

·专题·

中药单体减轻对乙酰氨基酚诱导肝损伤的研究

陈玲¹, 龚先琼²

(1.福建中医药大学,福建 福州 351012;

2.福建中医药大学附属厦门中医院肝病中心,福建 厦门 361009)

摘要:对乙酰氨基酚(APAP)又称扑息热痛,因其具有解热、镇痛的作用而被广泛的应用于临床,该药物在治疗剂量内安全有效,主要通过肝脏代谢,但滥用或使用不当使APAP过量会引起严重的肝损伤,甚至是急性肝衰竭。现有研究表明,中药单体可以通过多信号通路及靶点减轻对乙酰氨基酚诱导的肝损伤,具有广泛前景,本文对中药单体减轻APAP诱导肝损伤作一综述,旨在为治疗药物性肝损伤提供新的思路。

关键词:中药单体;对乙酰氨基酚;肝损伤

中图分类号:R285

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2021.15.001

文章编号:1006-1959(2021)15-0001-04

Study on the Effect of Chinese Herbal Medicine on Reducing the Liver Injury Induced by Acetaminophen

CHEN Ling¹, GONG Xian-qiong²

(1.Fujian University of Traditional Chinese Medicine,Fuzhou 351012,Fujian,China;

2.Liver Disease Center,Xiamen Traditional Chinese Medicine Hospital,Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Xiamen 361009,Fujian,China)

Abstract:Acetaminophen (APAP), also known as paracetamol, is widely used in clinics because of its antipyretic and analgesic effects. The drug is safe and effective in therapeutic doses, mainly metabolized by the liver, but it is abused or used Improper overdose of APAP can cause severe liver damage and even acute liver failure.Existing studies have shown that traditional Chinese medicine monomers can alleviate acetaminophen-induced liver damage through multiple signaling pathways and targets, which has broad prospects.This article reviews the reduction of APAP-induced liver injury by Chinese medicine monomers, and aims to provide new ideas for the treatment of drug-induced liver injury.

Key words: Chinese medicine monomer;Acetaminophen;Liver injury

对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)是一种世界范围内广泛使用的解热镇痛药,在治疗剂量内是安全的,过量使用可导致严重的肝损伤。APAP是一种剂量依赖型肝损伤药物,APAP过量是西方国家药物性肝损伤最常见的原因,半数以上急性肝衰竭病例是由APAP过量引起的^[1]。N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)是目前唯一临床上被批准的治疗APAP中毒的解毒剂,其通过促进谷胱甘肽(glutathione, GSH)合成发挥作用,可将APAP过量的死亡率降低20%~28%^[2]。但是NAC发挥作用较为局限,其有效性仅限于早期阶段,且对干预的时间有严格要求,所以寻找新的治疗方法或药物成为迫切的需要。中药作为天然药物,具有治疗范围广,毒副作用小等优势,为治疗药物性肝损伤提供了新的思路,本文将中药单体减轻APAP诱导肝损伤的相关研究作一综述。

1 APAP在肝内转化成有毒的代谢产物

APAP进入肝脏后,90%在UDP-葡萄糖醛酸基转

基金项目:1.国家自然科学基金青年项目(编号:81600465);2.福建省自然科学基金面上项目(编号:2019D013)

作者简介:陈玲(1993.9-),女,湖北随州人,硕士研究生,主要从事消化内科肝病方向的研究

通讯作者:龚先琼(1979.3-),女,湖北荆门人,博士,副主任医师,主要从事消化内科肝病方向、传染病方向的研究

移酶和硫酸基转移酶的催化作用下经葡萄糖醛酸化和硫酸化途径形成无毒代谢物,后经胆道和肾脏排出体外,10%的药物在细胞色素P450酶,特别是CYP2E1的作用下,转化为一种能与巯基结合的高毒性的反应性中间体N-乙酰基-对-苯醌亚胺(N-Acetyl-p-benzoquinone imine, NAPQI)。正常情况下, NAPQI可以与GSH结合而被解毒^[3]。随着APAP过量,葡萄糖醛酸化和硫酸化途径变得饱和,产生过量的NAPQI,消耗GSH储备,导致NAPQI积累,通过半胱氨酸残基与线粒体蛋白发生共价结合形成APAP蛋白加合物^[4]。APAP诱导的肝毒性是由NAPQI直接引起的,但随后的基因调控会加重肝脏毒性,涉及代谢障碍、氧化应激和炎症反应调节等多个途径。

