

# 对高糖损伤 HBZY-1 细胞具有保护作用的天然植物提取物的筛选及其抗炎活性研究

孙文佳<sup>1,2,3</sup>, 杜方岭<sup>1,2</sup>, 刘玮<sup>1,2</sup>, 徐同成<sup>1,2</sup>, 闵伟红<sup>3</sup>, 邱斌<sup>1,2</sup>

(1. 山东省农产品精深加工技术重点实验室, 山东济南 250100) (2. 山东省农业科学院农产品研究所, 山东济南 250100) (3. 吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林长春 130118)

**摘要:** 研究从五种药食同源植物及丹参的提取物中筛选出对高糖诱导 HBZY-1 细胞具有抗炎作用的活性物质。利用 MTT 法检测细胞增殖活性进行初步筛选, 采用微板法检测 LDH、TNOS 和 iNOS 含量, 硝酸还原酶法检测 NO 含量, ELISA 法检测检测 ET-1 含量, 苏木素伊红 (HE) 染色细胞并观察细胞形态学差异变化。结果表明: 枸杞多糖、桑叶黄酮及银杏叶黄酮的提取物对高糖损伤的 HBZY-1 细胞增殖保护作用均呈现浓度依赖型, 最佳作用浓度分别为 400  $\mu\text{g/mL}$ 、350  $\mu\text{g/mL}$  及 125  $\mu\text{g/mL}$ 。以上三种提取物均能抑制细胞分泌 LDH、ET-1、iNOS, 促进 NO 表达, 且银杏叶黄酮提取物组 LDH 生成量为 717.86 U/g prot, 接近阳性对照, NO 生成量为 16.14  $\mu\text{mol/L}$ , 优于阳性对照, 桑叶黄酮提取物组 ET-1 生成量为 26.42 pg/mL, 优于阳性对照, 皆能保护并维持良好的细胞形态。本试验得到的三种活性物质对高糖诱导 HBZY-1 细胞损伤具有抗炎作用, 可以作为改善肾脏疾病患者健康状况的保健类食品原料。

**关键词:** 高糖; 肾小球系膜细胞; 活性物质

文章编号: 1673-9078(2017)5-33-38

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.5.006

## Screening and Anti-inflammatory Activities of Natural Plant Extracts with a Protective Effect against High-glucose-induced Injury to HBZY-1 Cells

SUN Wen-jia<sup>1,2,3</sup>, DU Fang-ling<sup>1,2</sup>, LIU Wei<sup>1,2</sup>, XU Tong-cheng<sup>1,2</sup>, MIN Wei-hong<sup>3</sup>, QIU Bin<sup>1,2</sup>

(1. Shandong Provincial Key Laboratory of Agro-Products Processing Technology, Jinan 250100, China)

(2. Institute of Agro-Food Science and Technology, Shandong Academy of Agricultural Science, Jinan 250100, China)

(3. College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

**Abstract:** Active ingredients (from the extracts of five functional food plants and *Salvia*) with an anti-inflammatory effect on high-glucose-induced injury to HBZY-1 cells were screened here. The 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay was used to measure cell proliferation in the initial screening, and lactate dehydrogenase (LDH), total nitric oxide synthase (TNOS), and inducible nitric oxide synthase (iNOS) were quantified by the microplate method. The concentrations of nitric oxide (NO) and endothelin (ET-1) were determined by the nitrate reductase method and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), respectively. Hematoxylin and eosin (HE) staining was used for examining morphological changes in these cells. The results showed that the extracts of polysaccharides from *Lycium barbarum* (LBP), flavonoids from mulberry leaves, and flavonoids from *Ginkgo biloba* leaves had a protective effect against the high-glucose-induced proliferation of HBZY-1 cells in a concentration-dependent manner. The optimal concentrations of the three extracts were 400, 350, and 125  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. The three above-mentioned extracts inhibited the secretion of LDH, ET-1, and iNOS and promoted the production of NO. In addition, the amount of LDH yielded by the extract of *Ginkgo biloba* leaves was 717.86 U/(g prot), which was close to that of the positive control, and the production of NO was 16.14  $\mu\text{mol/L}$ , which was higher than that of the positive control. The amount of ET-1 yielded by the extract of mulberry leaves was 26.42 pg/mL, which was higher than that of the positive control. All the three extracts protected and maintained cell morphology well. All the three active ingredients in this experiment were found to have an anti-inflammatory effect on the HBZY-1 cell injury induced by a high concentration of glucose and can be used as functional food ingredients for improving the health of patients with renal disease.

