

黄连碱改善脂肪肝 SD 大鼠模型的效应及机制研究

王妮华^{1,3} 王琼熠^{1,3} 范辉^{1,2,3}

(1 广东省代谢病中西医结合研究中心,广州,510006; 2 广东省代谢性疾病中医药防治重点实验室,广州,510006; 3 广东药科大学药学院,广州,510006)

摘要 目的:观察黄连碱对脂肪肝 SD 大鼠模型脂代谢指标的影响,探讨作用机制。方法:采用高脂饲养构建 SD 大鼠脂肪肝模型,随机分组为正常对照组、高脂模型组、黄连碱低、高剂量组(10 mg/kg、50 mg/kg),给药 30 d,分析大鼠体重、肝指数、三酰甘油(TG)、肝功能(ALT,AST)及肝脏病理等指标;采用人肝癌 HepG2 细胞系,蛋白免疫印迹法(WB)观察黄连碱对 AMP-活化蛋白激酶(AMPK)蛋白的表达,反转录荧光定量 PCR(RT-PCR)方法分析肉碱脂酰转移酶 1(CPT-1)mRNA、羟甲基戊二酰辅酶 A(HMG-Coa)mRNA 的表达,高效液相色谱(HPLC)测定细胞内 AMP 的含量。结果:与高脂饮食组比较,黄连碱低、高剂量组均降低了 TG 水平、改善 AST 以及肝脏组织学形态,且黄连碱高剂量组效果优于低剂量组。在 HepG2 细胞中,黄连碱显著提高 AMP 的浓度,激活 AMPK 蛋白磷酸化表达,上调 CPT-1 mRNA 的表达,抑制 HMG-Coa mRNA 的表达。结论:黄连碱具有显著改善大鼠脂肪肝的效应,作用机制可能与提高 AMP 的浓度,激活 AMPK 信号通路有关。

关键词 黄连碱;脂肪肝;AMP;AMPK

Study on Improvement Effects of the Coptisine on the Fatty Liver Disease of SD Rats and the Related Mechanism

Wang Nihua^{1,3}, Wang Qiongyi^{1,3}, Fan Hui^{1,2,3}

(1 Guangdong Metabolic Disease Research Center of Integrated Chinese and Western Medicine, Guangzhou 510006, China; 2 Guangdong TCM Key Laboratory Against Metabolic Diseases Institute of Chinese Medicinal Sciences, Guangzhou 510006, China; 3 College of Pharmacy, Guangdong University of Pharmacy, Guangzhou 510006, China)

Abstract Objective: To observe the effect of coptisine on the fatty liver disease of SD (Sprague Dawley) rats and investigate the mechanism. **Methods:** The SD fatty liver rats were induced by high fat diet. Rats were randomly divided into normal control group, high fat model group, coptisine low and high dose groups (10 mg/kg or 50 mg/kg). After 30 days of administration, the body weight, liver index, triglyceride (TG), liver function (alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and liver pathology of each group were analyzed. The expression of coptisine to adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK) protein in human HepG2 cell line was estimated by Western Blot (WB), the expression of carnitine palmitoyltransferase-1 messenger Ribose Nucleic Acid (CPT-1 mRNA) and hydroxy-methylglutaryl coenzyme A messenger Ribose Nucleic Acid (HMG-CoA mRNA) was analyzed by Real Time-Poly Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), and the content of adenosine monophosphate (AMP) in the cell was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). **Results:** Compared with the high-fat diet group, the two groups of coptisine intervention reduced the TG level of blood lipid, AST, and triglyceride content in liver, and significantly improved the histological morphology of liver in high-fat feeding. The high-dose group was better than the low-dose group. The HepG2 cells were treated with coptisine, AMP concentration was significantly increased, the activation of AMPK protein phosphorylation was increased, the expression of CPT-1 mRNA expression was also increased, and the expression of HMG-CoA mRNA was inhibited ($P < 0.05$). **Conclusion:** The coptisine can remarkably improve fatty liver in rats, and its mechanism may be related to the increasing of AMP concentration and the activation of AMPK signaling pathway.

