温度胁迫下泽泻中三萜类成分及其生物合成酶基因的相关性研究

卢雪花，孙凤灵，李丽莎，张亚敏，徐小妹，林文津*，徐榕青*(福建省医学科学研究院，福建省医学测试重点实验室，福州 350001)

摘要：目的 研究温度胁迫下泽泻中三萜类成分及其生物合成酶基因表达的相关性。**方法** 以不同温度(0，6，16，26 ℃)栽培下的泽泻为研究对象，采用 UPLC-MS/MS 检测泽泻叶片中 8 种三萜类成分泽泻醇 A、泽泻醇 B、泽泻醇 F、泽泻醇 G、24-乙酰泽泻醇 A、23-乙酰泽泻醇 B、23-乙酰泽泻醇 C、24-乙酰泽泻醇 F 的含量及总量，并采用 qRT-PCR 技术检测三萜类合成途径中生物合酶 *HMGR*、*SQS*、*FPPS*、*MVD* 的 mRNA 水平。**结果** 泽泻叶片中 23-乙酰泽泻醇 B 及 8 种三萜类成分总量与 *SQS*、*HMGR* 基因的 mRNA 水平呈正相关(P<0.05)；而 *FPPS* 及 *MVD* 基因在不同温度干预下 mRNA 水平无显著性变化。**结论** SQS、HMGR 可能是泽泻中三萜类成分合成的限速酶，且其表达受到环境温度的调节。

关键词：泽泻；温度胁迫；三萜类成分；生物合成酶；相关性

中图分类号：R917 **文献标志码：**B **文章编号：**1007-7693(2020)19-2339-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.19.007

引用本文：卢雪花, 孙凤灵, 李丽莎, 等. 温度胁迫下泽泻中三萜类成分及其生物合成酶基因的相关性研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(19): 2339-2343.

Correlation Study Between the Expression of Triterpenoids and Biosynthesis Enzyme Genes in *Alisma Orientale* Under Temperature Stress

LU Xuehua, SUN Fengling, LI Lisha, ZHANG Yamin, XU Xiaomei, LIN Wenjin*, XU Rongqing*(*Fujian Academy of Medical Sciences, Fujian Provincial Key Laboratory of Medical Testing, Fuzhou 350001, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the correlation between the expression of triterpenoids and biosynthetic enzyme genes in *Alisma orientale* under temperature stress. **METHODS** *Alisma orientale* under different temperature(0, 6 , 16, 26 ℃) cultivations were used as test materials, the content of eight triterpenoids in leaves, including alisol A, alisol B, alisol F, alisol G, alisol A 24 acetate, alisol B 23 acetate, alisol C 23 acetate and alisol F 24 acetate, was detected by UPLC-MS/MS. And then the qRT-PCR was utilized to analyze the expression of biosynthetic enzyme genes *HMGR*, *SQS*, *FPPS* and *MVD* mRNA in triterpenoid synthesis pathway. **RESULTS** Alisol B 23 acetate and the total content of eight triterpenoids in leaves of *Alisma orientale* were positively correlated with the relative expression of *SQS* and *HMGR* mRNA, respectively(P<0.05). While, there was no significant difference in the expression of genes *FPPS* and *MVD* mRNA with different temperature interventions. **CONCLUSION** SQS and HMGR may be the rate-limiting enzymes in the synthesis of triterpenoids in *Alisma orientale*, and their expression is regulated by temperature.

