

根皮素对硫代乙酰胺诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用

左爱仁, 吴莉, 舒青龙*

(江西中医药大学 中医学院, 江西 南昌 330006)

摘要: 本实验旨在研究根皮素对硫代乙酰胺诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用。采用硫代乙酰胺造模, 诱导小鼠急性肝损伤, 以槲皮素作为阳性对照药物, 通过检测血清学指标(丙氨酸氨基转移酶 ALT、天冬氨酸氨基转移酶 AST、 γ -谷氨酰转肽酶 γ -GT、碱性磷酸酶 ALP 和血清总胆红素 TB)和组织病理切片方法, 研究根皮素对小鼠急性肝损伤的保护作用。实验结果显示, 在预先灌胃高、低剂量根皮素组别中, 小鼠血清 ALT 活性分别为 (149.14 ± 21.55) U/L 和 (189.43 ± 16.64) U/L, AST 活性分别为 (123.58 ± 35.90) U/L 和 (168.64 ± 33.32) U/L。 γ -GT 活性分别为 (103.19 ± 20.93) U/L 和 (129.30 ± 27.91) U/L, ALP 活性分别为 (19.67 ± 3.32) King U/dL 和 (24.17 ± 3.58) King U/dL, 血清 TB 浓度分别为 (198.14 ± 29.64) μ mol/L 和 (227.04 ± 34.20) μ mol/L。相比于造模组, 根皮素组 ALT、AST、 γ -GT、ALP 和 TB 明显降低 ($n=8, p<0.05$), 而且降低幅度呈现剂量依赖性, 根皮素处理组的小鼠肝组织病理学病变得到了显著改善。研究表明, 根皮素对硫代乙酰胺诱导的小鼠急性肝损伤有显著的保护作用, 是值得进一步研究的急性肝损伤保护的候选药物和食品添加剂。

关键词: 根皮素; 硫代乙酰胺; 急性肝损伤; 肝保护作用

中图分类号: R 93 文章编号: 1673-1689(2021)10-0050-06 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2021.10.007

Hepatoprotective Effects of Phloretin on Thioacetamide-Induced Acute Liver Damage in Mice

ZUO Airen, WU Li, SHU Qinglong*

(School of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

Abstract: This study aimed to examine the hepatoprotective effects of phloretin on acute liver damage induced by thioacetamide (TAA) in Kunming mice. Quercetin was used as the positive control drug. The hepatoprotective effect was studied by means of serological index, including the serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), γ -glutamyl transferase (γ -GT), alkaline phosphatase (ALP), and total bilirubin (TB), as well as the

收稿日期: 2019-10-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(31560038, 81473455); 江西省自然科学基金项目(20171BAB205087); 江西省卫生计生委中医药基金项目(2017A288); 江西中医药大学 2018 年度博士科研启动金项目(2018WBZR006)。

作者简介: 左爱仁(1976—2021), 男, 博士, 副教授, 主要从事生物化学和药理学方面的研究。

* 通信作者: 舒青龙(1976—), 男, 博士, 教授, 主要从事生物化学方面的研究。E-mail: 276411076@qq.com

histopathological changes. In the groups with high and low doses of phloretin, the serum ALT activity was (149.14±21.55) U/L and (189.43±16.64) U/L, respectively, and the serum AST activity was (123.58±35.90) U/L and (168.64±33.32) U/L, respectively. The serum γ -GT activity was (103.19±20.93) U/L and (129.30±27.91) U/L, respectively, and the ALP activity was (19.67±3.32) King U/dL and (24.17±3.58) King U/dL, respectively. The total serum bilirubin contents were (198.14±29.64) mol/L and (227.04±34.20) mol/L, respectively. Compared with the model group, phloretin significantly prevented the increase in serum ALT, AST, γ -GT, ALP and TB in acute liver damage induced by TAA ($n=8$, $p<0.05$), and the decrease was dose-dependent. A significant reduction was produced in the histopathological hepatic lesions. The results showed that phloretin had good hepatoprotective activity on acute liver injury induced by thioacetamide in mice, and it could be considered as a candidate drug and food additive worthy of further study.