Key Words Coptisine; Fatty liver; AMP; AMPK

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.01.010

黄连碱(Coptisine, COP)是毛茛科植物黄连中含 季铵基团的异喹啉类生物碱,有抗菌、抗炎^[1-2]等多

种生物活性^[3-4]。黄连生物活性碱的调脂研究主要集中于小檗碱,其调脂效应和机制是目前中药单体成分中最深入的,小檗碱已被证明是通过线粒体呼吸链途径间接上调 AMP 和 ADP 含量,激活 AMPK^[5],进而促进脂质氧化利用^[6-7]。我们研究发现 COP 和小檗碱是黄连生物碱中的肝细胞高亲和成分,且 COP 细胞亲和性优于小檗碱^[8]。COP 是否与小檗碱具有相同的降脂活性和作用机制有待探讨。本课题研究以 AMPK 信号通路为主轴,在体内模型上研究 COP 降脂活性的效应,在体外层面探讨其可能的降脂分子机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物与细胞 SD 大鼠,雄性,平均体重(170 ± 20)g,广东省实验动物中心供应;实验期间饲养室温度为(20 ± 2)℃,湿度为(60 ± 5)%。

人肝癌 HepG2 细胞株,购自中国科学院上海细胞库。细胞培养:高糖 DMEM 完全培养液含有 10% FBS、1% 的双抗(100 U/L 青霉素、100 mg/L 链霉素)。将细胞置于 5% (φ) CO₂ 的 37℃ 细胞孵育箱中培养,每 2 d 换液 1 次;待细胞生长至约 80%,用 0.25% 胰酶消化细胞,进行传代。

1.1.2 药物 COP,纯度 ≥ 95%,四川中药标准中心供应,批号:130220;高脂饲料(胆固醇 2%,猪油 10%,胆盐 0.3%,蔗糖 20%,基础饲料 67.7%)广东省实验动物中心供应。

1.1.3 试剂与仪器 高糖 DMEM 培养基(美国 GIBCO 公司,生产批号:1290007);血清(美国赛默飞世尔公司);胰酶(北京鼎国昌盛生物技术有限公司,生产批号:89010440);三酰甘油(TG)试剂盒、谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,生产批号分别为:2013010038、2013060-8、20130608);BCA 蛋白定量试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司,货号:110808);ECL 化学发光试剂盒(Advansta,货号:110831-15);蛋白 marker:(Thermo,生产批号:00113439);引物序列由 Invitrogen 公司合成。色谱纯甲醇(美国 Honeywell 公司 & 德国 Merck 公司);实验用水为超纯水;其余试剂为分析纯(天津市科密欧化学试剂有限公司)。UC6 型超薄切片机(奥地利,Leica 仪器有限公司);H-600 型透射电镜(日本日立电子有限公司)。SW-CF-1FD 超净台(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),CO₂ 细胞培养箱(美国,Thermo Scientific 公司);倒置显微镜(日本,O-

lympus 公司);Mithras LB 940 酶联免疫检测仪(德国,Berthold Technologies 公司);5180R 低温高速离心机(德国,Eppendorf 公司)HAL-100 荧光倒置显微镜(德国,Zeiss 公司),实时 PCR 扩增仪(ABI,Stepone Plus),热循环 PCR 仪(Aplied Biosystems),Ultimate 3000 HPLC 仪(美国,Dionex 公司),配备 DAD 检测器;Dionex Acclaim 120 C₁₈ 色谱柱(4.6-mm × 250 mm,5 μm);PURELAB Ultra GE MK2 纯水仪(ELGA,High Wycombe,UK);BT224s 型万分之一电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 动物实验:将 SD 大鼠随机分为正常对照组(正常组)(n = 6)和观察组(n = 18),分别用普通饲料及高脂饲料饲养。42 d 造模成功后,观察组随机分成高脂模型组(模型组)、COP 低剂量组(10 mg/kg)和 COP 高剂量组(50 mg/kg),每组 6 只。体外细胞实验:HepG2 细胞培养于高糖 DMEM 完全培养液中,将实验细胞随机分成空白对照组及 COP 低剂量组(5.0 mg/kg)、高剂量组(25.0 mg/kg)。

1.2.2 给药方法 动物实验:COP 低、高剂量组分别给予浓度为 10 mg/kg、50 mg/kg 的 COP,1 次/d,正常组给予等容量的 0.5% CMC-Na,连续灌胃给药 30 d。细胞实验:当 HepG2 细胞长到 80%~90%,以每孔 2 × 10⁵ 的细胞个数接种于 6 孔板,正常培养 48 h,细胞达到对数生长期时分组给药,空白对照组给予含 10% FBS 的完全培养基,观察组中 COP 低、高剂量组分别予含 COP 5.0 μg/mL、25.0 μg/mL 的培养液,每组做 6 个平行孔。