2 APAP诱发肝损伤的作用机制

2.1 线粒体的结构和功能损伤 线粒体是真核生物进行氧化代谢产生能量的场所,也是APAP代谢场所, NAPQI的作用位点。过量的NAPQI与线粒体膜蛋白共价结合形成的蛋白加合物,破坏了线粒体膜结构,使线粒体膜通透性增加及电位改变,干扰线粒体电子传递链,导致电子从线粒体逃逸。同时, NAPQI也可以与ATP合酶 α 亚基结合抑制ATP合成。另一方面, GSH的耗竭使线粒体内氧化机制失衡,产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS)、氧化线粒体

DNA(mitochondria DNA, mtDNA),进一步激活人体免疫系统释放核酸内切酶 G (endonuclease G, Endo G),并转移至核内使 DNA 碎片化^[5,6]。最终使线粒体结构和功能破坏共同导致细胞的坏死。

2.2 氧化应激 研究表明^[4],APAP 引起的肝损伤与 c-jun N 末端蛋白激酶 (c-JunN-terminalproteinkinase, JNK)的持续激活,并移位至线粒体放大线粒体的氧化应激机制密切相关。来自电子传递链的逃逸电子与氧反应形成超氧阴离子(O₂⁻),进一步歧化生成 H₂O₂,或与 NO 发生反应形成过氧亚硝基,是一种强氧化剂,H₂O₂和过氧亚硝酸盐的过量均可能使抗氧化防御系统崩溃。另一方面,H₂O₂可启动凋亡信号调节激酶 1 的自我激活,进而激活 JNK,p-JNK 易位至线粒体并与 SH3 同源相关的 BTK 结合蛋白结合使其磷酸化,这种相互作用导致线粒体内 Src 失活,导致电子传递链功能障碍,导致 ROS 释放,后者通过上游丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated-proteinkinases, MAPK)途径再次激活 JNK,JNK 的持续激活放大线粒体活性氧,形成一个自我维持的激活环^[7,8]。

2.3 炎症反应 急性炎症反应是“二次打击”过程中第二次打击发生的原因,Toll-样受体 (toll-like receptors, TLRs) 是触发 APAP 晚期肝毒性的直接因素,其在激活先天免疫系统中起着主导作用^[9]。TLR 是损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs)的重要调节因子,能够识别组织损伤过程中的应激或死亡细胞释放。研究表明^[10],在 APAP 引发的肝损伤中,Toll-样受体 4 (toll-like receptors 4, TLR4)表达增加,激活核因子(NF-κB)信号传导途径,进而促进 NF-κB 通路介导的炎症因子和炎症介质(TNF-α、IL-1β 和 IL-6)的产生,最终导致肝损害加重。

2.4 内质网应激及细胞凋亡 内质网应激是 APAP 引发肝损伤过程中的晚期效应,张谢等^[11]的研究表明,APAP 过量代谢产生的有毒物质,可以提高内质网应激信号通路相关蛋白 GRP78、PDI 等表达,并提高半胱天冬酶 3(Caspase3)的活性,激发内质网应激和细胞凋亡。细胞凋亡是急性肝功能衰竭的主要原因,APAP 可以上调促凋亡蛋白 Bax 表达,下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达,Bax 在细胞凋亡过程中转移到线粒体,通过释放细胞色素 c 使线粒体膜通透性改变诱导细胞凋亡^[10,12]。

3 减轻 APAP 诱导肝损伤的中药单体分类

3.1 苷类化合物

3.1.1 人参 味甘、微苦,有大补元气、补脾益肺、养血生津、安神益智的功效。其主要活性成分人参皂苷

(Ginsenoside, GS)具有抗肿瘤、抗疲劳、抗氧化、降糖等作用。在 APAP 诱导的小鼠急性肝损伤动物模型实验中,与 APAP 模型组相比,人参皂苷 Rg5 (G-Rg5) 预处理可以显著抑制 APAP 引起的肝细胞坏死、炎性细胞浸润和凋亡等肝损伤,并可增加 Bal-2 蛋白表达,降低 Bax 蛋白表达,表明 G-Rg5 可能通过抑制细胞凋亡发挥抗 APAP 诱导的肝毒性的肝脏保护作用^[13]。在 APAP 诱导急性肝损伤的体外实验中,Ning C 等^[14]发现人参皂苷 Rg1(G-Rg1)通过激活核转运因子(nuclear transport factor 2, Nrf2)信号通路发挥抗氧化作用,经 G-Rg1 处理后,增加了 Nrf2 的蛋白表达水平,Nrf2 转移到细胞核并与抗氧化反应原件 (antioxidant response element, ARE)结合,上调其下游的抗氧化基因表达,包括 GCLC、GCLM、NQO1 和 HO-1 等,减少氧化损伤。故人参皂苷可通过抑制细胞凋亡或激活 Nrf2 信号通路抗氧化发挥肝脏保护作用。

