

莲子心醇提取物抗四氯化碳诱导大鼠肝纤维化的实验研究

高天娇 董 蕾 史海涛 李显梅

摘要 目的 研究莲子心醇提取物对大鼠肝纤维化的保护作用并探讨其可能机制。**方法** 雄性 SD 大鼠 32 只,随机分为 4 组:正常对照组、模型组、莲子心高剂量组(浓度 1 000 mg/kg 的莲子心醇提取物按 10 mL/kg 灌胃,每日 1 次)、莲子心低剂量组(浓度 500 mg/kg 的莲子心醇提取物按 10 mL/kg 灌胃,每日 1 次),每组 8 只。采用四氯化碳(CCl_4)腹腔注射诱导大鼠肝纤维化。采用生化分析仪检测大鼠血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、白蛋白(ALB)水平;采用比色法检测肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、羟脯氨酸(Hyp)水平;采用 HE 及 Masson 染色观察肝组织纤维化程度;采用免疫组化法检测肝组织中 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的表达。**结果** (1)与正常对照组比较,模型组大鼠血清 ALT 及 AST 明显升高,ALB 明显降低(均 $P < 0.05$),莲子心醇提取物治疗后,ALT 及 AST 低于模型组(均 $P < 0.05$),ALB 高于模型组($P < 0.05$)。(2)与正常对照组比较,模型组大鼠肝脏可见明显的胶原沉积,并有假小叶形成,肝脏炎症活动度及纤维化程度严重,肝脏 Hyp 含量亦明显升高($P < 0.05$),而给予莲子心醇提取物治疗后,胶原沉积明显减少,未见明显的假小叶,肝脏炎症活动度及纤维化程度减轻,肝脏 Hyp 含量亦明显降低($P < 0.05$)。(3)与正常对照组比较,模型组大鼠肝脏 MDA 明显升高,SOD 明显降低(均 $P < 0.05$),莲子心醇提取物治疗后,MDA 降低,SOD 升高(均 $P < 0.05$)。(4)与正常对照组比较,模型组大鼠肝脏 α -SMA 表达明显升高($P < 0.05$),莲子心醇提取物治疗后, α -SMA 表达明显降低($P < 0.05$)。**结论** 莲子心醇提取物具有抗 CCl_4 诱导的大鼠肝纤维化的作用,抗脂质过氧化反应、抑制肝星状细胞活化增殖可能是其抗肝纤维化的主要机制。

关键词 莲子心醇提取物;肝纤维化;脂质过氧化;肝星状细胞

Effect of Alcohol Extract of *Plumula Nelumbini* on Carbon Tetrachloride Induced Rat Liver Fibrosis: an Experimental Study GAO Tian-jiao, DONG Lei, SHI Hai-tao, and LI Xian-mei Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital of Medical School, Xi'an Jiaotong University, Xi'an (710004), China

ABSTRACT Objective To study the protective effect of alcohol extract of *Plumula Nelumbini* (AEPN) on carbon tetrachloride (CCl_4) induced hepatic fibrosis rats and to explore its possible mechanism. **Methods** Totally 32 male SD rats were randomly divided into four groups, i.e., the normal control group, the model group, the high dose AEPN group, and the low dose AEPN group, 8 in each group. 1 000 mg/kg AEPN was given to rats in the high dose AEPN group by gastrogavage at 10 mL/kg, once daily, while 500 mg/kg AEPN was given to rats in the low dose AEPN group by gastrogavage at 10 mL/kg, once daily. Hepatic fibrosis was induced by intraperitoneal injection of CCl_4 . Serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and albumin (ALB) were examined using automatic biochemical analyzer. Activities of superoxide dismutase (SOD), contents of malondialdehyde (MDA) and hydroxyproline (Hyp) in the hepatic tissue were determined using colorimetry. The degree of liver fibrosis was observed by HE staining and Masson staining. The expression of α -smooth muscle actin (α -SMA) was detected using immunohistochemistry. **Results** (1) Compared with the normal control group, serum levels of ALT and AST obviously increased and the serum ALB level obviously decreased in the model group (all $P < 0.05$). After treated by AEPN, serum levels of ALT and AST were lowered,