Keywords: phloretin, thioacetamide, acute liver damage, hepatoprotective effects

根皮素(phloretin)是具有二氢查尔酮类结构的黄酮类化合物,存在于苹果、梨和多种蔬菜汁液中。根皮素还是美白类中草药白蒺藜^[1]、白鲜皮^[2]的主要黄酮类活性成分。已有研究表明,根皮素具有很好的抗氧化、抑制酪氨酸酶、抗肿瘤、降血糖、保护血管等生物活性^[3-5]。根皮素可抗氧化、淡化色斑、使皮肤增白,其效果优于曲酸和熊果苷等,是目前化妆品中常用的美白剂。

急性肝损伤(acute liver damage)是一种极其常见的肝脏疾病,诱导因素主要有自由基、药物、酒精、免疫和病毒等原因,目前有效的临床预防和治疗方法是口服抗氧化剂和合理的药物支持治疗。AST和ALT是肝损伤的标志酶,在正常条件下,这些酶主要存在于细胞核和线粒体内。碱性磷酸酶(ALP)分布在肝细胞的毛细胆管侧和血窦侧的微绒毛上,当胆汁排出不畅、毛细胆管内压升高时,可诱发生成大量碱性磷酸酶。 γ -GT分布在肝细胞毛细胆管侧和整个胆管系统,总胆红素(TB)是判断黄疸程度的主要指标。因此,血清ALT、AST、 γ -GT、ALP和TB的含量广泛用来作为小鼠肝损伤程度的重要指标。

硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA)具有明显的肝细胞毒性,主要通过干扰mRNA从细胞核转移到细胞质,影响蛋白质的合成和肝细胞膜的完整性,导致肝细胞的损伤和坏死,是肝损伤的有效造模药物^[6]。硫代乙酰胺造成肝损伤小鼠的血清ALT、AST、 γ -GT、ALP和TB等明显升高,说明造模成功。

作者采用硫代乙酰胺造模,诱导小鼠急性肝损

伤,以槲皮素作为阳性对照药物,通过检测血清学指标(ALT、AST、 γ -GT、ALP和TB)和组织病理切片方法,研究根皮素对小鼠急性肝损伤的保护作用,为根皮素用于防治急性肝损伤提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

根皮素(纯度98%):购自陕西华泰精细化工有限公司;槲皮素(纯度99%):上海国药厂生产;硫代乙酰胺(纯度99%):上海国药厂生产;根皮素异烟酰基脒(纯度95%):作者所在实验室合成化合物;谷丙转氨酶、谷草转氨酶、碱性磷酸酶、总胆红素和 γ -GT测定试剂盒:均购自南京建成生物工程研究所;UV-2450紫外可见分光光度计:购自日本岛津公司;数显恒温水浴锅:购自国华电器有限公司;酸度计:购自上海精益公司。

健康雄性昆明种小白鼠,体质量平均30g,江西中医药大学实验动物中心提供,许可证号[SXYK(Jiangxi)2004-0001]。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组及处理 采用硫代乙酰胺造模,诱导小鼠急性肝损伤,再研究根皮素和槲皮素对小鼠急性肝损伤的保护作用。清洁级昆明小鼠,每组8只,分为7组,即A组正常对照组(等量蒸馏水灌胃)、B组造模组(硫代乙酰胺400mg/kg,腹腔注射)、C组根皮素异烟酰基脒低剂量组(灌胃344.66mg/kg,作者所在实验室合成的新化合物,因为很难获得高纯度化合物,所以只做了低剂量组,