**Key words:** high glucose; glomerular mesangial cell; HBZY-1; active ingredient

收稿日期: 2016-8-03

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31401487); 山东省农业科学院科技创新重点项目 (2014CXZ03)

作者简介: 孙文佳 (1990-), 女, 硕士, 主要从事生物转化与利用研究; 通讯作者: 邱斌 (1982-), 男, 博士, 助理研究员, 主要从事食品营养研究

肾小球系膜细胞 HBZY-1(Mesangial cells, MCs) 是肾脏原有的细胞,对维持肾小球毛细血管壁的完整性与系膜基质代谢平衡起到了重要的作用。在诸多的肾脏疾病的开始至发展阶段,肾小球系膜细胞都具有形态和功能上的变化<sup>[1,2]</sup>,因此 HBZY-1 经常用于肾脏疾病的体外研究。高浓度血糖在机体内对易受损害的肾脏细胞作用明显,尤其容易损伤肾小球系膜细胞,其损伤程度可以独立地与糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)患者肾功能损害程度相关。已知肾脏系膜细胞可产生内皮素(ET-1),反过来受其影响调控血管收缩功能,肾小球系膜周围的毛细血管主要通过过滤生物代谢物调控肾小球功能,当受到 ET-1 影响,肾小球功能失调。内皮素通过刺激系膜细胞的增生导致系膜基质增多,最终引发肾小球病变<sup>[3]</sup>。在 DN 肾小球硬化过程中,肾脏系膜细胞分泌的 NO 起到舒张血管的作用,当 NO 含量降低时,肾小球硬化加剧, NOS 作为限速酶影响内源性 NO 的生成<sup>[4-6]</sup>,炎症因子-乳酸脱氢酶(LDH)被系膜细胞释放到细胞外,可改变细胞膜通透性,在一定程度上可以反映肾脏受炎症损伤的程度<sup>[7,8]</sup>。

山药、枸杞、桑叶、桔梗、银杏叶属于药食同源类植物,丹参属药用植物,鉴于其活性物质山药多糖、枸杞多糖、桑叶多糖被报道具有降血糖、降血脂、降血压生理活性<sup>[9-11]</sup>,桑叶黄酮、银杏叶黄酮及丹参总黄酮被报道有降血糖、降胆固醇、抗应激、抗衰老和抗凝血等功效<sup>[12-14]</sup>,桔梗皂苷对糖尿病及糖尿病并发症有一定的预防和治疗作用<sup>[15]</sup>。为了探讨以上各种活性物的作用机制,本研究以肾小球系膜细胞为实验对象,探究不同活性物质对高糖诱导肾小球系膜细胞释放 LDH、NO、ET-1、TNOS 和 iNOS 的影响,筛选出具有高效抗炎作用的活性物质。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 药材及细胞株

五种药食同源植物(山药、枸杞、桑叶、银杏叶和桔梗)购自济南建联中药房;丹参来自山东省农业科学院农产品研究所药用植物室播种;大鼠肾小球系膜细胞(HBZY-1)由山东大学提供。

#### 1.1.2 主要试剂

四甲基偶氮唑蓝(MTT)(南京凯基生物科技);低糖 DMEM 培养基、胰蛋白酶(Hyclone);胎牛血清(四季青);盐酸曲美他嗪(天津红日药业有限公司);人内皮素 1 (human Endothelin 1, ET-1)(武汉优尔生);

乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、一氧化氮(nitric oxide, NO)和一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,苏木素伊红(HE)染色试剂盒购自碧云天生物技术研究所,其余均为国产试剂(分析纯)。

#### 1.1.3 仪器

CO<sub>2</sub> 培养箱(美国 Sheldon 公司, Eppendorf AG);倒置显微镜(Olympus, 1×70-81FZ);酶标仪(美国伯乐公司, 680);冷冻离心机(Sigma 公司, 2K15 型);紫外可见分光光度计(日本岛津, UV-1901)。

## 1.2 方法

### 1.2.1 天然植物提取物的制备及纯度测定

实验室参考已报道的成熟方法自制山药多糖提取物<sup>[16]</sup>、枸杞多糖提取物<sup>[17]</sup>、桑叶多糖提取物<sup>[18]</sup>,桔梗皂苷提取物<sup>[19]</sup>、银杏叶黄酮提取物<sup>[20]</sup>、桑叶黄酮提取物<sup>[21]</sup>和丹参酮提取物<sup>[22]</sup>。