and the serum ALB level was higher (all $P < 0.05$). (2) Compared with the normal control group, collagen deposition was obviously seen in rats' livers of the model group, and pseudolobule had formed; inflammatory activities and fibrosis degrees were serious; contents of Hyp also increased ($P < 0.05$). After treated by AEPN, collagen deposition was obviously reduced with no obvious pseudolobule; inflammatory activities and fibrosis degrees were alleviated; contents of Hyp were also lowered ($P < 0.05$). (3) Compared with the normal control group, contents of MDA in the liver tissue obviously increased, while activities of SOD obviously decreased ($P < 0.05$) in the model group. After treated by AEPN, contents of MDA in the liver tissue decreased and the serum SOD level significantly increased (all $P < 0.05$). (4) Compared with the normal control group, the expression of α -SMA was obviously elevated in the model group ($P < 0.05$). After treated by AEPN, its expression was obviously lowered ($P < 0.05$). Conclusions AEPN could fight against CCl_4 induced liver fibrosis in rats. Fighting against lipid peroxidation and inhibiting activation and proliferation of hepatic stellate cells might be possibly main mechanism.

KEYWORDS alcohol extract of *Plumula Nelumbini*; liver fibrosis; lipid peroxidation; hepatic stellate cell

肝纤维化是指在各种致病因子如炎症、损伤、药物、遗传因素等的作用下,活化的成纤维细胞或肌成纤维细胞增多,细胞外基质大量沉积的病理改变。目前研究表明,肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)是肝脏病理情况下 ECM 沉积的主要细胞来源。一些抗氧化剂可抑制因氧化应激而引起的 HSC 激活,具有抑制实验性肝纤维化的作用,这为人类选择抗氧化剂(如维生素 E、S 腺苷蛋氨酸,磷脂酰胆碱)和肝细胞保护剂水飞蓟素抑制慢性肝病肝纤维化进程提供理论依据^[1]。故本实验探讨了天然抗氧化剂莲子心抑制实验性肝纤维化的作用,为开发有潜力的抗肝纤维化药物提供实验依据。

莲子心(*Plumula Nelumbinis*)为睡莲科植物莲的成熟种子的绿色胚芽,性味苦,寒,具有清心,去热,止血,涩精的功效,目前有文献报道其具有清除活性自由基、抗脂质过氧化作用、改善急性肺损伤及肺纤维化、抑制血小板聚集等多种药理活性^[2]。莲子心醇提物的主要成分为莲心碱、甲基莲心碱等生物碱和木犀草素等黄酮类化合物。本课题组前期研究发现甲基莲心碱具有促进肝星状细胞凋亡的作用^[3],另有研究发现莲子心醇提物具有较强的体外自由基清除能力及抗脂质过氧化能力,对组织细胞及亚细胞膜性结构有保护作用^[4],木犀草素对 CCl_4 致大鼠肝纤维有较好的保护作用^[5],但对莲子心醇提物对大鼠实验性肝纤维化的作用目前尚未见相关研究。笔者采用 CCl_4 诱导大鼠肝纤维化模型,研究莲子心醇提物对大鼠肝纤维化的保护作用,研究其抗脂质过氧化作用及抑制肝星状细胞增殖活化作用,从中初步探讨其抗肝纤维化的可能机制。

材料和方法

1 动物 健康雄性 SD 大鼠 32 只,SPF 级,体重 190 ~ 210 g,由西安交通大学实验动物中心提

供,合格批号:陕医动证字 2013 - 035。

2 药物、试剂及仪器 莲子心购于药圣堂(湖南)制药有限公司,合格批号 130101。莲子心醇提物提取方法,体积 10 倍量的 70% 乙醇加热回流提取 2 次,分别为 60、45 min,过滤,合并滤液,后经旋转蒸发仪回收乙醇至完全,制成每 1 mL 含生药 5 g 的黄绿色流浸膏, -20 °C 保存备用,临用前用生理盐水配成相应的浓度,提取由西安交通大学医学院药理学系完成,提取方法参考文献[6]中的提取条件。 CCl_4 ,分析纯,成都市科龙化工试剂厂;橄榄油,化学纯,四川天源油橄榄有限公司。超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、羟脯氨酸(Hyp)测定试剂盒均为南京建成生物制品研究所;兔抗大鼠 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA)抗体,Proteintech 公司产品;SP-9001 Histostain™-Plus Kits 及 ZLI-9018DAB Kit,北京中杉金桥生物技术有限公司产品;全自动生化分析仪。

