

乌药叶提取物对高脂血症模型大鼠降脂作用以及肝脏 LKB1-AMPK 通路的影响

孙嫣^{1,2}, 黄晶晶³, 业康³, 毛培江^{3*}, 王志安^{3*}, 梁会玲³, 金捷³(1.浙江中医药大学第四临床医学院, 杭州 310053; 2.浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院临床药学科, 浙江省临床肿瘤药理与毒理学研究重点实验室, 杭州 310006; 3.浙江省中药研究所有限公司, 杭州 310023)

摘要: 目的 考察乌药叶提取物对高脂血症大鼠模型降脂作用以及对肝脏 LKB1-AMPK 通路相关蛋白表达的影响。方法 采用高脂饲料诱导的混合型高脂血症大鼠模型, 以高、低剂量(1.6, 0.8 g·kg⁻¹ 以生药量计)的乌药叶提取物灌胃, 阳性药组给予非诺贝特 20 mg·kg⁻¹, 连续 8 周。分别在 4, 8 周后检测血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)及高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平。实验末处死大鼠, 解剖取肝脏, 计算肝脏指数, 油红 O 染色观察肝组织脂质蓄积程度, Western blotting 检测肝脏 LKB1-AMPK 通路相关蛋白的表达。结果 连续给药 4 周, 与模型组相比, 阳性药组血清 TG 水平有显著降低($P<0.05$)。连续给药 8 周, 与模型组相比, 高剂量组能显著降低血清中 TC、TG、LDL-C 的水平($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。与对照组比, 高、低剂量组和模型组肝脏指数均极显著升高($P<0.01$); 与模型组比, 高、低剂量组有降低的趋势, 但差异无统计学意义。肝组织油红 O 染色结果显示, 模型组肝细胞脂质蓄积严重, 脂肪变性程度高, 高剂量组肝细胞脂质蓄积和脂肪变性程度均有不同程度的改善。高、低剂量组均可显著提高模型大鼠肝脏 AMPK α 蛋白磷酸化水平。结论 乌药叶提取物能够降低血清脂质水平, 改善肝细胞脂质蓄积, 并且增加 AMPK α 蛋白磷酸化水平, 激活 AMPK α , 从而促进脂质代谢。

关键词: 乌药叶; 高脂血症; AMPK; 降血脂

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2020)07-0821-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.07.009

引用本文: 孙嫣, 黄晶晶, 业康, 等. 乌药叶提取物对高脂血症模型大鼠降脂作用以及肝脏 LKB1-AMPK 通路的影响[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(7): 821-825.

Effect of *Lindera Aggregata* Extract on Lipid-lowering and Hepatic LKB1-AMPK Pathway in Hyperlipidemic Rat Model

SUN Yan^{1,2}, HUANG Jingjing³, YE Kang³, MAO Peijiang^{3*}, WANG Zhian^{3*}, LUAN Huiling³, JIN Jie³(1.The Fourth Clinical Medical College of Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China; 2.Department of Clinical Pharmacy, Affiliated Hangzhou First People's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Key Laboratory of Clinical Cancer Pharmacology and Toxicology Research of Zhejiang Province, Hangzhou 310006, China; 3.Zhejiang Research Institute of Chinese Medicine Co., Ltd., Hangzhou 310023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the antilipemic function of extract from *Lindera aggregata* and the effect on hepatic LKB1-AMPK pathway in hyperlipidemia model rats. **METHODS** A rat model of mixed hyperlipidemia induced by high-fat diet, high and low doses group were administered with high and low doses of 1.6, 0.8 g·kg⁻¹ of crude drug extracts for 8 weeks. The positive group was administered with 20 mg·kg⁻¹ fenofibrate. Serum levels of total cholesterol(TC), triglyceride(TG), low-density lipoprotein cholesterol(LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol(HDL-C) were detected after 4 and 8 weeks administration. At the end of the experiment, the rats were sacrificed and the liver was dissected to observe its effect on liver index and the degree of lipid accumulation in liver tissues was observed by oil red O staining. Western blotting was used to detect the expression of LKB1-AMPK pathway related proteins in liver. **RESULTS** After continuous administration for 4 weeks, compared with the model group, the levels of TG in serum significantly reduced in the positive group($P<0.05$). After continuous administration for 8 weeks, the high dose group significantly reduced the levels of TC and LDL-C in serum compared with the model group($P<0.01$ or $P<0.05$). Compared with the control group, the liver index of the high and low dose groups and the model group were extremely significantly increased($P<0.01$). Compared with the model group, the high and low dose groups had a decreasing trend, but there was no statistical difference. The results of oil red O staining in liver tissue showed that the hepatocytes in the model group had serious lipid accumulation and high degree of steatosis, and the hepatocytes in the high dose group of *Lindera aggregata* extract had different degrees of improvement in lipid accumulation and steatosis. The high and low dose group, AMPK α protein phosphorylation was significantly increased in rats liver. **CONCLUSION** *Lindera aggregata*