KEYWORDS: *Alisma orientale*; temperature stress; triterpenoids; biosynthetic genes; correlation

泽泻为泽泻科植物泽泻 *Alisma orientale* (Sam.)Juzep.的干燥块茎，性味甘、淡、寒，归肾、膀胱经，有化浊降脂、利水渗湿、泄热的功效[1]。三萜类成分是泽泻发挥药效的物质基础[2-4]，具有降血脂[5-10]、降血糖[11-12]、抗炎[13-14]、抗肿瘤[15-16]、保肝[17-18]、利尿[19]等一系列药理活性。

三萜类成分的合成途径主要分为 2 部分，首先在甲羟戊酸(mevalonic acid，MVA)途径中，其初始物质辅酶 A(coenzyme-A，Co-A)是植物体内初生代谢糖酵解的产物。Co-A 在 α-1 抗胰糜蛋白酶(alpha1 antichymotrypsin，AACT)、羟甲基戊二酸单酰辅酶 A 合成酶(hydroxymethyl glutaric acid synthetase，HMGS)、β-羟基-β-甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶(β-hydroxy-β-methylglutary-CoA reductase，HMGR)等相关酶的催化下，生成三萜类成分合成途径中的重要中间体物质——MVA。MVA 在磷酸甲羟戊酸激酶(phosphomevalonate kinase，PMVK)、焦磷酸甲羟戊酸脱羧酶(pyrophosphomevalonate decarboxylase，MVD)的催化下，生成三萜类成分合成途径中的关键中间体

基金项目：福建省自然科学基金项目(2018J01123)；福建省卫计委医学创新课题(2018-CX-15)；福建省中医药科研项目(2017FJZYZY103)

作者简介：卢雪花，女，硕士 Tel: (0591)87514999 E-mail: lxh6675@163.com *__通信作者__：林文津，男，博士，副研究员 Tel: (0591)87514999 E-mail: lwj680@139.com 徐榕青，男，硕士，研究员 Tel: (0591)87514999 E-mail: xrq163@126.com

物质异戊烯焦磷酸(isotactic polypropylene，IPP)。法尼基焦磷酸合酶(farnesyl pyrophosphate synthase，FPPS)处于 MVA 途径及 2-甲基赤藓醇磷酸/1-脱氧木酮糖-5-磷酸(2-C-methyl-D-erythritol4-phosphate/DL-glyceraldehyde 3-phosphate，MEP/ DOXP)途径的交汇处，能够催化 IPP 与牻牛儿基焦磷酸(geranylpyrophosphate，GPP)反应生成中间产物法尼基焦磷酸(farnesyl pyrophosphat，FPP)。*SQS* 基因催化位点位于倍半萜与三萜类成分的分支处，决定植物中倍半萜和三萜类成分的合成流向。这些酶均为三萜类成分生物合成途径中的关键酶。目前，国内外对泽泻的研究主要集中在化学成分与药理作用，而对泽泻中主成分三萜类化合物及其生物合成酶基因表达的文献报道较为少见。

基于此，本研究通过不同温度胁迫下泽泻叶片中三萜类成分含量及其生物合成酶基因 mRNA 水平的相关性分析，探讨泽泻活性成分生物合成酶基因的影响，为泽泻资源的合理开发利用提供理论依据。

1 材料

1.1 植物

泽泻采自福建省建瓯市吉阳镇建泽泻种植基地，经福建省医学科学研究院徐榕青研究员鉴定为泽泻科植物泽泻 *Alisma orientale* (Sam.)Juzep.。

1.2 仪器

ACQUITYUPLCI-Class色谱仪、XevoTQ-S 三重四级杆串联质谱检测器均来自美国 Waters 公司；ABI Prism® 7 500 荧光定量 PCR 仪(美国应用生物系统公司)；KQ-3200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)；AL204 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.3 试剂

23-乙酰泽泻醇 B(批号：111846-201504；纯度：98.24%)、甘草次酸(批号：110723-201514；纯度：99.36%)均购自中国食品药品鉴定研究院；泽泻醇 A(批号：19885-10-0；纯度：99.36%)、泽泻醇 B(批号：18649-93-9；纯度：99.38%)、泽泻醇 F(批号：155521-45-2；纯度：99.89%)、泽泻醇 G(批号：155521-46-3；纯度：99.88%)、23-乙酰泽泻醇 C(批号：26575-93-9；纯度：99.84%)、24-乙酰泽泻醇 A(批号：18674-16-3；纯度：98.49%)、24-乙酰泽泻醇 F(批号：443683-76-9；纯度：97.68%)均购自成都曼思特生物科技有限公司；乙腈(色谱纯，德国 Merck 公司)；甲醇为国产分析纯。