3 分组、造模及给药方法 采用随机数字表法分为 4 组,正常对照组、模型组、莲子心高剂量组及莲子心低剂量组,每组 8 只。除正常对照组外,其余各组大鼠以 CCl_4 与橄榄油以 4:6 (V/V) 配制成 40% 油剂,首剂按 5 mL/kg (体积/质量) 腹腔注射,以后按 2.5 mL/kg 注射,正常对照组以 1.5 mL/kg 体重橄榄油腹腔注射,每周二、五各注射 1 次,共 8 周。所有大鼠均正常饮食,自由饮水,正常对照组给予 10 mL/kg 体重的生理盐水灌胃,每日 1 次;模型组给予 10 mL/kg 体重的生理盐水灌胃,每日 1 次;莲子心高、低剂量组给予 1 000 mg/kg 及 500 mg/kg 体重莲子心醇提物按 10 mL/kg 灌胃,每日 1 次。给药剂量参考文献[7]的剂量。造模及给药过程顺利,无大鼠死亡。

4 检测指标与方法 8 周后,大鼠禁食 12 h,称量体重,10% 水合氯醛腹腔注射 3 mL/kg 麻醉,经心

脏采血 3 mL,分离血清,-80 ℃ 保存,取肝右叶同一部位组织,一部分用 4% 多聚甲醛溶液固定作常规组织病理学观察,另一部分用储存于液氮罐中备用。

4.1 病理学观察 石蜡切片,行 HE 及 Masson 染色,镜检观察肝细胞变性、胶原纤维增生程度和组织形态学变化。炎症活动度分级和纤维化程度分期标准参照中华医学会《病毒性肝炎防治方案》^[8] 中慢性肝炎炎症活动度分级和纤维化程度分期的标准,见表 1。

4.2 血清学指标 应用全自动生化分析仪测定大鼠血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、草氨酸氨基转移酶(AST)及血清白蛋白(ALB)的水平。

4.3 肝组织 Hyp 含量测定 按照试剂盒说明书应用酸水解法测定 Hyp 含量。

4.4 肝组织氧化指标测定 取氮罐中保存肝组织每个样本 200 mg 用生理盐水作为匀浆介质匀浆后,按照试剂盒说明书的步骤分别测定 SOD、MDA 的水平。

4.5 α-SMA 免疫组化染色 肝脏石蜡切片,行免疫组化染色,按试剂盒说明常规进行染色。图像分析与数据处理 免疫组化结果应用 Leica QWin 图像分析软件分析平均光密度值(density mean)。