1.2.3 检测指标与方法 1) 体重及肝指数测定:实验期间称量大鼠体重 1 次/周。实验结束前,采血后快速摘取肝脏并称取其质量,计算肝指数(肝湿重/体重 × 100%)。2) 部分血清指标测定:按试剂盒提供的方法测定:磷酸甘油氧化酶-PAP 法测定血清 TG 含量,用赖氏法测定 ALT 含量,比色法测定血清 AST 含量。3) 肝脏三酰甘油测定:称取肝组织 500 mg,加三氯甲烷:甲醇(1:1)混合液后匀浆,待试剂挥发后用磷酸甘油氧化酶-PAP 法测定肝脏中 TG 含量。4) 肝脏病理结构检查:肝组织常规石蜡包埋、切片、HE 染色。对肝脏脂肪变性程度及炎性反应程度进行分级、评分,非酒精性脂肪性肝病的病理组织学诊断参考 2010 年中国肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组修订的《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》。5) HPLC 法测定细胞 ATP、ADP、AMP 含量:

HepG2 细胞提取:取培养皿的细胞首先用冰 PBS 洗涤两次,立刻转移到一个 1.5 mL EP 管中。加入冰预冷的 1 mL 0.4 mol/L 高氯酸,于超声波细胞粉碎机中粉碎、匀浆;离心,取上清液,用 5 mol/L 的 KOH 调 pH 值至 6.0 ~ 7.0,取上清,用 0.22 μm 滤膜过滤,待测。色谱条件:流动相:100 mmol/L 磷酸盐缓冲液(含 12 mmol/L 磷酸氢二钠和 88 mmol/L 磷酸二氢钠,PH = 6.5);甲醇(99.9:0.1),柱子:C₁₈;柱温:30 ℃;流速:1.0 mL/min;进样量:30 μL;检测波长:254 nm。

6) 蛋白印迹分析:提取细胞总蛋白,按 BCA 试剂盒用酶标仪在 570 nm 波长下测定蛋白浓度。进行定量及样品前处理后,根据碧云天 BCA 试剂盒说明书配制胶体(4%的积层胶,12%分离胶),将事先计算好的上样量加入胶体中,以 80 V 电压电泳 30 min 左右,再加至 120 v 电泳 90 min 后,将胶体上的蛋白转印至 PVDF 膜中,染色观察蛋白是否顺利转印至 PVDF 膜中。用 TBST 将脱脂奶粉配制成 5% 浓度,将转印后目的蛋白的 PVDF 膜进行封闭 2 h,随后用 TBST 进行洗涤 3 次,5 min/次。将 PVDF 膜置于化学发光成像仪上,滴入 ECL 发光液显影,随后进行图像采集。

7) PCR 法检测分析:细胞中加入 1 mL Trizol 充分反应后按照说明书进行细胞总 RNA 提取,用 Primer5.0 软件设计引物,由 Invitrogen 公司合成,以 20 μL 逆转录反应体系合成 cDNA。样品在 PikoReal 上运行 96 实时 qPCR 检测系(ThermoFisher)引物序列 CPT-1 上游:5'-GCCGCTCGT-TCACTCCA-3';下游:5'-AGCCGCAGATGTCAATCCC-3';HMG-COA:上游:5'-TAACTCAGAGGGTTAAGAT-3';下游:5'-ACTGCCAGAGGGAAAC-3'。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件对分组数据进行统计分析,采用多重比较检验和 χ^2 分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高脂饲料建立脂肪肝的 SD 大鼠模型 实验过程中各组大鼠均无死亡发生。与正常对照组大鼠比较,高脂饮食组大鼠性情温顺,不喜动,毛发蓬乱无光泽,大便稀软,且次数较正常对照组少。造模六周后,进行分组给药,给药约第二周,COP 组的大鼠较模型组活跃,饲料摄入量与模型组相当。

2.2 COP 对脂肪肝大鼠模型体重、肝功能的影响

与正常对照组比较,高脂饮食组大鼠体重增长均较快,各给药组的体重增长速度在给药第二周后缓慢,慢于模型组的体重增加速度,但最终体重比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与高脂饮食组比