3.1.2 红景天 味甘,有健脾益气、清肺止咳等功效。其主要活性成分红景天苷 (salidroside, SALD) 具有抗炎、抗氧化、调节免疫等多种药理作用。在 C57BL/6 小鼠的体外实验模型中,Western blot 结果提示 APAP 模型组 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein1, Keap1)及 Nrf2 蛋白表达水平降低,进而抑制其下游抗氧化酶 HO-1、NQO1 和 GCLC 蛋白表达,破坏线粒体氧化应激机制,诱导肝损伤,而 SALD 治疗组中上述蛋白表达水平显著升高,表明 SALD 可能通过调控 Keap1-Nrf2 信号通路发挥抗氧化作用来保护 APAP 诱导的肝损伤^[15]。正常情况下,Nrf2 与 Keap1 偶联存在于细胞质中,当 Nrf2 被激活进入细胞核,与 ARE 结合而调节其下游基因表达,实现抗氧化能力^[16],表明红景天苷可能是通过调控 Keap1-Nrf2 信号通路减轻 APAP 诱导的肝损伤。

3.1.3 栀子 味苦,有泻火除烦、清热利湿等功效。栀子苷 (geniposide, GP)是从栀子果实中提取的一种环烯醚萜苷,具有抗炎的作用。Yang S 等^[17]实验结果表明,GP 预处理可显著抑制 TLR4 表达和 NF-κB 激活,减轻 TNF-α 和 IL-1β 的释放,从而证明,GP 可通过抑制 TLR4/NF-κB 信号通路,有效保护肝细胞免受 APAP 肝毒性作用。

3.1.4 桔梗 味苦、辛,有宣肺、祛痰等功效。桔梗皂苷 (platicodon grandiflorum saponins, PGS)使其主要活性成分,具有抗肿瘤、抗炎的作用。在 APAP 诱导小鼠急性肝损伤模型中,一方面,PGS 通过抑制 NF-κB 的 mRNA 及蛋白表达,有效减少 TNF-α、IL-1β 的分泌;另一方面,PGS 激活 AMPK,使磷脂酰肌醇

激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)磷酸化,从而抑制 Caspase3 的活性,降低凋亡级联反应,证实了 PGS 通过激活 AMPK/PI3K/Akt 信号通路和抑制 NF- κ B 信号通路保护肝脏^[18]。

3.2 多糖类化合物

3.2.1 桑葚 味甘、酸,有补肝益肾等功效。其提取物桑葚总多糖(MFP)具有抗炎的作用。研究表明,MFP 剂量依赖性的改善了 APAP 诱导的 HepG2 细胞死亡;免疫印迹分析表明,相对于模型组,MFP 可明显升高抗氧化酶 HO-1 和 G6PD 的蛋白表达。同时下调 NF- κ B 通路中 NF- κ B p65 蛋白表达水平,抑制其下游炎症因子 TNF- α ,IL-1 β 和 IL-6 的转录,说明 MFP 可以通过 NF- κ B 信号通路减轻 APAP 诱导的肝脏毒性^[19]。

3.2.2 茯苓 味甘、淡,有健脾行气、利水渗湿的功效。主要活性成分茯苓多糖具有降糖、降压等作用。在产前对乙酰氨基酚(300 mg/kg)诱导肝损伤胎鼠模型中观察到,与模型组相比,经茯苓多糖给药后胎鼠肝细胞内成纤维细胞生长因子 21(FGF21)浓度明显升高,有促进细胞增殖、修复的作用;另一方面,蛋白激酶 B(AKT)磷酸化水平升高,抑制激活半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(caspases),证实茯苓多糖通过激活 AKT 通路抗细胞凋亡^[20]。

3.2.3 五味子 味酸、甘,有收敛固涩、补肾宁心等功效。其提取物五味子多糖(schisandra chinensis polysaccharide,SCP)具有抗氧化的作用。车金营等^[21]研究表明,SCP 可以抑制 JNK 磷酸化,降低 GSH 的消耗水平;同时下调 Bax、caspase-3 蛋白表达及升高 Bcl-2 蛋白表达,证实 SCP 通过调控 JNK 信号通路及抑制细胞凋亡相关信号通路发挥肝保护作用。王瑶等^[22]通过比较 SCP 和五味子的另一种主要活性成分木脂素(SCL)对 APAP 诱导小鼠急性肝损伤的保护作用,结果发现在 APAP 模型中 SCP 的治疗效果更显著,主要通过调节 Nrf2-NO-1 抗氧化通路,提高血清中相关酶(SOD、GST、HO-1)的含量发挥肝保护作用。综上,五味子多糖可以通过抑制细胞凋亡通路或调控 Nrf2-NO-1 抗氧化通路减轻 APAP 诱导的急性肝损伤。