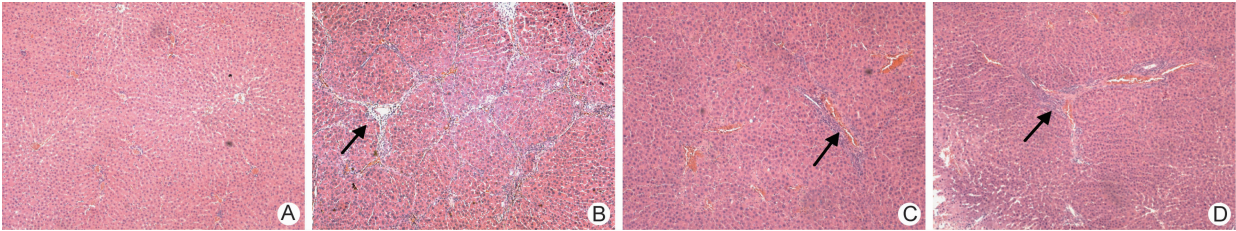
5 统计学方法 采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用正态齐性检验和方差齐性检验,若符合正态分布,方差具有齐性,则采用单因素方差分析,多重比较采用 LSD-*t* 检验;不满足方差分析条件以及等级资料采用秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 肝脏病理学变化(图 1、2,表 2) HE 染色及 Masson 结果显示,正常对照组肝小叶结构完整清晰,肝细胞呈条索状向四周放射排列,无脂肪变性及坏死,汇管区无纤维组织增生及炎性细胞浸润。模型组大部分正常肝小叶结构破坏或消失,肝汇管区和肝小叶坏死区可见大量纤维组织增生,形成厚薄不均且连接的纤维间隔,肝细胞脂肪变性及坏死严重,形成明显的肝纤维化。与模型组比较,莲子心醇提取物高、低剂量组肝小叶结构稍紊乱,较少肝细胞脂肪变性,炎性细胞浸润少,纤维组织轻度增生,仅见细薄的纤维束。莲子心醇提取物高、低组的纤维化程度较模型组相比明显减低。

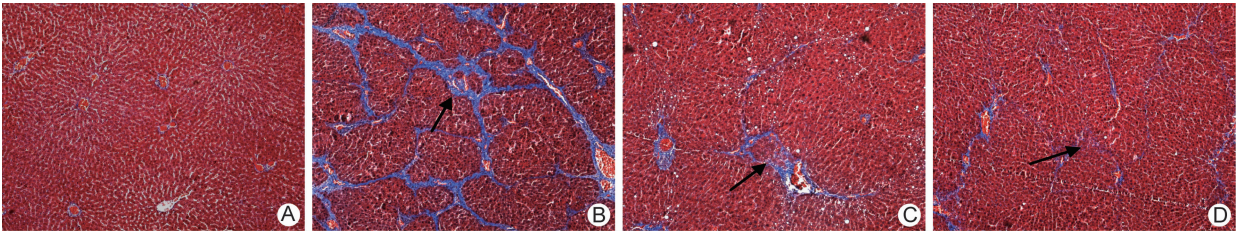
表 1 慢性肝炎炎症活动度分级和纤维化程度分期标准

分级(期)	炎症活动度分级(G)		纤维化程度分期(S)
	汇管区及周围	小叶内	
0	无炎症	无炎症	无
1	汇管区炎症	变性及少数点、灶性坏死灶	汇管区纤维化扩大、局限窦周及小叶内纤维化
2	轻度碎屑坏死	变性、点、灶状坏死或嗜酸小体	汇管区周围纤维化、纤维间隔形成、小叶结构保留
3	中度碎屑坏死	变性、融合坏死或见桥接坏死	纤维间隔伴小叶结构紊乱,无肝硬化
4	重度碎屑坏死	桥接坏死范围广,累计多个小叶(多小叶坏死)	早期肝硬化



注:A 为正常对照组;B 为模型组;C 为莲子心高剂量组;D 为莲子心低剂量组;箭头所示为胶原纤维区域

图 1 各组大鼠肝组织病理学观察 (HE, ×100)



注:A 为正常对照组;B 为模型组;C 为莲子心高剂量组;D 为莲子心低剂量组;箭头所示为胶原纤维区域

图 2 各组大鼠肝组织病理学观察 (Masson, ×100)

肝脏炎症活动度各组间比较,差异有统计学意义($H = 25.525, P = 0.000$),纤维化分期各组比较,差异亦有统计学意义($H = 25.687, P = 0.000$)。

表 2 各组肝脏炎症活动度分级和纤维化程度分期											
组别	n	炎症活动度分级(G)					纤维化程度分期(S)				
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
正常对照	8	8	0	0	0	0	8	0	0	0	0
模型*	8	0	0	0	6	2	0	0	0	5	3
莲子心高剂量 [△]	8	0	2	5	1	0	0	3	4	1	0
低剂量 ^{△▲}	8	0	2	4	2	0	0	1	4	3	0

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$;与莲子心高剂量组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$