作者简介: 孙嫣, 女, 硕士生, 主管药师 Tel: (0571)56007192 E-mail: 61012796@qq.com *通信作者: 毛培江, 男, 硕士, 高级工程师 Tel: (0571)85241073 E-mail: maopeijiang@163.com 王志安, 男, 教授级高级工程师 Tel: (0571)85229946 E-mail: 13805786846@qq.com

extract has certain lipid-lowering effect and can improve hepatocyte steatosis. The mechanism may promote lipid metabolism by activating AMPK α protein phosphorylation.

KEYWORDS: *Lindera aggregata*; hyperlipidemia; AMPK; lipid-lowering

乌药, 为樟科植物乌药 *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm. 的干燥块根, 有行气止痛、温肾散寒的功效, 为浙江天台地区的道地药材。乌药不仅具有抗菌、抗病毒、抗炎镇痛、抗肿瘤、抗氧化等广泛的药理活性, 还对消化系统、心血管系统以及中枢神经系统等方面有显著的调节作用, 对糖尿病肾病、肝脏等具有保护作用^[1]。近年来, 随着中药提取分离技术和中药化学技术的快速发展, 特别是 2012 年乌药叶被列入新食品原料后, 关于乌药叶化学成分以及功效的研究越来越多。顾莉蕴等^[2]发现乌药叶总黄酮具有良好的抗氧化作用, 对四氯化碳导致的小鼠肝损伤具有保护作用。乌药叶中含有黄酮类、挥发油类等多种成分, 具有降血脂、抗氧化、保肝、治疗心血管疾病等多种药理药效作用^[3-6]。

为了探究乌药叶提取物对高脂血症的临床应用价值, 本研究采用高脂血症大鼠模型考察乌药叶提取物的降脂功效及其作用机制, 为乌药叶临床应用提供参考。

1 材料

1.1 样品与试剂

乌药叶提取物[浙江红石梁集团天台山乌药有限公司, 总黄酮含量 5.9%(1 g 相当于 0.15 g 生药), 批号: 20180612]。

1.2 动物

SD 大鼠 50 只, SPF 级, ♂, 体质量 180~220 g, 由浙江省实验动物中心提供, 动物生产许可证号: SCXK(浙)2014-0001, 质量合格证号: No.1809140025。

1.3 高脂饲料

北京科澳协力饲料有限公司定制, 配方: 20% 蔗糖、15% 猪油、1.2% 胆固醇、0.2% 胆酸钠, 适量的酪蛋白、磷酸氢钙、石粉等。除了粗脂肪外, 模型饲料的水分、粗蛋白、粗脂肪、粗纤维、粗灰分、钙、磷、钾、磷均要达到维持饲料的国家标准。级别: SPF 级。

1.4 仪器与试剂

7020 全自动生化分析仪、CS120FNX 落地式微量超速冷冻离心机均来自 HITACHI; ASP300 全自动真空组织脱水机、DM4000B 生物显微镜均来自 Leica; JS-1070Mini 化学发光成像系统(上海培清); XD-202 倒置生物显微镜(南京江南永新);

Mini-PROTEAN Tetra 电泳槽、MiniTrans-Blot Module170-3935 转印电泳槽模块均来自 Bio-Rad; TS-1000 脱色摇床(其林贝尔)等。