较,COP 低、高剂量组的肝重、肝指数均降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1。与正常对照组比,高脂饮食组血清 TG、ALT 和 AST 水平均升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),表现为高三酰甘油血症和典型脂肪肝特点;与模型组比较,各给药组血清 TG 水平降低,COP 改善了肝酶 ALT、AST 水平($P < 0.05$)。见图 2。

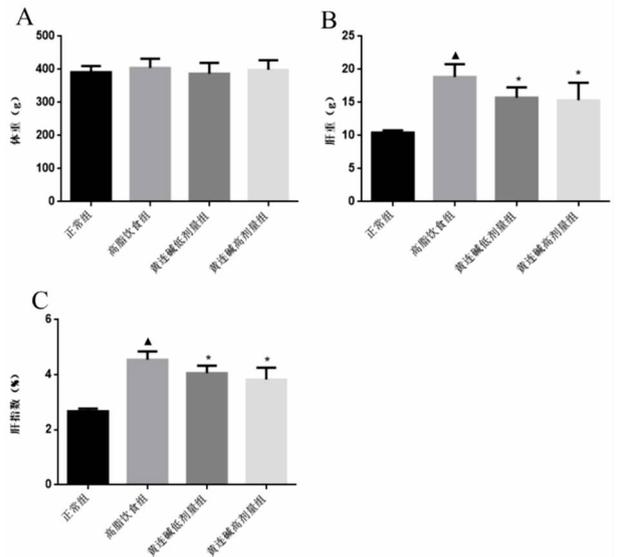


图 1 低、高剂量 COP 对高脂饮食大鼠体重、肝重、肝指数的影响

注:(A)各组体重;(B)各组肝脏重量;(C)各组肝指数(肝湿重/体重×100%)。与正常组比较,▲ $P < 0.05$;与高脂饮食组比较,* $P < 0.05$

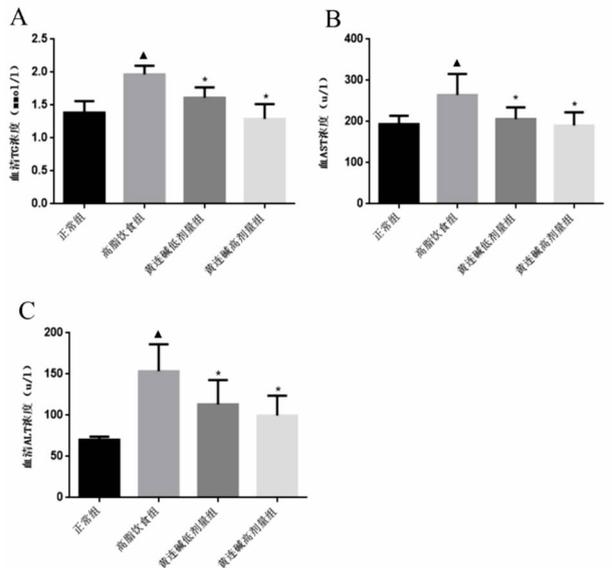


图 2 低、高剂量 COP 对高脂饮食大鼠血清 TG、AST、ALT 浓度的影响

注:(A)各组血清 TG 水平;(B)各组血清 AST 水平;(C)各组血清 ALT 水平。与正常组比较,▲ $P < 0.05$;与高脂饮食组比较,* $P < 0.05$

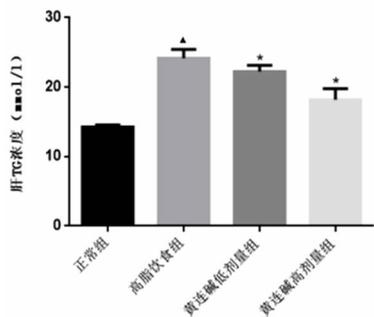


图3 低、高剂量 COP 对高脂饮食大鼠肝 TG 浓度的影响

注:与正常对照组比较,▲ $P < 0.05$;与高脂饮食组比较,* $P < 0.05$

0.05

组组织形态仍呈一定的肝脂肪变性特征,且仍然存在脂肪空泡,但具有明显恢复迹象,脂肪空泡转变为小泡性脂肪,且脂肪空泡减少。见图4。

2.4 COP 对 HepG2 细胞 ATP、ADP、AMP 的影响

采用高效液相色谱技术建立了测定 HepG2 细胞内 ATP、ADP、AMP 含量的方法,用标准曲线定量,蛋白测定校正分析,结果显示:与空白对照组比较,给药组的 AMP 含量有明显升高趋势;COP 高剂量组的细胞 EC 值较空白对照组显著降低($P < 0.05$)。见表1、图5。