2 莲子心醇提物对肝纤维化大鼠血清 ALT、AST 及 ALB 的影响(表 3) 与正常对照组比较,模型组大鼠血清 ALT 及 AST 明显升高,差异具有统计学意义,ALB 明显降低(均 $P < 0.05$),莲子心醇提取物治疗后,ALT 及 AST 低于模型组(均 $P < 0.05$),ALB 高于模型组($P < 0.05$)。其中莲子心高剂量组较低剂量组 ALT 及 AST 均更低(均 $P < 0.05$),ALB 更高($P < 0.05$)。

表 3 莲子心醇提物对肝纤维化大鼠血清 ALT、AST 及 ALB 的影响 ($\bar{x} \pm s$)				
组别	n	ALT(U/L)	AST(U/L)	ALB(g/L)
正常对照	8	43.38 $\pm$ 9.81	102.00 $\pm$ 11.81	37.68 $\pm$ 3.08
模型	8	121.12 $\pm$ 24.05 *	276.50 $\pm$ 24.00 *	30.69 $\pm$ 1.33 *
莲子心高剂量	8	65.50 $\pm$ 8.32 Δ	125.75 $\pm$ 16.32 Δ	36.09 $\pm$ 1.42 Δ
低剂量	8	90.25 $\pm$ 14.70 $\Delta\Delta$	145.88 $\pm$ 12.20 $\Delta\Delta$	33.39 $\pm$ 3.43 $\Delta\Delta$

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$;与莲子心高剂量组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$

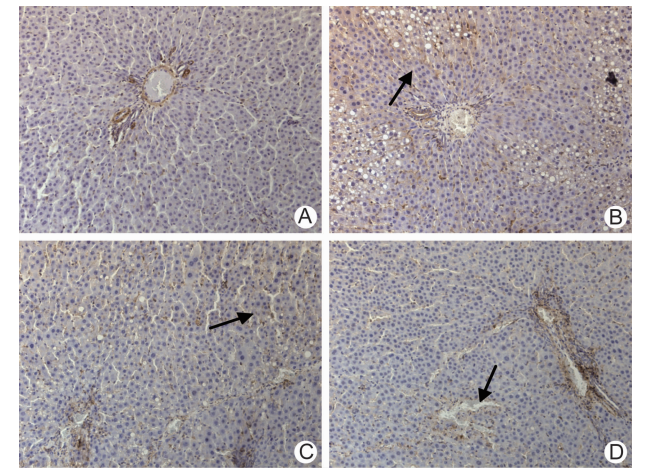
3 莲子心醇提物对肝纤维化大鼠肝组织 Hyp、SOD 及 MDA 的影响(表 4) 与正常对照组比较,模型组大鼠肝脏 Hyp 含量亦明显升高($P < 0.05$),而给予莲子心醇提取物治疗后,肝脏 Hyp 含量亦明显降低($P < 0.05$),其中莲子心高剂量组较低剂量组 Hpy 更低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与正常对照组比较,模型组大鼠肝脏 SOD 明显降低,MDA 明显升高

表 4 莲子心醇提物对肝纤维化大鼠肝组织 SOD、MDA、Hyp、 α -SMA 的影响 ($\bar{x} \pm s$)					
组别	<i>n</i>	SOD (U/mg pro)	MDA (nmol/mg pro)	Hyp (μ g/mg)	α -SMA
正常对照	8	27.42 $\pm$ 1.31	6.96 $\pm$ 1.20	0.44 $\pm$ 0.10	0.12 $\pm$ 0.01
模型	8	18.49 $\pm$ 1.34 *	14.66 $\pm$ 1.61 *	1.17 $\pm$ 0.18 *	0.21 $\pm$ 0.02 *
莲子心高剂量	8	23.84 $\pm$ 1.52 Δ	8.43 $\pm$ 1.35 Δ	0.56 $\pm$ 0.04 Δ	0.14 $\pm$ 0.01 Δ
低剂量	8	22.32 $\pm$ 1.27 $\Delta\blacktriangle$	9.52 $\pm$ 0.68 $\Delta\blacktriangle$	0.73 $\pm$ 0.10 $\Delta\blacktriangle$	0.15 $\pm$ 0.01 Δ