甘油三酯(TG)试剂盒(批号: 00004377)、总胆固醇(TC)试剂盒(批号: 00003800); 高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒(批号: 00004570); 低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒(批号: 00004520)均为德国 DiaSys Diagnostic Systems GmbH 进口分装。苏木精/伊红染料(上海品伊生物科技有限公司, 批号: PT0298B-20190110)。LKB1 抗体(批号: 3047S-2)、phospho-LKB1 抗体(批号: 3482S-8)、AMPK α 抗体(批号: 5832T-4)、phospho-AMPK α 抗体(批号: 5256S-1)均购自 CST; 其他蛋白电泳试剂均购自碧云天。

2 方法

2.1 高脂血症大鼠模型的建立

SD 大鼠 50 只, 于屏障系统动物房内, 适应性饲养 1 周后, 预留 10 只大鼠给予基础饲料作为对照组, 其余大鼠给予高脂饲料造模。造模 1 周后, 对照组和模型组大鼠不禁食, 眼内眦采血, 分离血清, 测定血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平。模型组大鼠血脂水平显著高于对照组, 造模成功。

2.2 分组与给药

成模大鼠根据 TC 水平随机分成 4 组(乌药叶高、低剂量组, 模型组, 阳性药组), 分组后各组与模型组比较 TC、TG、LDL-C、HDL-C 差异均无显著性。高、低剂量组, 分别以乌药叶提取物 1.6, 0.8 g·kg⁻¹(以生药计)每天灌胃给药, 模型组和对照组给予等容蒸馏水, 灌胃容积为 1 mL·(100 g)⁻¹, 阳性药组以非诺贝特 20 mg·kg⁻¹ 每天灌胃给药, 大鼠每周称体质量 1 次, 根据各组平均体质量调整给药剂量, 连续给药 8 周。给药期间除对照组外, 其余各组均高脂饲料喂养维持造模。

2.3 观察指标

2.3.1 一般观察 各组大鼠每日进行毛色、行为等日常观察, 每周称量体质量, 第 8 周检测 24 h 进食量, 实验末处死大鼠, 解剖取肝脏, 计算肝脏指数(肝脏质量/体质量×100%)。

2.3.2 血生化检测 分别于给药后 4, 8 周取血检测血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C。

2.3.3 肝组织形态与油红 O 染色 实验末处死大鼠，解剖取肝脏，先进行肉眼观察肝脏外观形态。每组随机取新鲜肝组织样本 4 块，大小约为 1.0 cm × 1.0 cm × 1.0 cm，OTC 固定液在冰冻切片机上固定肝组织小块 15 min，切片厚度为 10~15 μm，进行常规油红 O 染色，生物显微镜下观察肝脏脂滴 100 倍分布情况，并利用 Image J 图像分析软件进行半定量分析。

2.3.4 对 LKB1-AMPK 通路相关蛋白的影响 称取(0.10±0.02)g 肝组织，加入 1 mL 组织蛋白抽提液，10 000 r·min⁻¹ 匀浆处理：冰上孵育 20 min，10 000×g 离心 20 min，收集上清；按照试剂盒说明书，利用 BCA 法测定蛋白质浓度。将 40 μg 蛋白样品于 10% 的 SDS-PAGE 电泳，电转至 PVDF 膜。PVDF 膜放入 5% 的脱脂牛奶中，于室温摇床封闭 2 h。分别加入一抗 phospho-AMPKα(1 : 1 000)、AMPKα(1 : 1 000)、phospho-LKB1(1 : 1 000)、LKB1(1 : 1 000)、β-actin(1 : 4 000) 4 ℃ 过夜。TBST 洗 3 次，辣根过氧化物酶 HRP 标记的二抗孵育，室温 1 h，TBST 洗 3 次。采用 ECL 试剂盒进行显色反应，并利用 Image J 图像分析软件进行分析。

2.3.5 数据处理 采用 SPSS 20.0 软件对数据进行处理，以 $\bar{x} \pm s$ 表示，2 组间比较采用 *t* 检验，多组间比较采用单因素方差分析，*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

表 2 乌药叶提取物对体质量的影响($\bar{x} \pm s$, *n*=10)

Tab. 2 Effect of *Lindera aggregata* extract on weight($\bar{x} \pm s$, *n*=10)