用来比较药物的活性。)、D组根皮素高剂量组(灌胃 480 mg/kg)、E组根皮素低剂量组(灌胃 240 mg/kg)、F组槲皮素高剂量组(灌胃 529.7 mg/kg)、G组槲皮素低剂量组(灌胃 264.85 mg/kg)。药物灌胃,1次/d,连续7 d;除空白对照组外,其他6组于第7天用硫代乙酰胺 400 mg/kg 腹腔注射,造成急性肝损伤模型,24 h后采集血样。置室温中放置2 h,1 500 r/min 离心10 min,分离血清,于4 °C冰箱保存,按试剂盒说明测定小鼠血清 ALT、AST、ALP、 γ -GT 和总胆红素。

1.2.2 ALT、AST、ALP、 γ -GT 和总胆红素测定方法

ALT 和 AST 测定方法参照试剂盒的方法。测定管依次分别加入 0.1 mL 待测样本和 0.5 mL 基质液,混匀后于 37 °C 水浴 30 min,再加入 0.5 mL 2,4-二硝基苯胍液,混匀后 37 °C 水浴 20 min,加入 5 mL 0.4 mol/L 氢氧化钠溶液。对照管依次分别加入 0.5 mL 基质液,37 °C 水浴 30 min,再加入 0.5 mL 2,4-二硝基苯胍液和 0.1 mL 待测样本,混匀后,37 °C 水浴 20 min,加入 5 mL 0.4 mol/L 氢氧化钠液。测定管和对照管室温放置 10 min,505 nm 处蒸馏水调零,测定各管 OD 值,计算测定管减去对照管数值,查标准曲线,计算相应的酶活力单位数。标准曲线分别为:

$$\text{ALT: } Y=245.09X-15.218, R^2=0.9798$$

$$\text{AST: } Y=257.95X-7.9413, R^2=0.9413$$

碱性磷酸酶 ALP 测定方法参照试剂盒的方法,测定管依次分别加入 0.05 mL 待测样本和 0.5 mL 缓冲液;标准管依次分别加入 0.05 mL 的 0.1 mg/mL 酚标准液和 0.5 mL 缓冲液;空白管依次分别加入 0.05 mL 双蒸水和 0.5 mL 缓冲液。以上各试管充分混匀,于 37 °C 水浴 15 min,加 1.5 mL 显色剂。样品立即混匀后,以空白管调零,520 nm 处测定各管 OD 值,计算相应的酶活力。计算公式为:

$$\text{Kat}_{\text{碱性磷酸酶活力}} = \text{OD}_{\text{测定管}} / \text{OD}_{\text{标准管}} \times c_{\text{标准管}} (\text{mg/mL}) \times 5$$

γ -GT 测定方法参照试剂盒的方法。测定管依次分别加入 0.1 mL 待测样本和 2 mL 底物基质液,混匀后于 37 °C 水浴 10 min,加 0.2 mL 终止剂。对照管依次分别加入 0.1 mL 待测样本,37 °C 水浴 10 min,加 0.2 mL 终止剂,2 mL 底物基质液。样品混匀后,室温放置 5 min,410 nm 处蒸馏水调零,测定各管 OD 值,计算相应的酶活力。计算公式为:

$$\text{血清 } \gamma\text{-GT 酶活力 (U/L)} = (\text{OD}_{\text{测定管}} - \text{OD}_{\text{标准管}}) \times 232.56$$

血清总胆红素测定方法参照试剂盒的方法。空

白管依次分别加入 0.2 mL 待测样本、1.6 mL 咖啡因试剂和 0.4 mL 对氨基苯磺酸。总胆红素测定管依次分别加入 0.2 mL 待测样本、1.6 mL 咖啡因试剂和 0.4 mL 重氮试剂。各试管样品混匀后,室温放置 10 min,加入抑制剂 0.05 mL,再加入酒石酸钠溶液 1.2 mL。混匀后于 410 nm 处蒸馏水调零,测定各管 OD 值,查标准曲线,计算相应的血清总胆红素单位数。血清总胆红素计算公式为:

$$c_{\text{血清总胆红素}} (\mu\text{mol/L}) = \text{OD}_{\text{总胆红素管}} \times 228$$

1.2.3 组织病理学检查

取上述各组小鼠的肝左叶,浸泡在 10% 福尔马林溶液中,用于组织病理学检查。肝组织经过 10 个步骤连续脱水处理,用液体石蜡包埋,再用组织切片机切片,得到 3~5 μm 厚的组织切片。再经过 20 个步骤的连续处理(二甲苯、乙醇、苏木精染色和伊红染色等),获得可以用来显微镜观察的肝脏组织切片。通过显微镜,观察造模组肝脏损伤情况和药物处理组保护情况,主要包括中央静脉周围肝细胞变性和坏死、肝血窦的严重淤血、炎性细胞浸润、气球样变性、细胞边界的丧失等,并进行拍照,分析记录。

1.2.4 数据统计分析 采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据处理,数据以平均值 \pm 标准差表示,组间比较采用单因素方差分析 (analysis of variance, ANOVA),以 *P* 值表示统计学差异。

2 结果与分析

2.1 根皮素对血清 ALT 和 AST 活性的影响

以槲皮素作为阳性对照药物,使用硫代乙酰胺造模,根皮素和槲皮素对 ALT 和 AST 活性的影响见图 1(a) 和图 1(b)。在硫代乙酰胺造模组,血清 ALT、AST 活性分别是 (327.73 \pm 53.41) U/L ($n=8, P<0.01$) 和 (334.32 \pm 61.70) U/L ($n=8, P<0.01$),但是空白组血清 ALT、AST 活性分别是 (29.93 \pm 4.39) U/L 和 (35.33 \pm 15.27) U/L ($n=8$)。这些数据表明,硫代乙酰胺严重破坏肝细胞膜,造成大量 ALT 和 AST 释放到血液中。预先灌胃 1.754 mmol/kg 或 0.877 mmol/kg 根皮素组别中,小鼠血清 ALT 活性分别为 (149.14 \pm 21.55) U/L 和 (189.43 \pm 16.64) U/L,AST 活性分别为 (123.58 \pm 35.90) U/L 和 (168.64 \pm 33.32) U/L。相比于造模组,根皮素组 ALT、AST 明显降低 ($n=8, P<0.05$),而且降低幅度呈现剂量依赖性。高、低剂量组统计学差异明显, $P<0.05$;与低剂量组相比模型组

改善明显, $P < 0.05$ 。在相同的实验条件下,还测定了根皮素异烟酰基脒^[7-8]的数据。结果表明,在预先灌胃 0.877 mmol/kg 相同剂量时,活性顺序为根皮素异烟酰基脒>槲皮素>根皮素。

众所周知,血清 ALT、AST、 γ -GT、ALP 和 TB 的含量广泛用来作为小鼠肝损伤程度的重要指标^[9]。

硫代乙酰胺肝损伤模型,广泛用于诱导肝损伤、肝纤维化、肝硬化和肝癌^[10-11]。肝损伤的机制之一是大量生成自由基和过氧化物阴离子^[12]。硫代乙酰胺产生的氧化应激的生物转化可以在 12~24 h 后检测到,硫代乙酰胺产生的免疫毒性主要是肝脏产生的代谢物^[13]。