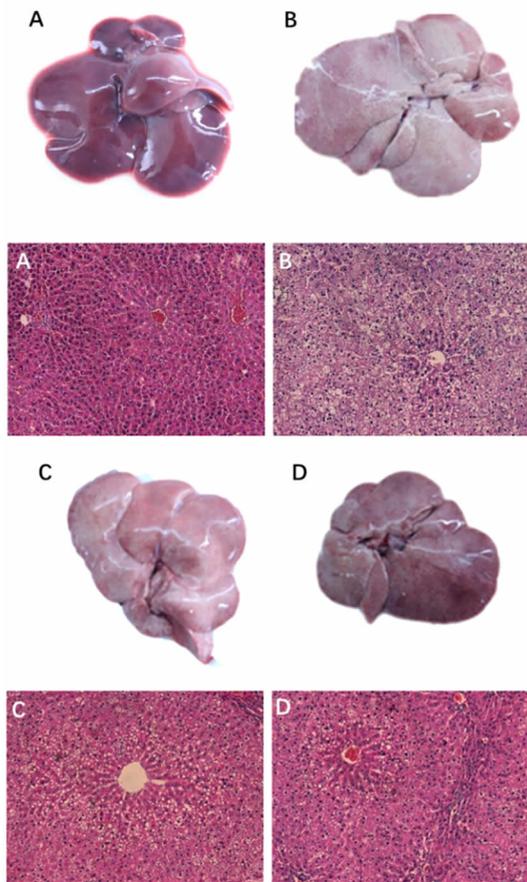


图4 各观察组肝组织 HE 染色(×400)

注:A 正常对照组;B 高脂模型组;C COP(10 mg/kg)组;D COP(50 mg/kg)组

2.3 COP 对脂肪肝大鼠模型的肝脏病理影响

肝脏组织 TG 含量的变化与正常对照组比较,高脂饮食组肝脏组织 TG 含量较高,与模型组比较,各给药组有显著改善($P < 0.05$)。见图3。肝脏组织学形态及 HE 染色病理的变化与正常对照组比较,高脂饮食组肝脏肿大,重量增加,边缘钝而厚,表面色泽苍白,肝脏形态呈显著脂肪变性症状,切片出现大量脂肪空泡,表现为大泡性空泡,模型组表现为中-重度的肝脂肪变性特点。与模型组比较,各给药