各提取物中有效活性物质含量测定:利用苯酚-硫酸法<sup>[16-18]</sup>测总多糖含量,测得山药多糖提取物含多糖 46.75%,枸杞多糖提取物含多糖 61.24%,桑叶多糖提取物含多糖 48.43%;利用香草醛-硫酸比色法<sup>[23]</sup>测定总皂苷含量,测得桔梗皂苷提取物含皂苷 18.94%;利用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠比色法<sup>[20,21]</sup>测定总黄酮含量,测得银杏叶黄酮提取物含黄酮 38.08%,桑叶黄酮提取物含黄酮 32.49%;采用紫外分光光度法<sup>[24]</sup>测总丹参酮含量,测得丹参酮提取物含总丹参酮 14.42%。

### 1.2.2 细胞培养及实验分组

用含 10% FBS 的低糖 DMEM 培养 HBZY-1 细胞于 5% CO<sub>2</sub>、37 °C、饱和湿度条件下,待细胞长至 80% 融合时,用 0.25% 胰酶消化传代,调整细胞悬液为 1×10<sup>5</sup> 个/mL,接种于 96 孔板中,待细胞长至融合时,换无 FBS 培养基培养 6 h,按实验分组进行处理,处理完后每孔加入浓度为 5 mg/mL 的 MTT 20 μL,反应 4 h 后,将培养液吸出,每孔加入 150 μL 的 DMSO,在 490 nm 下测吸光值。实验分组:(1)正常培养对照组,培养液始终为低糖 DMEM;(2)阳性对照处理组,低糖 DMEM 中加入三七皂苷<sup>[25,26]</sup>(终浓度为 100 μmol/L)预处理 12 h,再加葡萄糖(终浓度为 45 mmol/L)作用 24 h。(3)高糖损伤组,低糖 DMEM 中加葡萄糖(终浓度为 45 mmol/L)作用 24 h;(4)枸杞多糖提取物处理组,先用含枸杞多糖 250、325、400 μg/mL 的低糖 DMEM 分别预处理 12 h,再加葡萄糖(终浓度为 45 mmol/L)作用 24 h;(5)山药多糖提取物处理组,其作用浓度分别为 125、250、500

$\mu\text{g/mL}$ , 后续处理方法同第(4)组; (6) 桑叶多糖提取物处理组, 其作用浓度分别为 125、250、500  $\mu\text{g/mL}$ , 后续处理方法同第(4)组; (7) 桑叶黄酮提取物处理组, 其作用浓度分别为 250、300、350  $\mu\text{g/mL}$ , 后续处理方法同第(4)组; (8) 银杏叶黄酮处理组, 其作用浓度分别为 62.5、93.75、125  $\mu\text{g/mL}$ , 后续处理方法同第(4)组; (9) 丹参酮提取物处理组, 其作用浓度分别为 125、250、500  $\mu\text{g/mL}$ , 后续处理方法同第(4)组; (10) 桔梗皂苷提取物处理组, 其作用浓度分别为 62.5、93.75、125  $\mu\text{g/mL}$ , 后续处理方法同第(4)组。

### 1.2.3 培养液中 LDH、NO、ET-1 的测定

细胞以每孔 3 mL、 $1 \times 10^5$  个/mL 接种于 6 孔板, 长至融合后, 换无 FBS 培养基培养 6 h, 将 1.2 试验中筛选出的活性物质处理细胞 12 h, 再加葡萄糖(终浓度为 45 mmol/L)作用 24 h, 收集上清液, 采用微板法检测各组 LDH、NO 含量, ELISA 法检测检测各组 ET-1 含量。

### 1.2.4 细胞分泌 TNOS、iNOS 的测定

细胞以每孔 3 mL、 $1 \times 10^5$  个/mL 接种于 6 孔板, 长至融合后, 换无 FBS 培养基培养 6 h, 将 1.2 试验中筛选出的活性物质处理细胞 12 h, 再加葡萄糖(终浓度为 45 mmol/L)作用 24 h, 收集细胞裂解液, 采用微板法检测各组 TNOS、iNOS 的含量。

### 1.2.5 细胞形态学观察

细胞以每孔 3 mL、 $1 \times 10^5$  个/mL 接种于 6 孔板, 长至融合后, 换无 FBS 培养基培养 6 h, 将 1.2 试验中筛选出的活性物质处理细胞 12 h, 再加葡萄糖(终浓度为 45 mmol/L)作用 24 h, 按照苏木素伊红染色试剂盒说明处理, 在倒置显微镜下观察细胞形态。

### 1.2.6 统计学方法

采用 SPSS17.0 对结果进行统计学分析, 数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )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 检验,  $p < 0.01$  为有统计学意义。