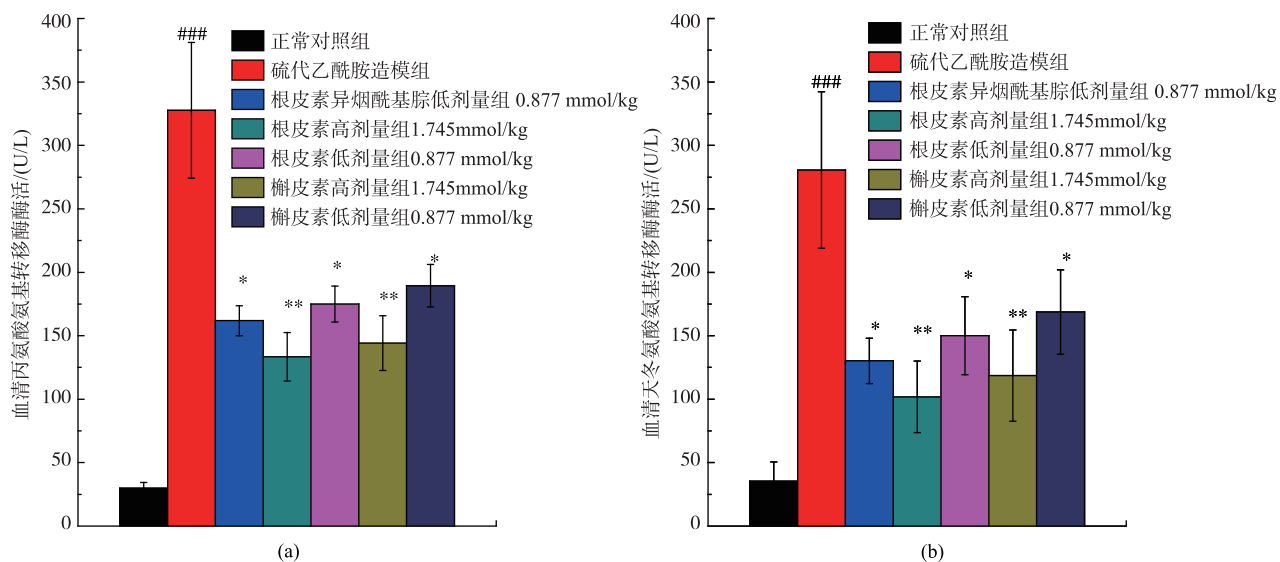


图 1 根皮素和槲皮素对小鼠血清 ALT(丙氨酸氨基转移酶)和 AST(天冬氨酸氨基转移酶)活性的影响

Fig. 1 Effects of phloretin and quercetin on serum ALT and AST activity in mice

2.2 根皮素对血清 γ -GT 和 ALP 活性的影响

在使用硫代乙酰胺造模时,根皮素和槲皮素对 γ -GT 和 ALP 活性的影响见图 2(a)和图 2(b)。

在硫代乙酰胺造模组,血清 γ -GT 活性是 (244.65 ± 48.84) U/L ($n=8, P < 0.01$),但是空白组血清 γ -GT 活性是 (61.16 ± 11.63) U/L ($n=8$)。在硫代乙酰胺造模组,血清 ALP 活性是 (41.51 ± 4.60) King U/dL ($n=8, P < 0.01$),但是空白组血清 ALP 活性是 (10.08 ± 1.53) King U/dL ($n=8$)。这些数据表明,硫代乙酰胺严重破坏肝细胞膜,造成大量 γ -GT 和 ALP 释放到血液中。预先灌胃 1.754 mmol/kg 或 0.877 mmol/kg 根皮素组别中,小鼠血清 γ -GT 活性分别为 (103.19 ± 20.93) U/L 和 (129.30 ± 27.91) U/L,ALP 活性分别为 (19.67 ± 3.32) King U/dL 和 (24.17 ± 3.58) King U/dL。相比于造模组,根皮素组 γ -GT 和 ALP 活性明显降低 ($n=8, P < 0.05$),而且降低幅度呈现剂量依赖性。高、低剂量组统计学差异明显, $P < 0.05$;而且低剂量组相比模型组改善明显, $P < 0.05$ 。在预先灌