2 方法

2.1 植株分组与处理

选择植物形态、营养状况相近的泽泻幼苗移栽至实验室花盆中，常温培育至长出新叶后，随机分为 0，6，16，26 ℃等 4 个温度水平，每组 3 株。温度干预 12 h 后，各取 2 片嫩叶，DEPC 水处理后于液氮中速冻，–80 ℃保存，用于提取 RNA。各温度继续干预 1 周后，取叶片于 60 ℃烘干、磨粉备用。

2.2 UPLC-MS/MS 测定三萜类成分含量

2.2.1 色谱条件 采用 Waters CORTECS C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm，1.6 μm)，柱温 40 ℃。流动相为 0.1%甲酸水(A)-乙腈(B)，梯度洗脱(0~1 min，70% A；1~1.5 min，70%→45% A；1.5~5.5 min，45%→25% A；5.5~7.5 min，25%→10% A；7.5~8.5 min，10% A；8.5~8.6 min，10%→70% A；8.6~10 min，70% A)。流速 0.25 mL·min^{-1}，进样量 2 μL。

2.2.2 质谱条件 采用电喷雾正离子模式，毛细管电压 3.5 kV，脱溶剂气流：氮气 800 L·h^{-1}，脱溶剂温度 500 ℃，锥孔气流：氮气 150 L·h^{-1}，离子源温度：150 ℃，二级锥孔萃取电压：3.00 V，碰撞气体：氩气。

2.2.3 混合对照品储备液及内标溶液的制备 精密称取泽泻醇 A、泽泻醇 B、泽泻醇 F、泽泻醇 G、23-乙酰泽泻醇 B、23-乙酰泽泻醇 C、24-乙酰泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 F 对照品适量，加乙腈分别配制为浓度 0.49，0.52，0.5，0.50，0.49，0.52，0.51 和 0.53 mg·mL^{-1} 的混合对照品储备液。精密称取甘草次酸对照品适量，加乙腈配制成浓度 0.51 mg·mL^{-1} 的甘草次酸溶液，稀释 100 倍，得 5.1 μg·mL^{-1} 甘草次酸内标液。

2.2.4 样品溶液制备 称取泽泻叶片粉末约 0.5 g 置于 50 mL 锥形瓶中，加入乙腈 25 mL 并称重，超声处理 30 min 后，补足失重，摇匀。稀释 20 倍后与甘草次酸内标溶液 1∶1 混合。0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。

2.2.5 含量测定 采用正离子多反应监测定量模式，按“2.2.1”和“2.2.2”项下液相及质谱条件测定样品溶液中各成分含量。

2.3 mRNA 含量检测

根据课题组前期转录组实验得到的 *SQS*、*HMGR*、*FPPS* 和 *MVD* 的 mRNA 序列，采用 Beacon

Designer 7 软件设计 qRT-PCR 引物。引物序列见表 1。PCR 反应体系：2×SYBR Premix Ex Taq II，10 μL；50×ROX Reference Dyeor Dye II，0.4 μL；上下游引物各 0.4 μL；cDNA，2 μL；加水至 20 μL。反应程序为：95 ℃ 30 s，95 ℃ 5 s，60 ℃ 34 s，重反应 40 个循环，溶解曲线分析。

2.4 数据分析

采用 7500 Fast Systerm SDS Software 分析各基因的相对表达量。利用 SPSS 21.0 软件进行数据分析，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 qRT-PCR 引物信息
Tab. 1 qRT-PCR primer information