## 2 结果与讨论

### 2.1 七种活性物质对各组 HBZY-1 活力的影响

七种活性物质对各组 HBZY-1 活力的影响见图 1。细胞增殖实验是测定细胞保护作用的最普遍最适用的实验方法, 高血糖是导致糖尿病肾病的首要因素, 由图 1 可知, 与空白组相比, 受到高糖损伤的 HBZY-1 活力明显降低 ( $p < 0.01$ ), 与高糖损伤组相比较, 枸杞多糖提取物组、桑叶黄酮提取物组、银杏叶黄酮提取

物组、桔梗皂苷提取物组等天然活性成份处理的细胞组细胞活力显著提高 ( $p < 0.01$ )。丹参酮在高温与见光时变性, 极不稳定, 可能制备保存不当造成实验结果不理想。黄酮类与皂苷类皆是很强的抗氧化剂, 在化学试剂试验中也可以做还原剂, 有清除机体自由基的功效, 由细胞增殖实验结果发现枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物、银杏叶黄酮提取物、桔梗皂苷提取物皆能在高糖损伤下促进细胞增殖。

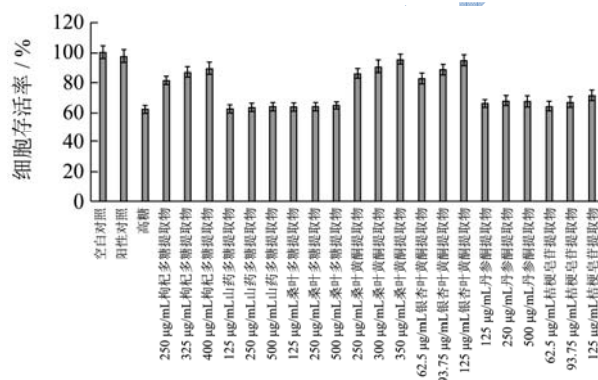


图 1 各组 HBZY-1 细胞活力检测结果

Fig.1 Results of measurement of viability of HBZY-1 cells in each group (n=6,  $\bar{x} \pm s$ )

### 2.2 枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物、银杏

叶黄酮提取物和桔梗皂苷提取物对各组细胞上清液中 LDH、NO、ET-1 的影响

枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物、银杏叶黄酮提取物和桔梗皂苷提取物对各组细胞上清液中 LDH、NO、ET-1 的影响见表 1。

血清 LDH 活性水平在一定水平反映了富含 LDH 细胞的增殖、代谢等生物学性状, 内皮素 (ET-1) 是血管内皮损伤的标志性物质<sup>[27,28]</sup>, NO 是血管扩张剂, 反映了细胞受损程度。如表 1 所示, 高糖损伤组上清液中 LDH、ET-1 明显提高, NO 显著降低 ( $p < 0.01$ ), 可知当高糖单独作用时, 细胞出现损伤, 细胞膜的通透性改变或被破坏; 较之高糖处理组, 枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物及银杏叶黄酮提取物对降低 LDH、ET-1 表达, 提高 NO 含量均有非常显著效果 ( $p < 0.01$ ), 但桔梗皂苷提取物对 ET-1 的含量影响不明显。可知枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物与银杏叶黄酮提取物在高糖损伤下仍具有抵抗炎症反应与保护细胞活力的效果, 且桑叶黄酮提取物与银杏叶黄酮提取物与阳性对照三七皂苷组无显著性差异, 然而桔梗皂苷对细胞炎症保护作用不明显, 可排除。



表1 活性物质对细胞上清液中 LDH、NO、ET-1 的影响

**Table 1 Effects of the active ingredients on LDH, NO, and ET-1 levels in the cell supernatant (n=6,  $\bar{x}\pm s$ )**

组别	药物浓度/( $\mu\text{g/mL}$ )	LDH/(U/g prot)	NO/( $\mu\text{mol/L}$ )	ET-1/(pg/mL)
空白对照		649.09 $\pm$ 23.48	17.73 $\pm$ 0.57	25.17 $\pm$ 0.98
阳性对照		681.99 $\pm$ 15.16 $\Delta\Delta$	16.34 $\pm$ 0.75 $\Delta\Delta$	26.47 $\pm$ 1.25 $\Delta\Delta$
高糖		2365.4 $\pm$ 212.08 $\Delta\Delta$	2.53 $\pm$ 0.82 $\Delta\Delta$	31.28 $\pm$ 1.92 $\Delta\Delta$
枸杞多糖	400	849.45 $\pm$ 35.79 $\Delta\Delta$	13.55 $\pm$ 1.11 $\Delta\Delta$	27.98 $\pm$ 0.55 $\Delta\Delta$
桑叶黄酮	350	776.61 $\pm$ 37.56 $\Delta\Delta$	15.03 $\pm$ 0.75 $\Delta\Delta$	26.42 $\pm$ 0.82 $\Delta\Delta$
银杏叶黄酮	125	717.86 $\pm$ 31.64 $\Delta\Delta$	16.14 $\pm$ 0.14 $\Delta\Delta$	26.88 $\pm$ 1.33 $\Delta\Delta$
桔梗皂苷	125	2150.15 $\pm$ 186.5 $\Delta\Delta$	4.37 $\pm$ 0.6 $\Delta\Delta$	31.17 $\pm$ 0.98 $\Delta\Delta$