组别	剂量	体质量/g							
		第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周	第 6 周	第 7 周	第 8 周
对照组	—	316.4±12.1	367.1±18.6	389.2±16.9	410.2±19.5	427.0±22.3	444.1±24.6	474.2±27.5	501.2±23.9
模型组	—	313.9±18.3	363.1±21.4	390.6±24.5	411.0±21.0	422.3±22.3	450.6±22.9	481.7±26.1	502.5±29.7
高剂量组	1.6 g·kg ⁻¹ (生药)	315.3±16.4	361.9±20.4	392.7±26.7	416.8±27.3	433.2±27.9	457.0±27.5	481.0±31.7	506.4±26.8
低剂量组	0.8 g·kg ⁻¹ (生药)	312.0±14.7	362.4±16.2	396.9±18.0	424.8±24.1	440.1±23.0	465.2±27.1	497.8±28.2	520.1±26.1
阳性药组	20 mg·kg ⁻¹	315.5±21.0	367.4±24.4	405.4±27.3	436.9±28.8	456.3±31.7	473.1±27.9	495.3±21.6	529.5±32.7

表 3 乌药叶提取物给药 4, 8 周后对血脂水平的影响($\bar{x} \pm s$, *n*=10)

Tab. 3 Effect of *Lindera aggregata* extract on blood lipids level after 4, 8 weeks of administration($\bar{x} \pm s$, *n*=10) mmol·L⁻¹

时间	组别	剂量	TC	TG	HDL-C	LDL-C
4 周后	对照组	—	1.95±0.17	1.55±0.23	1.13±0.15	0.42±0.04
	模型组	—	4.25±0.88 ¹⁾	3.97±1.81 ¹⁾	0.79±0.12 ¹⁾	1.69±0.42 ¹⁾
	高剂量组	1.6 g·kg ⁻¹ (生药)	4.08±0.71 ¹⁾	4.13±1.41 ¹⁾	0.76±0.06 ¹⁾	1.48±0.25 ¹⁾
	低剂量组	0.8 g·kg ⁻¹ (生药)	4.48±0.79 ¹⁾	4.05±0.88 ¹⁾	0.75±0.05 ¹⁾	1.79±0.45 ¹⁾
	阳性药组	20 mg·kg ⁻¹	4.24±0.87 ¹⁾	2.59±0.99 ¹⁾³⁾	0.76±0.08 ¹⁾	1.97±0.44 ¹⁾
8 周后	对照组	—	2.22±0.19	1.91±0.54	1.10±0.14	0.46±0.07
	模型组	—	3.62±0.52 ²⁾	3.32±0.55 ²⁾	0.83±0.08 ²⁾	1.47±0.35 ²⁾
	高剂量组	1.6 g·kg ⁻¹ (生药)	2.84±0.69 ²⁾⁴⁾	2.34±0.64 ⁴⁾	0.84±0.11 ²⁾	0.97±0.43 ²⁾³⁾
	低剂量组	0.8 g·kg ⁻¹ (生药)	3.86±0.73 ¹⁾	2.79±0.90 ¹⁾	0.79±0.11 ²⁾	1.77±0.36 ²⁾
	阳性药组	20 mg·kg ⁻¹	2.52±0.46 ⁴⁾	2.29±0.69 ⁴⁾	0.66±0.10 ²⁾⁴⁾	0.96±0.24 ²⁾⁴⁾

注：与对照组比较，¹⁾*P* < 0.05，²⁾*P* < 0.01；与模型组比较，³⁾*P* < 0.05，⁴⁾*P* < 0.01。

Note: Compared with the control group, ¹⁾*P* < 0.05, ²⁾*P* < 0.01; compared with the model group, ³⁾*P* < 0.05, ⁴⁾*P* < 0.01.

3 结果

3.1 一般观察结果

各组大鼠日常行为均无异常，实验末肝脏指数结果显示，与对照组比，其余各组均极显著升高(*P* < 0.01)；与模型组比，给药组有降低的趋势，但无统计学差异。各组给药 8 周，体质量无显著性差异。结果见表 1~2。

3.2 血液生化检测结果

给药 4 周后，各给药组血脂水平与模型组比较，阳性药组血清 TG 有显著降低(*P* < 0.05)。给药 8 周后，与模型组比，高剂量组 TC、TG 极显著降低(*P* < 0.01)，LDL-C 水平显著降低(*P* < 0.05)；阳性药组血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平均极显著降低(*P* < 0.01)。提示乌药叶提取物具有一定的降血脂作用，结果见表 3。