3.2.4 当归 味辛,有补血活血、调经止痛的功效。其提取物当归多糖(angelic sinensis polysaccharide,ASP)具有抗氧化的作用。Cao P 等^[23]发现,在体内实验中,H&E 染色显示 ASP 减少了暴露于过量 APAP 的大鼠肝细胞的变性和细胞质空泡化的数量,在体外试验中,ASP 显著提高了暴露于过量 APAP 的大鼠原代肝细胞的存活率;进一步研究表明 ASP 可增

加 GSH 含量,提高 Bcl-2 蛋白表达和下调 caspase-3、Bax 蛋白表达,提示 ASP 通过改善氧化应激和抑制细胞凋亡相关信号通路减轻肝脏损伤。

3.3 其他类化合物

3.3.1 黄芩 味苦,有清热燥湿、泻火解毒的功效。其主要活性成分包括黄芩苷和黄芩素,具有抗氧化、护肝的作用^[24]。Shi L 等^[25]研究表明,黄芩苷和黄芩素可调节 Nrf2 的激活,并增加其下游抗氧化基因的表达,同时也可诱导细胞外调节蛋白激酶(ERK)1/2 和蛋白激酶 C(PKC)的持续磷酸化,而 ERK1/2 和 PKC 都是调节黄芩苷或黄芩素激活 Nrf2 的关键,从而证明黄芩苷和黄芩素通过调节 Nrf2 信号通路减轻 APAP 诱导的肝毒性。

3.3.2 厚朴 味苦、辛,有燥湿消痰、下气除满的功效。其主要活性成分和厚朴酚(honokiol,HO)具有抗氧化的作用。Yu FL 等^[26]研究表明,HO 可以促进 Nrf2 及其靶酶如 GCLC,GCLM 和 GST 的活化,引起 GSH 的表达上调,说明 HO 通过激活 Nrf2 信号通路减轻 APAP 诱导的肝损伤。

3.3.3 荷叶 味苦,清暑化湿,升发清阳,凉血止血的功效,其提取物荷叶总生物碱(total alkaloids from lotus leaves,TAL)具有抗氧化作用。在 APAP 诱导小鼠急性肝损伤模型中,与对照组相比,TAL 可以下调肝组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等炎症因子的含量,提高肝组织中 SOD、CAT、GSH-Px 等抗氧化酶的活性,表明 TAL 可能通过提高机体抗氧化能力和激活 AMPK/Nrf2 通路减轻 APAP 诱发的急性肝损伤^[27]。

4 总结

对乙酰氨基酚是目前引起药物性肝损伤最常见的药物之一,而 NAC 作为唯一被批准的用于 APAP 过量的解毒剂,作用比较局限,其有效性仅限于早期阶段。随着中药药理研究的不断深入,中药治疗药物性肝损伤已显现出多种优势。但由于中药的多组分、多靶点及协同作用,未来在研究中药减轻 APAP 诱导肝损伤的具体分子机制仍具有极大的挑战性,需要进一步明确中药的每种单体的作用,以及各种单体之间的相互作用或协同作用。探讨中药单体治疗 APAP 诱导肝损伤具有现实意义,相信会成为未来研究的潜在热点。

参考文献:

[1]Feng Y,Cui R,Li Z,et al.Methane Alleviates Acetaminophen-Induced Liver Injury by Inhibiting Inflammation, Oxidative Stress,Endoplasmic Reticulum Stress,and Apoptosis Through the Nrf2/HO-1/NQO1 Signaling Pathway [J].Oxidative Medicine and Cellular Longevity,2019(2019):7067619.
[2]Zhao HJ,Li MJ,Zhang MP,et al.Allyl methyl trisulfide pro-