注: 与空白组比较, \* $p$ <0.05, \*\* $p$ <0.01; 与高糖组比较,  $\Delta p$ <0.05,  $\Delta\Delta p$ <0.01。

### 2.3 枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物、银杏叶黄酮提取物和桔梗皂苷提取物对各组细胞分泌 TNOS、iNOS 的影响

枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物、银杏叶黄酮提取物和桔梗皂苷提取物对各组细胞分泌 TNOS、iNOS 的影响见图 2。

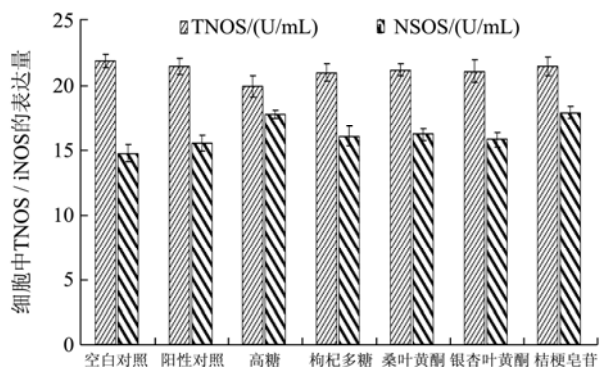


图2 各种活性物质对细胞分泌 TNOS、iNOS 的影响

**Fig.2 Effects of the active ingredients on the TNOS and iNOS expression levels in HBZY-1 cells (n=6,  $\bar{x}\pm s$ )**

NOS 作为限速酶影响 NO 的生成, 因为 iNOS 过量表达, 直接降低 NO 的生产, 最终导致细胞和组织损伤, 当 NOS 分泌量相差不大时, iNOS 表达量反映了细胞受损程度。由图 2 可知, 与空白组相比, 高糖损伤后, HBZY-1 细胞内 iNOS 含量有明显的提升, ( $p$ <0.01), 说明高浓度葡萄糖刺激 HBZY-1 会抑制 NO 渗出, 促进 iNOS 表达, 诱导细胞炎症反应; 较之高糖处理组, 枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物及银杏叶黄酮提取物组 iNOS 含量显著降低 ( $p$ <0.01), 说明枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物与银杏叶黄酮提取物均对高糖诱导的 iNOS 表达具有相反的作用, 在一定程度上能达到保护血管, 舒张血管的目的。但其中桔梗皂苷提取物组分泌 iNOS 量与正常组和其他组

相比都显著增加 ( $p$ <0.01), 说明桔梗皂苷对细胞炎症几乎无保护作用。

### 2.4 细胞形态学观察

枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物、银杏叶黄酮提取物和桔梗皂苷提取物对高糖诱导下细胞形态的影响见图 3。