表 1 乌药叶提取物对 24 h 进食量、肝脏指数的影响($\bar{x} \pm s$, *n*=10)

Tab. 1 Effects of *Lindera aggregata* extract on 24 h food intake and liver index($\bar{x} \pm s$, *n*=10)

组别	剂量	24 h 进食量/g	肝脏指数/%
对照组	—	28.4±2.8	3.90±0.58
模型组	—	23.4±1.1	5.42±0.71 ¹⁾
高剂量组	1.6 g·kg ⁻¹ (生药)	25.7±1.6	4.86±0.36 ¹⁾
低剂量组	0.8 g·kg ⁻¹ (生药)	25.1±1.0	4.96±0.43 ¹⁾
阳性药组	20 mg·kg ⁻¹	26.0±1.2	5.41±0.56 ¹⁾

注：与对照组比较，¹⁾*P* < 0.01。

Note: Compared with the control group, ¹⁾*P* < 0.01.

3.3 肝组织肉眼观察与油红 O 染色结果

肝组织形态：对照组大鼠肝脏色泽红润，血运丰富、边缘锐利，质地柔软，切面光滑，触之富有弹性；模型组大鼠肝脏体积较对照组稍大，肝脏色泽呈淡黄色，血运不丰富，黄色脂滴、脂斑沉积严重，肝脏边缘圆钝，包膜紧张，表面油腻，触之质地稍韧；高、低剂量组大鼠肝脏血运、质地和油腻度、黄色脂滴脂斑沉积等状态，均有一定程度的改善，且存在一定的剂量相关性，见图 1。

油红 O 染色结果：对照组肝细胞细胞核蓝染，肝细胞内未见明显橘红色脂滴，肝细胞间隙清晰，肝窦结构正常。模型组肝细胞明显肿大，视野内出现弥漫性的红染脂滴，相邻肝细胞内脂滴融合，肝细胞核多被橘红色脂滴积压偏一侧。与模型组相比，高、低剂量组肝细胞内红色脂滴减少，脂质蓄积程度有减轻，尤其以高剂量减轻程度更为明显，见图 1~2。

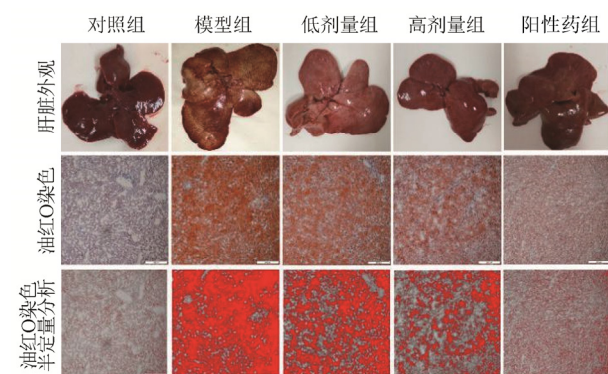


图 1 乌药叶提取物对肝脏外观、肝组织油红 O 染色的影响(100×)

Fig. 1 Effect of *Lindera aggregata* extract on liver appearance and oil red O staining of liver tissue(100×)

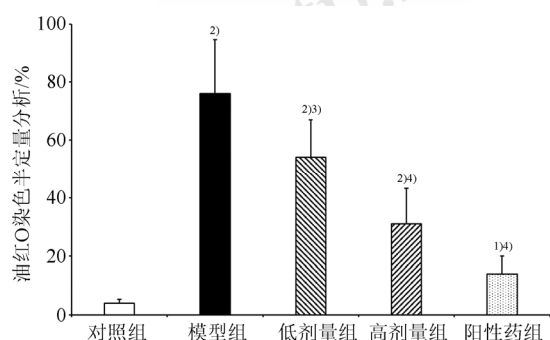


图 2 肝组织油红 O 染色半定量分析

与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 2 Semi-quantitative analysis of oil red O staining of liver tissue

Compared with the control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$.