注:与正常组对照比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$;与莲子心高剂量组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$

(均 $P < 0.05$),莲子心醇提物治疗后,SOD 升高,MDA 降低(均 $P < 0.05$);其中莲子心高剂量组较低剂量组 SOD 更高,MDA 更低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

4 免疫组化 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA)表达结果(图 3,表 4) 正常对照组大鼠 α -SMA 阳性表达仅存在于汇管区动静脉血管壁上,肝窦散在分布;模型组大鼠 α -SMA 呈强阳性表达,密布于汇管区、炎症浸润区及胶原纤维增生处;莲子心醇提物高、低剂量组 α -SMA 阳性表达主要存在于汇管区血管壁,肝窦处亦有分布。结果显示,模型组 α -SMA 表达较正常对照组明显增强($P < 0.05$),莲子心醇提物高、低剂量组 α -SMA 的表达减弱($P < 0.05$),其中莲子心高剂量组较低剂量组表达更弱,差异有统计学意义($P < 0.05$)。



注:A 为正常对照组;B 为模型组;C 为莲子心高剂量组;D 为莲子心低剂量组;箭头所示为 α -SMA 阳性表达区域
图 3 各组大鼠肝脏 α -SMA 的表达 (免疫组化, $\times 100$)

讨 论

肝纤维化发生的关键是 HSC 的激活和细胞外基质的过度沉积,活化的 HSC 大量增殖,并转化为肌成纤维细胞,进而产生大量的细胞外基质^[9]。胶原是细胞外基质的主要组分,而 Hyp 是胶原蛋白降解产物,在纤维化过程中,肝组织中 Hyp 随着胶原的消长而变化,是评估胶原蛋白量和肝纤维化程度的重要指标^[10]。大量研究表明,CCl₄ 诱导的大鼠肝纤维化有明显的脂质过氧化损害,脂质过氧化是其肝脏炎症损伤发展至纤维化的桥梁。MDA 是氧自由基与细胞膜表面不饱和脂肪酸脂质过氧化反应的终末产物。SOD 是细胞内天然的氧自由基清除剂。研究表明,肝纤维化的发生、发展与氧自由基损伤、脂质过氧化有

关,肝组织中脂质过氧化产物 MDA 含量明显增加, SOD 活性不同程度地降低^[11,12]。在病理状态下,肝星状细胞被激活,而 α -SMA 表达是肝星状细胞激活的显著特征之一。故 α -SMA 的表达水平是肝星状细胞激活增殖情况的重要标志。

本实验采用 CCl₄ 腹腔注射诱导的 SD 大鼠肝纤维化模型,研究莲子心醇提物对肝纤维化保护作用及其机制。结果显示,莲子心醇提物可以明显降低 CCl₄ 诱导的肝纤维化大鼠血清中 ALT、AST,升高 ALB,且高剂量效果明显,表明其肝细胞损伤具有保护作用。同时,莲子心醇提物能明显降低肝纤维化大鼠肝组织中的 MDA 的水平和提高 SOD 的活性,说明其能提高肝组织的抗氧化酶 SOD 活性,抑制自由基的产生,促进其清除,并能抑制氧自由基引起的脂质过氧化反应,使 MDA 生成减少,从而对肝组织起保护作用,使大鼠肝纤维化减轻,提示抗脂质过氧化作用可能是其抗肝纤维化的作用机理之一。莲子心醇提物抑制肝纤维化大鼠的 α -SMA 表达,且高剂量效果明显,表明其可以抑制肝星状细胞的活化增殖,继而细胞外基质合成减少,表现为肝组织中的 Hyp 降低,故可以减轻肝纤维化的程度。病理观察也见莲子心醇提物各剂量组能改善肝纤维化程度,且高剂量效果明显。各指标组间比较,差异有统计学意义。