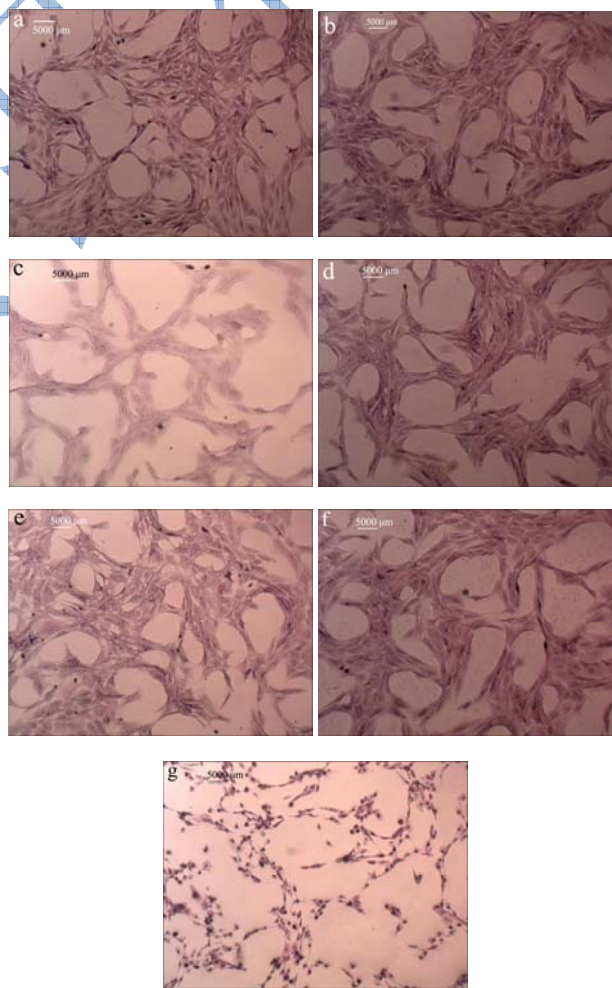


图3 不同活性物质对细胞形态的影响

**Fig.3 Effects of the active ingredients on cell morphology (1000 $\times$ )**

注: a, 无处理细胞形态; b, 阳性对照; c, 45 mmol/L 高糖处理; d, 400  $\mu\text{g/mL}$  枸杞多糖提取物+高糖处理; e, 350  $\mu\text{g/mL}$  桑叶黄酮提取物+高糖处理; f, 125  $\mu\text{g/mL}$  银杏叶黄酮提取物+高糖处理; g, 125  $\mu\text{g/mL}$  桔梗皂苷提取物+高糖处理。

为了进一步观察并验证以上实验结果, 利用倒置显微镜观察不同处理后的细胞形态。由上图 3 可知, 当培养条件正常时, 细胞呈单层生长, 呈星状或纺锤状并伴有不规则突起。高糖损伤后, 细胞失去正常形态, 边缘模糊, 缺乏立体感, 不规则突起消失, 数量减少不密集。枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物、银杏叶黄酮提取物保护作用明显, 与正常细胞组形态相似, 较之高糖组有更多的触角与数量, 同时也更为立体。桔梗皂苷提取物对细胞保护作用不明显, 细胞变小皱缩, 数量减少。说明枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物与银杏叶黄酮提取物均对高糖诱导的 HBZY-1 细胞损伤具有保护作用, 能保持良好的细胞形态。

### 3 结论

由细胞增殖实验结果发现枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物、银杏叶黄酮提取物皆能在高糖损伤下促进细胞增殖。检测各组细胞上清液中 LDH、NO、ET-1 等炎症因子的表达, 结果发现, 较之高糖处理组, 枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物及银杏叶黄酮提取物对降低 LDH、ET-1 表达, 提高 NO 含量均有非常显著效果。通过检测细胞内分泌 TNOS、iNOS 的表达, 说明枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物与银杏叶黄酮提取物均对高糖诱导的 iNOS 表达具有抑制作用, 在一定程度上能达到保护血管, 舒张血管的目的。细胞形态学观察结果可知, 枸杞多糖、桑叶黄酮、银杏叶黄酮保护作用明显, 与正常细胞组形态相似, 较之高糖组有更多的触角与数量, 同时也更为立体。说明枸杞多糖提取物、桑叶黄酮提取物与银杏叶黄酮提取物均对高糖诱导的 HBZY-1 细胞损伤具有保护作用, 能保持良好的细胞形态。本文筛选到的三种提取物可作为糖尿病肾病的潜在新药并有待进一步研发。