胃 0.877 mmol/kg 相同剂量时,活性顺序为槲皮素>根皮素。

2.3 根皮素对血清总胆红素浓度的影响

在使用硫代乙酰胺造模时,根皮素和槲皮素对血清总胆红素浓度的影响见图 2(c)。在硫代乙酰胺造模组,血清总胆红素浓度是 (377.57 ± 43.32) μ mol/L ($n=8, P < 0.01$),但空白组血清总胆红素浓度为 (151.62 ± 15.96) μ mol/L ($n=8$)。这些数据表明,硫代乙酰胺严重破坏肝细胞膜,造成大量血清总胆红素释放到血液中。预先灌胃 1.754 mmol/kg 或 0.877 mmol/kg 根皮素组别中,小鼠血清总胆红素浓度分别为 (198.14 ± 29.64) μ mol/L 和 (227.04 ± 34.20) μ mol/L,相比于造模组,根皮素组血清总胆红素浓度明显降低 ($n=8, P < 0.05$),而且降低幅度呈现剂量依赖性。高、低剂量组统计学差异明显, $P < 0.05$;而且低剂量组相比模型组改善明显, $P < 0.05$ 。在预先灌胃 0.877 mmol/kg 相同剂量时,活性顺序为槲皮素>根皮素。

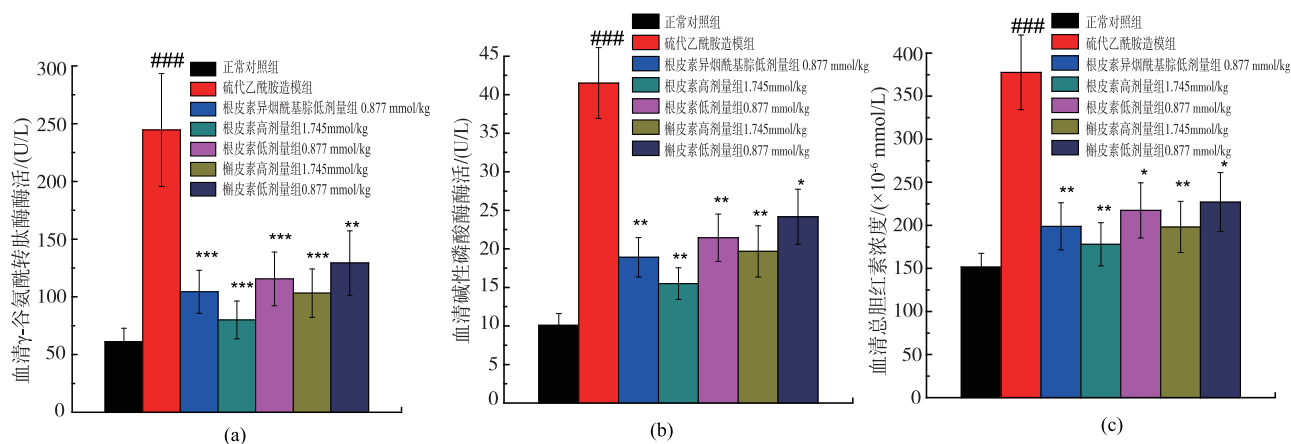


图2 根皮素和槲皮素对小鼠血清 γ -GT(γ -谷氨酰转氨酶),ALP(碱性磷酸酶)和TB(血清总胆红素)的影响

Fig. 2 Effects of phloretin and quercetin on serum γ -GT,ALP, and TB activity in mice

2.4 组织切片病理学观察

在使用硫代乙酰胺造模情况下,研究根皮素和槲皮素对肝细胞的保护作用,还可以通过组织病理学观察来检验。空白组小鼠肝切片显示正常肝细胞有保存完好的细胞质,显著的细胞核,可见中央静脉。硫代乙酰胺模型组小鼠的肝切片显示了广泛的肝损伤,表现为中度到重度的中央静脉周围肝细胞变性和坏死,离血管越近的细胞坏死越严重。肝血窦有严重的淤血,炎性细胞浸润,细胞边界丧失。然而,预处理了根皮素和槲皮素的小鼠肝组织病理学病变,得到了明显改善,见图3。