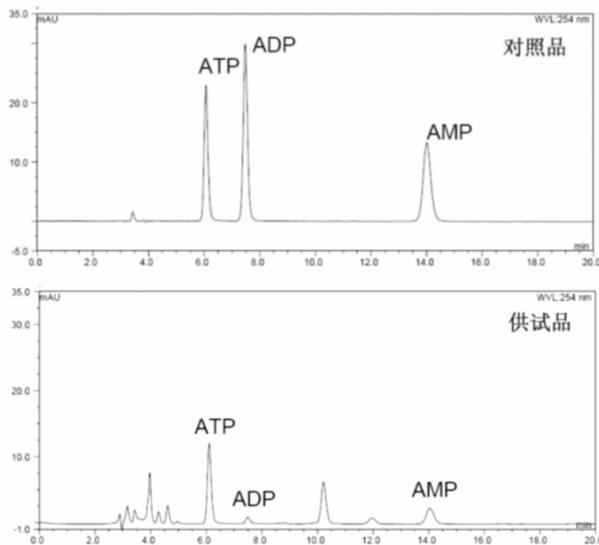


图5 COP 对 HepG2 细胞 ATP、ADP、AMP 的影响色谱图

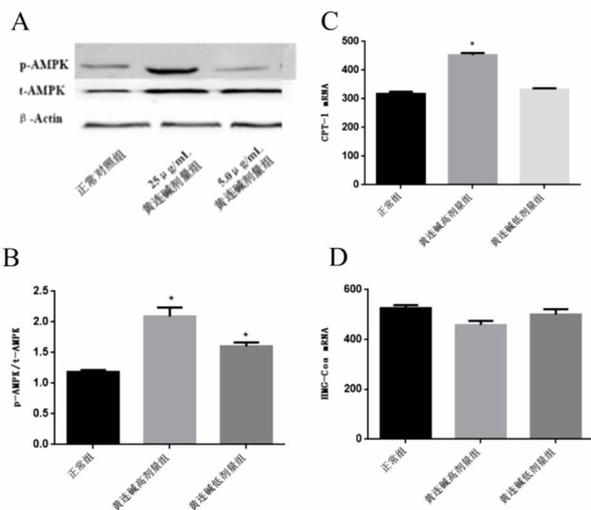


图6 低、高剂量 COP 对高脂饮食大鼠 AMPK 蛋白磷酸化水平、CPT-1 mRNA、HMG-Coa mRNA 水平的影响

注:(A、B)各组 HepG2 细胞 AMPK 蛋白磷酸化水平;(C)各组 HepG2 细胞 CPT-1 mRNA 水平;(D)各组 HepG2 细胞 HMG-Coa mRNA 水平,与正常对照组比较,* $P < 0.05$

2.5 COP 对 HepG2 细胞 AMPK 磷酸化、CPT-1 mRNA 和 HMG-Coa mRNA 水平的影响

采用 p-

表1 COP对3组HepG2细胞ATP,ADP和AMP含量的比较

组别	ATP/(ng/mg)	ADP/(ng/mg)	AMP/(ng/mg)	EC
空白对照组(n=3)	307.27 ± 20.06	15.38 ± 2.56	23.70 ± 2.82	0.910 ± 0.004
5.0 μg/mL COP 剂量组(n=3)	305.87 ± 45.86	18.64 ± 1.02	35.03 ± 8.20	0.877 ± 0.020
25.0 μg/mL COP 剂量组(n=3)	295.54 ± 9.77	21.06 ± 4.24	55.06 ± 17.98	0.826 ± 0.039*

注:方差齐,采用LSD法两两比较,观察组EC与正常对照组EC比较,* $P < 0.05$

AMPK蛋白表达/AMPK蛋白表达率评价AMPK激活程度。与空白对照组比较,COP低、高剂量组均可促进AMPK蛋白磷酸化水平($P < 0.05$)。见图6A、6B。与空白对照组比较,低剂量COP组CPT-1 mRNA表达水平有上升的趋势,但不具有显著性差异,而高剂量COP组CPT-1 mRNA表达水平上升,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图6C。AMPK的激活,可抑制下游HMG-Coa的表达,减少胆固醇的生成^[9]。与空白对照组比较,高、低剂量COP组均有降低HMG-Coa mRNA表达水平的趋势。见图6D。

3 讨论

脂肪性肝病(Fatty Liver Disease, FLD)是一种病变主体在肝小叶,以肝细胞弥漫性脂肪变的临床病理综合征。其特点是脂肪堆积,本质是机体能量过剩或脂质异位蓄积于肝,主要表现为肝脏实质细胞脂肪变性。中医药研究集中在活性中药单体化合物,如小檗碱^[10],人参皂甙^[11],和齐墩果酸^[12],试图通过药物激活提高肝脏细胞能量代谢车间的运作效率。最近COP的药物活性也引起了关注,抗心肌缺血^[13],抗糖尿病^[14],抗菌^[15],治疗肝癌和白血病^[16]等活性先后被报道^[17-18]。COP与小檗碱的结构相似,均具有季铵活性基团^[19]。COP是黄连中的降脂活性成分,前期的研究发现COP体外降脂活性优于小檗碱。本实验证明了COP对高脂饲养的大鼠脂肪肝具有较好的治疗作用,且COP高剂量组治疗效果优于低剂量组。

研究发现,肝脏脂质代谢是一个复杂的网络调节系统,一些重要的转录和代谢调节因子是整个网络调节的关键节点,如:PPAR- α 、SREBP-1c、AMPK。调控这些关键靶点可以帮助肝脏加速分解代谢,从而治疗脂肪肝^[20]。AMPK处在调控脂质代谢网络的上游,当感受到细胞能量物AMP/ATP变化时,AMPK的磷酸化增强,可引起脂代谢调节因素的级联反应^[21]。并且AMPK在哺乳动物细胞能量平衡及细胞分化中发挥重要作用,其活化后能影响很多脂质代谢相关酶,如HMG-CoA、CPT-1^[22]。本实验中采用WB和RT-PCR方法探索COP降脂的机制,