### 参考文献

- [1] Duran-Salgado M B, Rubio-Guerra A F. Diabetic nephropathy and inflammation [J]. World J. Diabetes, 2014, 5(3): 393-398
- [2] Reidy K, Kang H M, Hostetter T, et al. Molecular mechanisms of diabetic kidney disease [J]. The Journal of Clinical Investigation, 2014, 124(6): 2333-2340
- [3] 陈建康, 邹万忠. 内皮素与肾小球系膜细胞的关系[J]. 中华病理学杂志, 1996, 25(4): 206-208
- [4] CHEN Jian-kang, ZOU Wan-zhong. Interrelationship between endothelin and glomerular mesangial cells [J]. Chinese Journal of Pathology, 1996, 25(4): 206-208
- [5] 杨汉, 金丽娟, 伊小林, 等. 小鼠肠缺血再灌注时肝组织一氧化氮的变化[J]. 中国病理生理杂志, 2001, 17(5): 434-460
- [6] YANG Han, JIN Li-juan, YI Xiao-lin, et al. Change of nitric oxide in liver tissue during intestinal ischemia-reperfusion in mice [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2001, 17(5): 434-460
- [7] Khan B V, Harrison D G, Olbrych M T, et al. Nitric oxide regulates vascular cell adhesion molecule gene expression and redox-sensitive transcriptional events in human vascular endothelial cells [J]. Proc. Ncad. Sci. USA, 1996, 93(17): 9113-9119
- [8] Anctil M, Poulain I, Pelletier C. Nitric oxide modulates peristaltic muscle activity associated with fluid circulation in the sea pansy renilla koellikeri [J]. Journal of Experimental Biology, 2005, 208(10): 2005-2017
- [9] 张剑, 王京华, 刘娟, 等. 常见血液病患者乳酸脱氢酶测定的临床意义[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2006, 40(6): 504-505
- [10] ZHANG Jian, WANG Jing-hua, LIU Juan, et al. The clinical value of ldh measurement in patients with common hematological diseases [J]. Journal of Harbin Medical University, 2006, 40(6): 504-505
- [11] 巩国亭, 管洪在, 郭小芳, 等. 急性淋巴细胞性白血病患者血清 IL-12、IFN- $\gamma$  及 LDH 测定的临床意义[J]. 山东医药, 2007, 47(4): 5-6
- [12] GONG Guo-ting, GUAN Hong-zai, GUO Xiao-fang, et al. The clinical significance of the detection of serum IL-12, IFN- $\gamma$  and LDH in patients with acute lymphocyte leukemia [J]. Shandong Medical Journal, 2007, 47(4): 5-6
- [13] 黄凌, 谢少芳, 张丽. 山药多糖对糖尿病肾病大鼠肾功能及肾 MCP-1 表达的影响[J]. 中国热带医学, 2013, 13(12): 1456
- [14] HUANG Ling, XIE Shao-fang, ZHANG Li. Effect of *Rhizoma Dioscorea* polysaccharide on renal function and MCP-1 expression in kidney of diabetic nephropathy rats [J]. China Tropical Medicine, 2013, 13(12): 1456
- [15] 左红举, 喇万英. 枸杞多糖的降血糖作用及对糖尿病并发症的研究现状和展望[J]. 西部中医药, 2009, 22(4): 77-79
- [16] ZUO Hong-ju, LA Wan-ying. Hypoglycemic effect of LBP and research status and prospects of the complications of diabetes [J]. Gansu Journal of TCM, 2009, 22(4): 77-79
- [17] 陈建国, 步文磊, 来伟旗, 等. 桑叶多糖降血糖作用及其机制研究[J]. 中草药, 2011, 42(3): 519
- [18] CHEN Jian-guo, BU Wen-lei, LAI Wei-qi, et al.