槲皮素被广泛用作研究肝损伤的阳性对照物。张洋^[4]等研究了纳米脂质体槲皮素对肝损伤大鼠保肝作用,认为槲皮素被制成纳米药物后提高了其对肝脏、脾脏的趋向性和肝靶向性。纳米脂质体槲皮素保护肝脏的机制是增强肝脏 SOD 和 GSH-Px 的活性、降低肝脏 MDA 水平、增强 Bcl-2 蛋白的表达和减弱 Bax 蛋白的表达。何娅娣^[5]等研究了槲皮素对四氯化碳诱导大鼠肝损伤的保护作用,结果表明槲皮素组较模型组的 ALT、AST 显著降低 ($P < 0.05$);肝细胞变性、坏死及炎症反应明显减轻。周晓娟^[6]等研究了槲皮素对大鼠慢性酒精性肝损伤的保护作用,表明槲皮素能降低酒精性肝损伤大鼠血清中 TG、ALT、AST 水平;降低肝组织中 MDA 含量、提高肝组织中 SOD 活性和 GSH 含量;肝组织病理结果显示槲皮素能改善酒精性肝损伤。

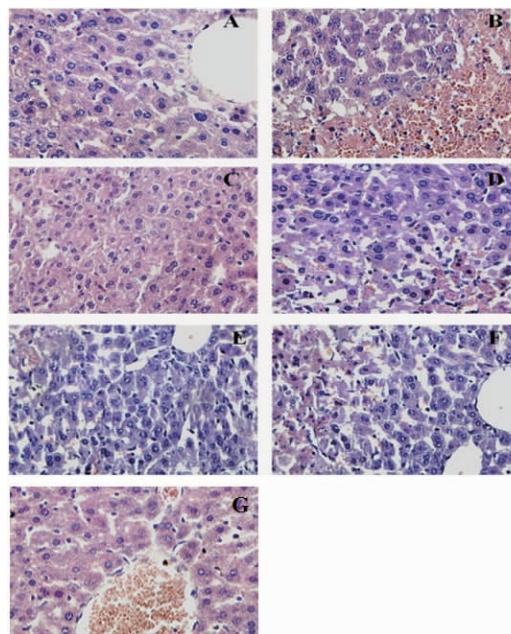


图3 根皮素和槲皮素对小鼠肝脏影响的 HE 染色切片病理学检查(400 \times)

Fig. 3 Representative photographs of liver sections stained with HE showing the pathological changes in hepatic tissues under microscopy (400 \times) to detect the effects of phloretin and quercetin on the liver histological damage after TAA treatment in mice

根皮素存在于苹果、梨和多种蔬菜汁液中,还是美白类中草药白蒺藜、白鲜皮的主要黄酮类活性成分。白蒺藜^[1](*Fructus tribuli*)为蒺藜科一年生或多年生草本植物蒺藜(*Tribulus terrestris* L.)的成熟果实,全国大部分地区均产,但长江以北较多。苦、辛、

平,入肝经,平肝解郁、祛风明目。白蒺藜皂苷具有抗衰老、抗疲劳、改善心脑血管系统和性功能等作用。白鲜皮^[2]为芸香科白鲜属植物白鲜(*Dictamnus dasycarpus* Turcz)的干燥根皮,主要分布于东北、华北、西北及华东等地,为历代本草及中国药典收载。白鲜皮属于多年生草本,全株有特殊的刺激味,其味苦性寒;归脾、胃、膀胱经;具有清热燥湿、祛风解毒、止痒等作用。