结果证明COP改变了HepG2细胞内的能量物质ATP,ADP,AMP的比例关系,降低了细胞EC值,进而诱导AMPK蛋白的磷酸化,以及上调下游 β 氧化关键酶CPT-1的mRNA的表达和下调HMG-CoAmRNA的表达。这些结果均提示我们:COP降脂的途径可能与激活AMPK信号通路途径有关。

综上所述,通过体内动物水平研究证实了COP的治疗脂肪肝效果显著,具有降脂的功效,COP在体外HepG2细胞中,既有激活AMPK磷酸化的直接证据,又有激活AMPK信号通路的间接证据,降低了胆固醇合成酶HMG-Coa mRNA的表达,促进了脂肪酸 β -氧化CPT-1 mRNA的表达。我们的研究提示COP可能通过激活AMPK信号通路来改善大鼠脂肪肝。

参考文献

- [1] Kim K H, Lee I K, Cheng J P, et al. Benzylisoquinoline alkaloids from the tubers of *Corydalis ternata* and their cytotoxicity [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2010, 20(15): 4487-4490.
- [2] 潘晓丽, 向晖, 谢运飞, 等. 黄连碱基于NF- κ B信号通道的体外抗炎实验研究[J]. *中国抗生素杂志*, 2013, 38(12): 951-954.
- [3] Jing G, Shou-Bao W, Tian-Yi Y, et al. Coptisine protects rat heart against myocardial ischemia/reperfusion injury by suppressing myocardial apoptosis and inflammation [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 231(2): 384-391.
- [4] Zhang Z H, Zhang H J, Deng A J, et al. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Quaternary Coptisine Derivatives as Potential Anti-ulcerative Colitis Agents [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 58(18): 7557-71.
- [5] Jin Y, Liu S, Ma Q, et al. Berberine enhances the AMPK activation and autophagy and mitigates high glucose-induced apoptosis of mouse podocytes [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2016, 794: 106-114.
- [6] Chernyak B V, Antonenko Y N, Galimov E R, et al. Novel mitochondria-targeted compounds composed of natural constituents: conjugates of plant alkaloids berberine and palmatine with plastoquinone [J]. *Biochemistry Biokhimii*, 2012, 77(9): 983.
- [7] 杨红燕, 秦兴华, 杨兴斌, 等. 小檗碱通过减少O-GlcNAc修饰降低高糖诱导的HUVECs氧化应激并调节线粒体功能[J]. *中国病理生理杂志*, 2015, 31(10): 1822.
- [8] Fan H, Chen Y Y, Bei W J, et al. In Vitro Screening for Antihepatic Steatosis Active Components within *Coptidis Rhizoma* Alkaloids Extract Using Liver Cell Extraction with HPLC Analysis and a Free Fat-

- ty Acid-Induced Hepatic Steatosis HepG2 Cell Assay[J]. Evidence-Based Complementray and Alternat-ive Medicine, 2013, 2013 (6): 459390.
- [9] Sotoacosta R, Bautistacarbajal P, Cervantessalazar M, et al. DENV up-regulates the HMG-CoA reductase activity through the impairment of AMPK phos-phorylation: A potential antiviral target[J]. Plos Pathogens, 2017, 13(4): e1006257.
- [10] Li D, Zheng J, Hu Y. Amelioration of Intestinal Barrier Dysfunction by Berberine in the Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rats[J]. Ph-armacognosy Magazine, 2017, 13(52): 677-682.
- [11] Chen Z, Li C, Yang C, et al. Lipid Regulation Effects of Raw and Proc-essed Notoginseng Radix Et Rhizome on Steatotic Hepatocyte L02 Cell: [J]. Bi-omed Res Int, 2016, 2016(11): 2919034.
- [12] 刘玲, 黄紫乐. 齐墩果酸经线粒体损伤诱导 SMMC-7721 细胞凋亡的作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(2): 144-148.
- [13] Gong LL, Fang LH, Wang SB, et al. Coptisine exert cardioprotective effect through anti-oxidative and inhibition of RhoA/Rho kinase pathway on isopr-oterenol-induced myocardial infarction in rats[J]. Atherosclerosis, 2012, 222(1): 50-58.
- [14] Wang Z, Wang J, Chan P. Treating Type 2 Diabetes Mellitus with Tradit-ional Chinese and Indian Medicinal Herbs [J]. Evidence-Based Complementray and Alternative Medicine, 2013, 2013 (6): 343594.
- [15] Cheng P, Wang B, Liu X, et al. Facile synthesis of tetrahydroproto-berber-ine and protoberberine alkaloids from protopines and study on their antibacteri-al activities[J]. Natural Product Research, 2014, 28(7): 413-419.
- [16] Tang F, Mei W, Tian D, et al. An Evidence-based Perspective of Coptis-Chinensis, (Chinese Goldthread) for Cancer Patients [M]. Evidence-based Antic-ancer Materia Medica. Springer Netherlands, 2011: 111-130.
- [17] Zhou L, Yang F, Li G, et al. Coptisine Induces Apoptosis in Human Hepatoma Cells Through Activating 67-kDa Laminin Receptor/cGMP Signaling[J]. Frontiers in Pharmacology, 2018, 9: 00517.
- [18] 杨凡, 李欣, 章婷婷, 等. 黄连碱经活性氧中介物-线粒体途径诱导肺癌 NCI-H1650 细胞凋亡[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(24): 4033-4037.
- [19] 孙常磊. PH 区带逆流色谱分离纯化石蒜、黄连、豆豉姜和三颗针中的生物碱类化合物[D]. 济南: 山东中医药大学, 2016.
- [20] 王修婧. 不同比率 DHA/EPA 干预高脂小鼠脂质代谢作用及机制[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2016.
- [21] 黄德强, 罗凌玉, 王丽丽, 等. AMPK 在胰岛素信号转导通路中的作用[J]. 中国细胞生物学学报, 2011, 33(11): 1220-1229.
- [22] Alam M A, Subhan N, Rahman M M, et al. Effect of Citrus Flavonoids, Naringin and Naringenin, on Metabolic Syndrome and Their Mechanisms of A-ction[J]. Advances in Nutrition, 2014, 5(4): 404-417.