3.4 乌药叶提取物对高脂血症大鼠肝脏中 LKB1-AMPK 通路相关蛋白表达的影响

与对照组比，模型组大鼠肝脏 LKB1-AMPK 通路中 AMPK α 蛋白的磷酸化呈显著性提高 ($P<0.01$)；与模型组比，高、低剂量组 phospho-AMPK α 表达量有显著性提高，表明乌药叶提取物可激活 AMPK α 的磷酸化，从而激活下游降脂通路，促进脂质的代谢。而 LKB1 蛋白的磷酸化较模型组无显著性差异，则表明 AMPK α 的激活可能通过其他信号通路激活。结果见图 3。

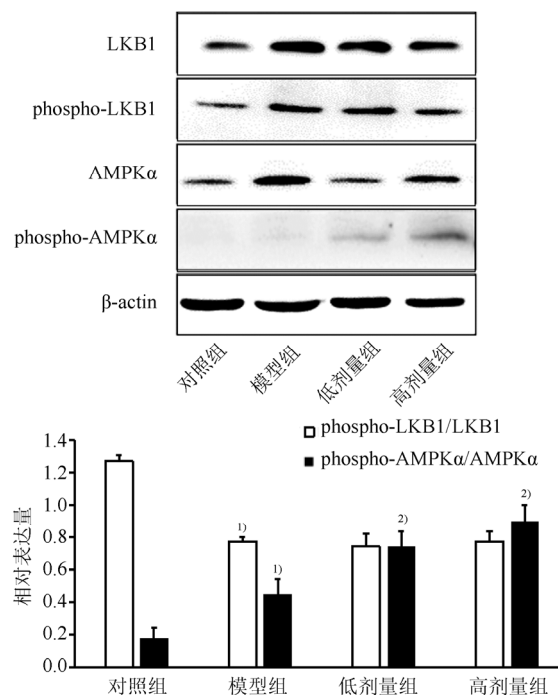


图 3 乌药叶提取物对肝脏 LKB1-AMPK 通路相关蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

与对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 3 Effect of *Lindera aggregata* extract on expression of LKB1-AMPK pathway-related protein in liver ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Compared with the control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.01$.

4 讨论

高脂血症严重危害着人类的身体健康，长期高血脂状态，会引发机体代谢紊乱，进一步引发动脉粥样硬化、冠心病、心肌梗死等心脑血管疾病，因此高脂血症已成为人类健康的“第一杀手”^[7]。本研究在模型建立开始至 4、8 周后，模型组大鼠血清中 TC、TG、LDL-C 均显著升高，HDL-C 水平显著下降；从肝脏组织学结果看，造模后肝细胞脂肪变性严重，脂肪空泡占据大部分胞浆等现象，均说明高血脂模型稳定可靠。大鼠体重结果显示，造模大鼠体重与对照组比较，

没有显著性的增加,其原因可能是定制的高脂饲料中含有苦味的胆盐成分,其口感影响了大鼠的食欲。

丁早春等^[8]报道乌药能显著降低实验性脂肪肝大鼠的血清 TC、LDL-C、ALT、AST 水平,说明乌药具有降血脂和对脂肪性肝损伤的保肝作用。与本研究实验结果相符,且根据本研究推断,其剂量越大,改善血清各项指标的效果越好,显示出较明显的量效关系。曹宁等^[9]报道乌药叶总黄酮在 小鼠高脂血症性脂肪肝动物模型中除能降低血清 TC、TG、LDL-C 水平外,还可以剂量依赖性地降低肝脏脂质系数、脂肪系数、动脉硬化指数及体质量,并减轻肝脏的脂肪变性程度。陈方亮等^[10]报道乌药醚内酯高剂量组可显著提高四氯化碳肝损伤大鼠血清 SOD 和 GSH-Px 的活力,降低 MDA、ALT、AST 的浓度,这也可能是乌药具有护肝作用机制反应。本研究肝组织形态油红 O 染色结果显示,乌药提取物各剂量组均能够使脂肪化变性肝细胞数明显减少,胞浆内脂滴减少或消失,无明显炎细胞坏死或浸润,具有改善高脂血症大鼠肝脏脂质蓄积的作用。