3 结 语

研究了根皮素对硫代乙酰胺诱导的小鼠急性

肝损伤的保护作用。采用硫代乙酰胺造模,诱导小鼠急性肝损伤,以槲皮素作为阳性对照药物,通过检测血清学指标(ALT、AST、 γ -GT、ALP 和 TB)和组织病理切片方法,研究根皮素对小鼠急性肝损伤的保护作用。结果显示,相比于模型组,根皮素处理组小鼠血清 ALT、AST、 γ -GT、ALP 和 TB 显著降低($P<0.05$),而且降低幅度呈现剂量依赖性。根皮素处理组的小鼠肝组织病理学病变得到了显著改善。研究表明,根皮素对硫代乙酰胺诱导的小鼠急性肝损伤有显著的保护作用,是值得进一步研究的急性肝损伤保护的候选药物和食品添加剂。

参考文献:

- [1] 王如意,陈光,喻长远. 白蒺藜果实的化学成分研究[J]. 北京化工大学学报,2009,36(1):79-82.
- [2] 周亚福,毛少利,李思峰. 白鲜的生物学和化学成分研究进展[J]. 中国农学通报,2013,29(7):65-69.
- [3] REZK B M,HAENEN G R,VAN DER VIJGH W J,et al. The antioxidant activity of phloretin:the disclosure of a new antioxidant pharmacophore in flavonoids[J]. **Biochemical and Biophysical Research Communications**,2002,295(1):9-13.
- [4] MILLER N J,DIPLOCK A T. Evaluation of the total antioxidant activity as a marker of the deterioration of apple juice on storage [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,1995,43(7):1794-1801.
- [5] JUGDÉ H,NGUY D,MOLLER I,et al. Isolation and characterization of a novel glycosyltransferase that converts phloretin to phlorizin, a potent antioxidant in apple[J]. **FEBS Journal**,2008,275(15):3804-3814.
- [6] 姜树民,刘冰,王宝柱,等. 保肝益胃合剂对硫代乙酰胺所致大鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中华中医药学刊,2008,26(10):2124-2125.
- [7] ZUO A R,YU Y Y,LI J,et al. Study on the relation of structure and antioxidant activity of isorhamnetin,quercetin,phloretin, silybin and phloretin isonicotinyl hydrazone[J]. **Free Radicals and Antioxidants**,2011,1(4):39-47.
- [8] ZUO A R,YU YY,SHU QL,et al. Hepatoprotective effects and antioxidant,antityrosinase activities of phloretin and phloretin isonicotinyl hydrazone[J]. **Journal of the Chinese Medical Association**,2014,77(6):290-301.
- [9] STURGILL M G,LAMBART G H. Xenobiotic-induced hepatotoxicity:mechanisms of liver damage and methods of monitoring hepatic function[J]. **Clinical Chemistry**,1997,43(8):1512-1526.
- [10] TSUKAMOTO H,MATSUOKA M,FRENCH S W. Experimental models of hepatic fibrosis:a review[J]. **Seminars in Liver Disease**,1990,10(2):56-65.
- [11] WASSER S,TAN C E. Experimental models of hepatic fibrosis in the rat[J]. **Annals Academy of Medicine Singapore**,1999,28(1):109-111.
- [12] WANG T,SHANKAR K,RONIS M J J,et al. Potentiation of thioacetamide liver injury in diabetic rats is due to induced CYP2E1 [J]. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**,2003,294(2):473-479.
- [13] LEE J W,SHIN K D,LEE M,et al. Role of metabolism by flavin-containing monooxygenase in thioacetamide-induced immunosuppression[J]. **Toxicology Letters**,2003,136(3):163-172.
- [14] 张洋. 纳米脂质体槲皮素对肝损伤大鼠保肝作用的研究[D]. 长沙:中南大学,2012.
- [15] 何娅娣,艾明,阳学风. 槲皮素对大鼠肝损伤保护作用的实验研究[J]. 杭州师范学院学报,2005,4(3):165-167.
- [16] 周晓娟,王超. 槲皮素对大鼠慢性酒精性肝损伤的保护作用[J]. 长江大学学报,2013,10(33):8-10.