(2018-12-10 收稿 责任编辑: 王杨)

(上接第 47 页)

- [8] 李娟, 任路静, 孙冠男, 等. 气相色谱-质谱联用技术及其在代谢组学中的应用[J]. 生物工程学报, 2013, 29(4): 434-446.
- [9] 李凤霞, 李金磊, 荣向路, 等. 脂肪分化障碍引起的胰岛素抵抗、脂肪肝及高胆固醇血症小鼠模型研究[J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(1): 96-101.
- [10] Iichiro Shimomura, Robert E. Hammer, James A. Richardson, et al. Insulin resistance and diabetes mellitus in transgenic mice expressing nuclear SREBP-1c in adipose tissue: model for congenital generalized lipodystrophy[J]. Genes & Development, 1998, 12(20): 3182.
- [11] Shimomura I, Bashmakov Y, Horton J D. Shimomura, I. Bashmakov, Y. & Horton, J. D. Increased levels of nuclear SREBP-1c associated with fatty livers in two mouse models of diabetes mellitus[J]. Journal of Biological Chemistry, 1999, 274(42): 30028-30032.
- [12] 陶嘉磊, 汪受传, 单进军, 等. 消风宣窍汤治疗小鼠变应性鼻炎血清代谢组学研究[J]. 中药材, 2018, 41(10): 2168-2172.
- [13] Yoon M S. The Emerging Role of Branched-Chain Amino Acids in Insulin Resistance and Metabolism[J]. Nutrients, 2016, 8(7): 405.
- [14] Nie C, He T, Zhang W, et al. Branched Chain Amino Acids: Beyond Nutrition Metabolism [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(4): 954.
- [15] Wang C X, Guo F F. Branched chain amino acids and metabolic regulation[J]. Chinese Science Bulletin, 2013, 58(11): 1228-1235.
- [16] Cheng Y, Meng Q, Wang C, et al. Leucine Deprivation Decreases Fat Mass by Stimulation of Lipolysis in White Adipose Tissue and Upregulation of Uncoupling Protein 1 (UCP1) in Brown Adipose Tissue [J]. Diabetes, 2010, 59(1): 17-25.
- [17] Kahn B B, Myers M G. mTOR tells the brain that the body is hungry [J]. Nature Medicine, 2006, 12(6): 615-616.
- [18] Lian K, Du C, Liu Y, et al. Impaired Adiponectin Signaling Contributes to Disturbed Catabolism of Branched-Chain Amino Acids in Diabetic Mice[J]. Diabetes, 2015, 64(1): 49-59.
- [19] Paul T, Beattie J H. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ[J]. Proceedings of the Nutrition Society, 2001, 60(3): 11.

(2018-12-10 收稿 责任编辑: 王杨)