为了进一步探讨乌药叶的降脂作用机制,课题组研究了各组大鼠肝脏中 LKB1-AMPK 通路蛋白的表达情况。AMPK α 为一种在真核细胞中高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,能够调节机体的能量代谢,维持能量的平衡。与糖尿病、高脂血症、肥胖等多种由能量代谢异常引起的疾病相关^[11]。LKB1 是由 *lkb1* 基因编码的一种丝/苏氨酸蛋白激酶,几乎在人的所有组织中表达^[12]。AMPK 的激活方式有多种,在肝脏中最重要的磷酸化激活 AMPK α 信号通路的是 LKB1-AMPK 通路^[11]。孙乐等^[11]在使用 Syrian 金黄地鼠研究粗壮女贞总苷降脂作用时,模型组 LKB1、phospho-LKB1 及 AMPK α 蛋白表达量较对照组均有所下降,Huang 等^[13]在研究中高脂模型 C57BL/6 小鼠的 AMPK 与 LKB1 蛋白表达量高于对照组,而本研究中模型组 LKB1、phospho-LKB1、AMPK α 及 phospho-AMPK α 蛋白表达量均增加,造成不同结果的原因,可能是金黄地鼠与 C57BL/6 小鼠以及 SD 大鼠种属差异或高脂饲料配方等有关,或者可以理解为模型组 LKB1/AMPK 通路的激活为小鼠自身代偿性的保护作用。

本研究发现乌药叶提取物无法激活 LKB1 的

磷酸化,但 phospho-AMPK α 蛋白的表达量显著增加,结果表明乌药叶提取物可能通过其他途径增加 AMPK α 的磷酸化表达,比如 Thr 的磷酸化以及 AMP/ATP 比值升高等,从而促进脂质代谢,其作用机制有待后续深入研究。

REFERENCES

- [1] XING M Y, TIAN C M, XIA D Z. Review on chemical constituents and pharmacological effects of *Lindera aggregata* kosteri [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2017, 29(12): 2147-2151.
- [2] GU L Y, LUO Q, XIAO M, et al. Anti-oxidative and hepatoprotective activities of the total flavonoids from the leaf of *Lindera aggregata*(Sims) Kosterm. Against mice liver injury induced by carbon tetrachloride [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理), 2008, 19(6): 447-450.
- [3] ZHAO J B, LU X H, XU X D, et al. Chemical constituents of leaves of *Lindera aggregata*(Sims) kosteri [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2012, 47(21): 1702-1705.
- [4] XIAO M, CAO N, FAN J J, et al. Studies on flavonoids from the leaves of *Lindera aggregata* [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2011, 34(1): 62-64.
- [5] 付俊, 李钧敏, 陈少云, 等. 乌药叶挥发油的化学成分研究 [J]. 中草药, 2009, 40(S1): 112-114.
- [6] LUO L, ZHANG L, TIAN J K, et al. Chemical constituents from leaves of *Lindera aggregata* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2009, 40(6): 856-858.
- [7] 刁婷婷, 闵清. 高脂血症动物模型研究进展[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2018, 32(6): 541-545.
- [8] DING Z C, JIN Z H. Effects of *Linderae Radix* on the immunological function of mice and experimental fatty liver of rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2015, 32(5): 535-538.
- [9] CAO N, GUO W J, TANG J Y, et al. Effects of the total flavonoids from folium *linderae* on lipid metabolism in mice with hyperlipidemia fatty liver [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理), 2011, 22(2): 149-153.
- [10] CHEN F L, HUANG R P, CHEN Q H, et al. Hepatoprotective effects of the linderane on liver injury model of rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2016, 33(12): 1512-1515.
- [11] SUN L, HE Z D, YANG R M, et al. Hypolipidemic activity of total phenylpropanoid glycosides from *Ligustrum robustum* (Roxb.) Blume and its mechanisms on AMPK pathway [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2017, 33(8): 1073-1079.
- [12] 郑贤. 组织蛋白酶 K 抑制剂通过 LKB1/AMPK 信号通路抑制抵抗素诱导的心肌细胞肥大[D]. 太原: 山西医科大学, 2016.
- [13] HUANG Y, LIU F, ZHANG F, et al. Vanadium(IV)-chlorodipicolinate alleviates hepatic lipid accumulation by inducing autophagy Via the LKB1/AMPK signaling pathway *in vitro* and *in vivo* [J]. J Inorg Biochem, 2018(183): 66-76.

收稿日期: 2019-03-17

(本文责编: 沈倩)