主要特征^[11,12]。不同极性的酸浆提取物对 HL7702 细胞生长影响也不同, 酸浆

石油醚提取液作用 HL7702 细胞最佳浓度为 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 乙酸乙酯提取液作用 HL7702 细胞最佳浓度为 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 正丁醇提取液作用 HL7702 细胞的最佳浓度为 0.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 萃取液余下的水提取液作用 HL7702 细胞最佳浓度为 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。由于不同极性酸浆提取物主要化学成分不同, 对 HL7702 细胞作用浓度不同, 所以本研究不比较不同极性提取物对肝细胞的作用强弱。近年来的研究表明植物化学物中具有将脂活性的有黄酮类化学物、植物多糖、不饱和脂肪酸等, 本研究中不同极性酸浆提取物中都含有这三种成分, 均可以有效改善 NAFLD 细胞模型脂肪变性, 可降低细胞内 TG 水平, 减少 ALT、AST 和 GGT 泄漏量, 说明酸浆具有加快肝脏脂质代谢, 抑制脂肪积累, 减缓肝细胞损伤的作用^[13,14]。目前, 国内外对酸浆果实中单一成分的提取分离以及功能研究较多, 但对于酸浆资源的系统研究, 尤其是功能性食品的开发目前还属空白, 因此未来对酸浆有益成分的提取和精深加工, 提高对酸浆综合利用率将具有重要的社会价值和经济价值^[15]。

参考文献

- [1] Im A R, Kim Y H, Lee H W, et al. Water extract of dolichos lablab attenuates hepatic lipid accumulation in a cellular nonalcoholic fatty liver disease model [J]. J. Med. Food, 2016, 19(5): 495-503
- [2] Alkhatatbeh M J, Lincz L F, Thorne R F. Low simvastatin concentrations reduce oleic acid induced steatosis in HepG₂ cells: An *in vitro* model of non-alcoholic fatty liver disease [J]. Exp. Ther. Med., 2016, 11(4): 1487-1492
- [3] Liu L, Zhao J, Li Y, et al. Artemisia capillaris formula inhibits hepatic steatosis via an miR 122 induced decrease in fatty acid synthase expression *in vivo* and *in vitro* [J]. Mol. Med. Rep., 2016, 13(6): 4751-4758
- [4] Luo L P, Cheng F Q, Ji L, et al. Chemical constituents of physalis pubescens [J]. China Journal of Chinese Material Medica, 2015, 40(22): 4424-4427
- [5] Zhang W N, Tong W Y. Chemical constituents and biological activities of plants from the genus physalis [J]. Chem. Biodivers., 2016, 13(1): 48-65
- [6] Xu Y M, Bunting D P, Liu M X, et al. 17 β -Hydroxy-18-acetoxywithanolides from aeroponically grown physalis crassifolia and their potent and selective cytotoxicity for prostate cancer cells [J]. J. Nat. Prod., 2016, 79(4): 821-830
- [7] 徐斌,马洪波,张岚,等.酸浆水提物对高脂膳食大鼠肝脏及血脂水平影响[J].中国公共卫生,2016,32(1):88-90
- [8] XU Bin, MA Hong-bo, ZHANG Lan, et al. Effects of physalis alkekengi water extraction on liver and blood lipid levels of rats with high fat diet [J]. China Public Health, 2016, 32(1): 88-90
- [9] 王冬梅,安英,徐斌.酸浆对高脂血症大鼠的抗氧化功能研究[J].吉林医药学院学报,2013,34(2):99-101
- [10] WANG Dong-mei, AN Ying, XU Bin. Research on antioxidant effect of *Physalis* on hyperlipidemia in rats [J]. Journal of Jilin Medical College, 2013, 34(2): 99-101
- [11] Khan W, Bakht J, Shafi M. Antimicrobial potentials of different solvent extracted samples from *Physalis ixocarpa* [J]. Pak. J. Pharm.Sci. 2016, 29(2): 467-475
- [12] 袁勇,黄建安,徐小江,等.茯茶中金花孢子粉提取物对体外诱导的非酒精性脂肪肝细胞内甘油三酯代谢的影响[J].茶叶科学,2011,31(2):129-135
- [13] YUAN Yong, HUANG Jian-an, XU Xiao-jiang, et al. Effects of jinhua spores extracts in fu tea on metabolizability of intracellular triglyceride of non-alcoholic fatty liver cells induced *in vitro* [J]. Journal of Tea Science, 2011, 31(2): 129-135
- [14] 胡启蒙,陈朝银,庄馨英,等.建立 L-02 肝细胞脂肪变模型方法比较及脂肪乳诱导脂变条件的优化[J].中国医学物理学杂志,2015,32(4):469-473
- [15] HU Qi-meng, CHEN Chao-yin, ZHUANG Xin-ying, et al. Assessment on different methods for establishing hepatocyte L-02 steatosis models and optimization of the steatosis induced by medical fat emulsion [J]. Chinese Journal of Medical Physics, 2015, 32(4): 469-473
- [16] 廖于,李龙辉,左国庆,等.体外诱导的酒精性脂肪肝细胞模型的建立鉴定及机制探讨[J].重庆医学,2010,39(8):902-904
- [17] LIAO Yu, LI Long-hui, ZUO Guo-qing, et al. Establishment and identification of alcohol induced steatotic hepatocytes model [J]. Chongqing Medical Journal, 2010, 39(8): 902-904
- [18] 代会敏,刘春晓,马洪波.植物化学物的降脂功效[J].吉林医药学院学报,2015,36(5):384-387
- [19] DAI Hui-min, LIU Chun-xiao, MA Hong-bo. The lipid-lowering efficacy of plant chemicals [J]. Journal of Jilin Medical College, 2015, 36(5): 384-387
- [20] 曾艳波,梅文莉,董文化,等.长春花 4 种提取物肝癌细胞毒活性的研究[J].热带农业科学,2012,32(9):41-43
- [21] ZENG Yan-bo, MEI Wen-li, DONG Wen-hua, et al. Cytotoxic activity of four kinds of extracts of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. against human hepatoma cells [J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2012, 32(9): 41-43

[15] Pinto L A, Meira C S, Villarreal C F, et al. Physalis and physaloids: A recent and complex evolutionary history [J].

Mol. Phylogenet. Evol., 2016, 5(10): 41-50

现代食品科技