基因	引物	引物序列(5'→3')	Tm/ ℃
18s	18sF	TGACTCTCGGCAACGGATATC	59.97
	18sR	TCACACCAAGTATCGCATTTCG	58.21
SQS	Q-SF	GCTGGATTGGTTGGACTA	60.5
	Q-SR	AAGAGAATCTGAAGCGAGTT	60.8
FPPS	Q-FF	CTTGCGTTCTCATAATCTGT	59.7
	Q-FR	ATCCTGCTTGTGTTGCTA	60.4
HMGR	Q-HF	AACTGTACCGACCTCAAT	59.3
	Q-HR	CCTGACTATGCTAGAACCT	59.4
MVD	Q-MF	CACTCTGATTCCACTTCTCC	61.5
	Q-MR	GTCTTGATACTAGCCCTCCT	61.9

3 结果

3.1 温度胁迫下泽泻叶片中 8 种三萜类成分的含量及总量

泽泻在不同温度干预下，8 种三萜类成分的含量及分布情况见图 1。其中，泽泻醇 A、23-乙酰泽泻醇 C、24-乙酰泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 F、泽泻醇 F、泽泻醇 G 的含量较低，并且随温度变化不大；泽泻醇 B 的含量在 26 ℃时达到高峰；23-乙酰泽泻醇 B 的含量均高于其他成分，在 6 ℃时含量达到最高，0 ℃最低；8 种三萜类化学成分总量与 23-乙酰泽泻醇 B 相似。

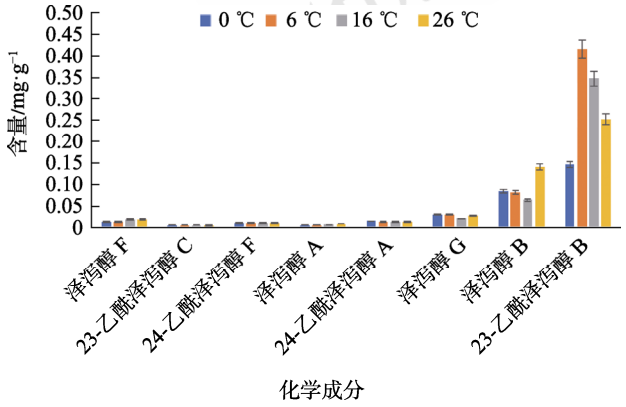


图 1 不同温度影响下泽泻叶片中 8 种三萜类成分及总量分布图
Fig. 1 Composition and total distribution of 8 triterpenoids in *Alisma orientale* leaves under different temperature

3.2 4 种待测基因在不同温度影响下的 mRNA 水平

不同温度影响下泽泻中各基因的 mRNA 水平见表 2 及图 2。其中，*HMGR* 与 *SQS* mRNA 水平变化趋势相同，在 6 ℃时表达量最高，0 ℃表达量较低。经 SPSS 软件分析发现，*SQS* 基因 mRNA 在 0 ℃与 6，16，26 ℃有显著性差异($P<0.05$)；*HMGR* 基因相对表达量在 0 ℃与 6，26 ℃，6 ℃与 16 ℃有显著性差异($P<0.05$)，其他各组之间均无显著性差异。*FPPS* 基因 mRNA 呈上升趋势，MVD 呈下降趋势，然而二者在不同温度胁迫下 mRNA 水平均无显著性差异。因此，*FPPS*、*MVD* 基因在泽泻叶中的 mRNA 可能不受温度影响。

表 2 不同温度胁迫下各基因 mRNA 水平($\bar{x}\pm s$)
Tab. 2 Relative expression of genes mRNA with different temperature stress($\bar{x}\pm s$)

组别	*SQS*	*HMGR*	*FPPS*	*MVD*
0 ℃	1.010±0.074	1.319±0.410	2.216±0.927	2.833±1.328
6 ℃	2.963±0.491	5.000±0.620	2.615±0.908	2.063±0.658
16 ℃	2.352±0.212	2.683±0.379	4.433±1.420	2.087±0.857
26 ℃	2.842±0.698	3.643±0.956	5.236±1.917	1.516±0.226

注：与 0 ℃时比较，$^{1)}P<0.05$；与 6 ℃时比较，$^{2)}P<0.05$。
Note: Compared with 0 ℃, $^{1)}P<0.05$; compared with 6 ℃, $^{2)}P<0.05$.