- Hypoglycemic effects and mechanism of mulberry leaves polysaccharide [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2011, 42(3): 519
- [12] 刘洪,高明殿,夏美娜,等.银杏黄酮对糖尿病肾病大鼠的肾保护作用及机制探讨[J].山东医药,2013,53(32):30-32  
LIU Hong, GAO Ming-dian, XIA Mei-na, et al. Discussion on protective effect and mechanism of diabetic nephropathy rats by flavonoids [J]. Shandong Medical Journal, 2013, 53(32): 30-32
- [13] 刘英华,薛长勇,王甄,等.桑叶黄酮对小鼠餐后血糖的影响及  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制作用[J].中华预防医学杂志,2009, 43(1):80-81  
LIU Ying-hua, XUE Chang-yong, WANG Jin, et al. Effect of mulberry leaves flavonoids on postprandial hyperglycemia in mice and its inhibition of  $\alpha$ -glucosidase [J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2009, 43(1): 80-81
- [14] 李敬,苏保林.丹参酮对糖尿病肾病患者凝血功能及炎症因子的影响[J].湖南中医杂志,2013,29(7):48-49  
LI Jing, SU Bao-lin. Effects of tanshinone on coagulation and inflammatory factors of patients with diabetic nephropathy [J]. Hunan Journal of Traditional Chinese Medicine, 2013, 29(7): 48-49
- [15] 陈美娟,喻斌,江亚兵,等.桔梗水提醇沉上清部分对链脲菌素致糖尿病大鼠糖耐量影响的研究[J].中药药理与临床, 2010,26(1):52-55  
CHEN Mei-juan, YU Bin, JIANG Ya-bing, et al. Studying of grandiflorum water extraction and alcohol precipitation supernatant on glucose tolerance in diabetic rats induced by streptozotocin's [J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2010, 26(1): 52-55
- [16] 周垠辉,诸爱士,冯晟.山药多糖提取工艺研究[J].浙江科技学院学报,2009,21(4):323-326  
ZHOU Yin-hui, ZHU Ai-shi, FENG Sheng. Study on extraction technology of yam polysaccharide [J]. Journal of Zhejiang University of Science and Technology, 2009, 21(4): 323-326
- [17] 刘军海,任惠兰,李凤风,等.响应面分析法优化枸杞多糖提取工艺条件[J].时珍国医国药,2008,19(4):935-937  
LIU Jun-hai, REN Hui-lan, LI Feng-feng, et al. Optimization of extraction technology of lycium barbarum polysaccharide by response surface methodology [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2008, 19(4): 935-937
- [18] 王淑萍,田甜.桑叶多糖提取工艺优化研究[J].长春工程学院学报(自然科学版),2014,15(3):123-125  
WANG Shu-ping, TIAN Tian. Study on extraction technology of mulberry leaves polysaccharide [J]. Journal of Changchun Institute of Technology (Natural Science Edition), 2014, 15(3): 123-125
- [19] 徐丽萍,李笑梅,王鑫.响应曲面法优化桔梗皂甙提取工艺[J].食品科学,2010,31(12):49-52  
XU Li-ping, LI Xiao-mei, WANG Xin. Using response surface analysis for optimizing ultrasonic-assisted extraction of saponins from the roots of platycodon grandiflorum [J]. Food Science, 2010, 31(12): 49-52
- [20] 薛志彬,承伟.银杏叶黄酮提取工艺的优化[J].安徽农业科学,2011,39(10):5751-5752  
XUE Zhi-bing, CHENG Wei. Optimization of extraction process of flavonoids from *Ginkgo biloba* L. leaf [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(10): 5751-5752
- [21] 吴冬青,任雪峰,林敏,等.响应面分析法优化桑叶黄酮的提取工艺[J].食品研究与开发,2012,33(2):47-51  
WU Dong-qing, REN Xue-feng, LIN Min, et al. Using response surface analysis for optimizing ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from mulberry leaves [J]. Food Research and Development, 2012, 33(2): 47-51
- [22] 张霄翔,陈少兵,王艳萍.总丹参酮提取与纯化工艺研究[J].中药材,2008,31(3):431-434  
ZHANG Xiao-xiang, CHEN Shao-bing, WANG Yan-ping. Study on technical processes for extraction and purification of total tanshinones [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2008, 31(3): 431-434
- [23] 王键,陈婧.桔梗总皂苷含量测定方法研究[J].亚太传统医药,2014,10(15):30-31  
WANG Jian, CHEN Jing. Study on determination of total saponins in radix platycodonis [J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2014, 10(15): 30-31
- [24] 徐艳,相延英.丹参中总丹参酮含量测定[J].湖北中医杂志,2014,7:70-71  
XU Yan, XIANG Yan-ying. Determination of tanshinone in salvia miltiorrhiza bunge [J]. Hubei Journal of Traditional Chinese Medicine, 2014, 7: 70-71
- [25] 杜月光,章科娜,姜雪儿,等.三七皂苷对高糖诱导的大鼠肾小球系膜细胞保护作用及其机制研究[J].浙江中医药大学学报,2015,9:647-653  
DU Yue-guang, ZHANG Ke-na, JIANG Xue-er, et al. Protective effects and mechanisms of panax nologinoside on rat mesangial cells induced by high glucose [J]. Journal of Zhejiang Chinese Medical University, 2015, 9: 647-653
- [26] 李敬华,王素莉,沈继春,等.三七总皂苷对糖尿病肾病大鼠



- 肾功能的作用研究[J].中华实用诊断与治疗杂志,2015, 29(11):1075-1077
- LI Jing-hua, WANG Su-li, SHEN Ji-chun, et al. Effect of panax notoginsenosidum on the renal function in diabetic nephropathy rats [J]. Journal of Practical Diagnosis and Therapy, 2015, 29(11): 1075-1077
- [27] Kang Y S, Li Y, Dai C, et al. Inhibition of integrin-linked kinase blocks podocyte epithelial-mesenchymal transition and ameliorates proteinuria [J]. Kidney International, 2010, 78(4): 363-373
- [28] 李美花, 谌贻璞. 内皮素在大鼠系膜增生性肾小球肾炎中的表达[J]. 中华肾脏病杂志, 2000, 16(5): 300-302
- LI Mei-hua, CHEN Yi-pu. Expression of endothelin from rats with mesangial proliferative glomerulonephritis [J]. Chinese Journal of Nephrology, 2000, 16(5): 300-302

现代食品科技