抗纤维化治疗 尚缺乏有效或较为理想的药物,目前中医药在抗肝纤维化方面具有相当大的优势,并已证实有抑制与逆转作用^[13]。莲子心醇提物中含有多种生物碱及黄酮类活性成分,相关研究显示,其具有很强的体外自由基清除能力及抗脂质过氧化能力对组织细胞及亚细胞膜性结构有保护作用。结合本实验结果,可推测莲子心醇提物可能通过其抗脂质过氧化反应及抑制 HSC 活化,从而实现抗纤维化作用。

莲子心作为一种传统中药,具有清除活性自由基、抗脂质过氧化作用、改善急性肺损伤及肺纤维化、抗心律失常、抗癌、降压、降脂、降血糖、抑制血小板聚集等多种药理活性等多种药用及保健功能,本研究显示其具有抗肝纤维化作用。我国莲子心资源丰富,开发潜力巨大,应充分发挥莲子心的临床效用。但迄今为止,仅见莲心茶研制报道^[14],制剂研究方面,刘产明等^[15]采用直接压片发制备莲子心总碱缓释片,柳伟等^[16]制成莲子心总生物碱滴丸,巫志峰等^[17]从莲子心中提取莲心总碱制备莲子心微囊,作为保健食品,莲子心目前只有临时冲泡,煎煮服用方法,因此,如何充分发掘莲子心有效活性成分,制成方便服用的制剂,探究其不良反应,其抗纤维化的分子水平上的机制,有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets[J]. J Cell Mol Med, 2006, 10(1): 76-99.
- [2] 何锦婷,虞舜.莲子心的现代临床应用[J]. 长春中医药大学学报, 2012, 28(3): 544-546.
- [3] Ding H, Shi J, Wang Y, et al. Neferine inhibits cultured hepatic stellate cell activation and facilitates apoptosis: A possible molecular mechanism[J]. Eur J Pharmacol, 2011, 650(1): 163-169.
- [4] 陈静,张敏,郑铁松,等.莲子心乙醇提取液体外抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(09): 48-51.
- [5] 李林林,龚国清,冯贻东,等.木犀草素对四氯化碳致大鼠肝纤维化的保护作用及其机制研究[J]. 中国生化药物杂志, 2010, 31(6): 377-380.
- [6] 陈敬.莲子心中黄酮类物质与生物碱的分离纯化工艺研究[D]. 长沙:中南大学, 2011.
- [7] 潘扬,尚文斌,王天山,等.莲子心及 Nef 对实验性糖尿病及肥胖大鼠模型的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2003, 19(4): 217-219.
- [8] 中华医学会传染病与寄生虫病分会和肝病分会.病毒性肝炎防治治疗方案[J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8: 324-329.
- [9] 湛辉,张景辉,刘文琪.姜黄素抗血吸虫病肝纤维化及其机制的实验研究[J]. 中草药, 2010, 41(8): 1274-1277.
- [10] 蔡卫民,张彬彬,翁红雷,等.八项肝纤维化血清标志物比较研究[J]. 中华肝脏病杂志, 2004, 12(4): 219.
- [11] Kim SH, Cheon HJ, Yun N, et al. Protective effect of a mixture of aloe vera and Silybum marianum against carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity and liver fibrosis[J]. J Pharmacol Sci, 2009, 109(1): 119-127.
- [12] Shi HY, Xu JW, Ren XX. Effect of genistein on hepatic stellate cell proliferation and lipid peroxidation in vitro[J]. J Southern Med Univ, 2008, 28(11): 2066-2068.
- [13] 中国中西医结合学会肝病专业委员会.肝纤维化中西医结合诊疗指南[J]. 中华肝脏病杂志, 2006, 14(11): 866-870.
- [14] 郑凤荣,郭启友.莲心茶饮料的研制[J]. 饮料工业, 2011, 14(04): 20-23.
- [15] 刘产明,卢宇.莲子心总碱缓释片的制备及质量控制[J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(6): 36-37.
- [16] 柳伟,王宏洁,司南,等.莲子心总生物碱滴丸的制备工艺及含量测定[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(7): 581-584.
- [17] 巫志峰,袁小红.莲子心微囊抗心律失常作用研究[J]. 中国药房, 2006, 27(23): 1770-1771.

(收稿:2013-03-12 修回:2014-09-01)