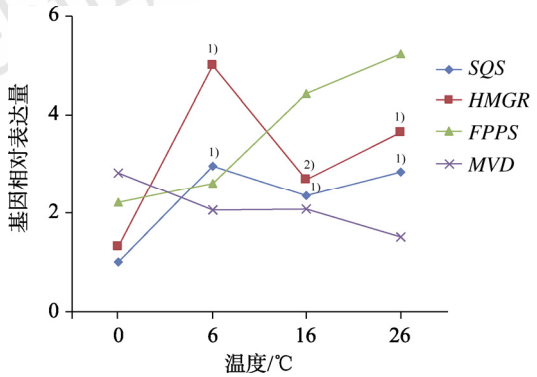


图 2 目的基因 mRNA 水平随温度变化趋势
与 0 ℃时比较，$^{1)}P<0.05$；与 6 ℃时比较，$^{2)}P<0.05$。
Fig. 2 Trend of relative expression of target genes mRNA with different temperatures
Compared with 0 ℃, $^{1)}P<0.05$; compared with 6 ℃, $^{2)}P<0.05$.

3.3 相关性分析

为了探讨温度胁迫下，泽泻三萜类合成关键酶基因表达量和三萜类成分合成的关系，本研究分析了 *SQS*、*HMGR* 等基因的 mRNA 水平和泽泻中 8 种三萜类成分及其总量在不同温度干预下的

相关性。结果发现 8 种单一成分的分布变化与 mRNA 水平并无明显相关性，仅 23-乙酰泽泻醇 B 及 8 种三萜类成分总量在不同温度干预下与 *SQS*、*HMGR* 基因的 mRNA 水平变化呈正相关($P<0.05$)。可能原因是外界温度调控了 *HMGR*、*SQS* 基因，从而影响了化学成分的变化。*FPPS* 及 *MVD* 基因在不同温度干预下 mRNA 水平无显著变化，因此可能不受外界温度的影响。

4 讨论

萜类成分是广泛存在于植物界中的一类次生代谢产物，其生物代谢合成途径有 MVA 和 DOXP/MEP 2 条。三萜类成分的生物合成途径主要为 MVA 途径。HMGR 是三萜类成分合成途径中的第 1 个限速酶[20-21]，将催化 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶(3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A reductase， HMG-CoA)生成 MVA 中间体；MVD 催化 5-焦磷酸 MVA 生成关键中间体 IPP，是 MVA 途径中的最后一个催化酶，在三萜类成分合成中发挥关键作用[22]。FPPS 处于 MVA 途径及 MEP/DOXP 途径的交汇处，能够催化一分子 IPP 与一分子 GPP 反应生成三萜类成分生物合成的重要中间产物 FPP。最后经 SQS 催化合成鲨烯，SQS 催化位点位于倍半萜与三萜类成分的分支处，决定植物中倍半萜和三萜类成分的合成流向，是三萜类成分生物合成的另一个调控关键酶[23]。SE 可催化鲨烯转变为 2,3-氧化鲨烯，再经氧化鲨烯环化酶的环化作用生成不同类型的三萜类骨架。

泽泻中三萜类成分合成关键酶基因的表达调控了不同三萜成分生物合成的流向，而温度作为外部因素对三萜成分的合成也有重要影响。有研究表明药材质量的形成受外部环境的影响，外部环境的变化导致药材内在遗传因素调控药效成分的生物合成对环境因子的响应呈现出多样性，内在遗传因素与外部环境因素共同决定了药材质量的形成[15]。

本研究中在不同温度干预下 23-乙酰泽泻醇 B 及 8 种三萜类成分总量与 *HMGR*、*SQS* 基因的 mRNA 水平呈正相关，可能原因是外界温度调控了泽泻中主导药效成分的 *HMGR*、*SQS* 基因，从而影响了化学成分的变化，说明 *SQS*、*HMGR* 基因可能是泽泻中三萜类成分合成的关键限速酶[24-26]。*FPPS* 及 *MVD* 基因在不同温度干预下 mRNA 水平无显著变化，可能是由于在泽泻植株中这两种基因对温度不敏感。

综合这 4 种三萜类成分合成关键酶随环境温度的变化趋势及泽泻叶片中三萜类成分含量的变化规律，发现 6 ℃是比较适宜泽泻快速积累三萜类有效成分的温度。结合福建省每年的温度变化规律及泽泻的生长发育特点，可知目前建瓯市吉阳镇泽泻种植基地实行的 8 月份育苗，12 月底至 1 月初采收泽泻块茎的种植方式是比较科学合理的。

REFERENCES

[1] 中国药典. 一部[S]. 2015: 229.

[2] LIU S, GUO J, LI Z A, et al. Advances in studies on chemical compositions of Alismatis Rhizoma and their biological activities [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2020, 45(7): 1578-1595.

[3] LI H M, CHEN X J, LUO D, et al. Protostane-type triterpenoids from *Alisma orientale* [J]. Chem Biodiversity, 2017, 14(12): e1700452. Doi:10.1002/cbdv.201700452.

[4] MA Q J, HAN L, BI X X, et al. Structures and biological activities of the triterpenoids and sesquiterpenoids from *Alisma orientale* [J]. Phytochemistry, 2016(131): 150-157.

[5] ZHANG Y M, LIN W J, XU X M, et al. Effect of Rhizoma Alismatis extract on skeletal muscle mitochondrial structure of rats with spleen *Asthenia* [J]. Med Innov China(中国医学创新), 2018, 15(5): 1-4.

[6] LIAO M L, SHANG H H, LI Y Z, et al. An integrated approach to uncover quality marker underlying the effects of *Alisma orientale* on lipid metabolism, using chemical analysis and network pharmacology [J]. Phytomedicine, 2018(45): 93-104.

[7] XU X M, LIN W J, ZHANG Y M, et al. Hypolipidemic effect of Zexietang and correlation with intestinal microflora [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae(中国实验方剂学杂志), 2017, 23(3): 116-121.

[8] DOU F, MIAO H, WANG J W, et al. An integrated lipidomics and phenotype study reveals protective effect and biochemical mechanism of traditionally used *Alisma orientale* Juzepzuk in chronic kidney disease [J]. Front Pharmacol, 2018(9): 35. Doi:10.3389/fphar.2018.00053.

[9] CHEN H, CHEN J S, ZHANG H L, et al. Analysis on drugs-symptoms correspond rules in herbal prescriptions for hyperlipidemia based on association rules [J]. Pharm Today(今日药学), 2018, 28(11): 790-792.

[10] YUAN Y, GAO H J, WANG J H, et al. Separated prescription research on black currant seed and Zexie decoction, Crataegi Fructus combination about depressurization and adjusting blood lipid [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(4): 414-419.

[11] KIM Y, LEE I S, KIM K H, et al. Metabolic profiling of liver tissue in diabetic mice treated with *Artemisia capillaris* and

Alisma Rhizome using LC-MS and CE-MS [J]. Am J Chin Med, 2016, 44(8): 1639-1661.

[12] DING C Y, TAN Q Y, SHI N C. *Alisma* versus gliclazide in the treatment of primary diabetes in goto-kakizaki rats [J]. Acta Acad Med Sin(中国医学科学院学报), 2015, 37(4): 451-455.

[13] KIM H G, KIM M Y, CHO J Y. *Alisma canaliculatum* ethanol extract suppresses inflammatory responses in LPS-stimulated macrophages, HCl/EtOH-induced gastritis, and DSS-triggered colitis by targeting Src/Syk and TAK1 activities [J]. J Ethnopharmacol, 2018(219): 202-212.

[14] HUANG Y S, YU Q Q, CHEN Y, et al. Phenolic constituents from *Alisma plantago-Aquatica* Linnaeus and their anti-chronic prostatitis activity [J]. Chem Central J, 2017, 11(1): 120. Doi: 10.1186/s13065-017-0350-9.

[15] WANG J X, LI H Z, WANG X N, et al. Alisol B-23-acetate, a tetracyclic triterpenoid isolated from *Alisma orientale*, induces apoptosis in human lung cancer cells via the mitochondrial pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 505(4): 1015-1021.

[16] CHOI J, AHN S, LIM Y, et al. Inhibitory effect of *Alisma canaliculatum* ethanolic extract on NF-κB-dependent CXCR3 and CXCL10 expression in TNFα-exposed MDA-MB-231 breast cancer cells [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(9): 2607. Doi: 10.3390/ijms19092607.

[17] HUO X K, LIU J, YU Z L, et al. *Alisma orientale* extract exerts the reversing cholestasis effect by activation of farnesoid X receptor [J]. Phytomedicine, 2018(42): 34-42.

[18] JEONG H S, CHO Y H, KIM K H, et al. Anti-lipoapoptotic effects of *Alisma orientalis* extract on non-esterified fatty acid-induced HepG2 cells [J]. BMC Complement Altern Med, 2016(16): 239. Doi 10.1186/s12906-016-1181-2.

[19] ZHANG X, LI X Y, LIN N, et al. Diuretic activity of compatible triterpene components of Alismatis Rhizome [J]. Molecules, 2017, 22(9): 1459. Doi: 10.3390/molecules22091459.

[20] ZHAO Y L, LI E T S, WANG M F. Alisol B_{23} -acetate induces autophagic-dependent apoptosis in human colon cancer cells via ROS generation and JNK activation [J]. Oncotarget, 2017, 8(41): 70239-70249.

[21] LI S, JIN S N, SONG C W, et al. The metabolic change of serum lysophosphatidylcholines involved in the lipid lowering effect of triterpenes from Alismatis Rhizoma on high-fat diet induced hyperlipidemia mice [J]. J Ethnopharmacol, 2016(177): 10-18.

[22] ABBASSI S J, VISHWAKARMA R K, PATEL P, et al. *Bacopa monniera* recombinant mevalonate diphosphate decarboxylase: Biochemical characterization [J]. Int J Biol Macromol, 2015(79): 661-668.

[23] SHAO C, FU B J, JI N, et al. Alisol B_{23}-acetate inhibits IgE/Ag-mediated mast cell activation and allergic reaction [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(12): 4092. Doi: 10.3390/ijms19124092

[24] WANG C F, FENG L, MA L, et al. Alisol A 24-acetate and alisol B_{23}-acetate induced autophagy mediates apoptosis and nephrotoxicity in human renal proximal tubular cells [J]. Front Pharmacol, 2017(8): 172. Doi: 10.3389/fphar.2017.00172.

[25] KANNO Y, YATSU T, YAMASHITA N, et al. Alisol B_{23} -acetate from the rhizomes of *Alisma orientale* is a natural agonist of the human pregnane X receptor r [J]. Phytomedicine, 2017(26): 22-27.

[26] ZHANG B, LIU Y, CHEN M, et al. Cloning, Expression analysis and functional characterization of squalene synthase (sqs) from *Tripterygium wilfordii* [J]. Molecules, 2018, 23(2): 269. Doi: 10.3390/molecules23020269.

收稿日期：2019-08-28
(本文责编：曹粤锋)

http://www.chinjmap.com