- tected against acetaminophen(paracetamol)-induced hepatotoxicity by suppressing CYP2E1 and activating Nrf2 in mouse liver [J].*Food&Function*,2019,10(4):2244-2253.
- [3]McGill MR,Jaeschke H.Metabolism and disposition of acetaminophen:recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis[J].*Pharmaceutical Research*,2013,30(9):2174-2187.
- [4]Dkhal MA,Abdel Moneim AE,Hafez TA,et al.Myristica fragrans Kernels Prevent Paracetamol-Induced Hepatotoxicity by Inducing Anti-Apoptotic Genes and Nrf2/HO-1 Pathway [J].*International Journal of Molecular Sciences*,2019,20(4):993.
- [5]李青霞,张玉彬.对乙酰氨基酚损伤肝线粒体造成肝衰竭的分子机制及应用[J].*药学进展*,2019,43(10):786-792.
- [6]明雅南,李春敏,张静怡,等.对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤和肝衰竭模型中线粒体基因组转录改变 [J].*肝脏*,2016,21(6):447-451.
- [7]Chowdhury A,Lu J,Zhang R,et al.Mangiferin ameliorates acetaminophen-induced hepatotoxicity through APAP-Cys and JNK modulation [J].*Biomedicine&Pharmacotherapy*,2019(117):109097.
- [8]Cui BW,Bai T,Yang Y,et al.Thymoquinone Attenuates Acetaminophen Overdose-Induced Acute Liver Injury and Inflammation Via Regulation of JNK and AMPK Signaling Pathway[J].*The American Journal of Chinese Medicine*,2019,47(3):577-594.
- [9]Guo H,Sun J,Li D,et al.Shikonin attenuates acetaminophen-induced acute liver injury via inhibition of oxidative stress and inflammation [J].*Biomedicine&Pharmacotherapy*,2019 (112):108704.
- [10]Wu CT,Deng JS,Huang WC,et al.Salvianolic Acid C against Acetaminophen-Induced Acute Liver Injury by Attenuating Inflammation,Oxidative Stress,and Apoptosis through Inhibition of the Keap1/Nrf2/HO-1 Signaling[J].*Oxidative Medicine and Cellular Longevity*,2019(12):9056845.
- [11]张谢,宋毓飞,张学松,等.FGF1 通过抑制内质网应激和自噬途径保护对乙酰氨基酚诱导的小鼠肝损伤 [J].*浙江医学*,2019,41(17):1840-1844,1916.
- [12]Yan XT,Sun YS,Ren S,et al.Dietary α -Mangostin Provides Protective Effects against Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Mice via Akt/mTOR-Mediated Inhibition of Autophagy and Apoptosis [J].*International Journal of Molecular Sciences*,2018,19(5):1335.
- [13]Wang Z,Hu JN,Yan MH,et al.Caspase-Mediated Anti-Apoptotic Effect of Ginsenoside Rg5, a Main Rare Ginsenoside, on Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Mice [J].*Journal of Agricultural and Food Chemistry*,2017,65(42):9226-9236.
- [14]Ning C,Gao X,Wang C,et al.Ginsenoside Rg1 protects against acetaminophen-induced liver injury via activating Nrf2 signaling pathway in vivo and in vitro[J].*Regulatory Toxicology and Pharmacology*,2018(98):58-68.
- [15]左玮,张波,梅丹.红景天苷对对乙酰氨基酚诱导肝损伤模型小鼠 Keap1-Nrf2 信号通路的影响 [J].*中国药房*,2018,29(11):1487-1490.
- [16]李建桥,黄文峰,贺海波,等.小花清风藤水提取物对对乙酰氨基酚致小鼠药物性肝损伤保护作用研究[J].*中国中药杂志*,2020,45(6):1433-1439.
- [17]Yang S,Kuang G,Jiang R,et al.Geniposide protected hepatocytes from acetaminophen hepatotoxicity by down-regulating CYP 2E1 expression and inhibiting TLR 4/NF- κ B signaling pathway [J].*International Immunopharmacology*,2019 (74):105625.
- [18]Leng J,Wang Z,Fu CL,et al.NF- κ B and AMPK/PI3K/Akt signaling pathways are involved in the protective effects of Platycodon grandiflorum saponins against acetaminophen-induced acute hepatotoxicity in mice [J].*Phytotherapy Research*,2018,32(11):2235-2246.
- [19]舒广文,邱韵涵,付千,等.桑葚总多糖对对乙酰氨基酚诱导小鼠急性肝损伤的保护作用[J].*中南民族大学学报(自然科学版)*,2019,38(3):377-382.
- [20]兰量园,吴咖,吴欣谋,等.茯苓多糖保护对乙酰氨基酚暴露胎鼠的分子机制研究[J].*中药药理与临床*,2019,35(2):52-55.
- [21]车金营,杨硕,乔子敬,等.五味子多糖对对乙酰氨基酚诱导的小鼠肝细胞凋亡的影响[J].*食品工业科技*,2019,40(16):285-289,303.
- [22]王瑶,刘春娜,张羽翀,等.五味子总多糖及总木脂素对小鼠急性肝损伤作用的比较研究 [J].*中国老年保健医学*,2019,93(6):20-23.
- [23]Cao P,Sun J,Sullivan MA,et al.Angelica sinensis polysaccharide protects against acetaminophen-induced acute liver injury and cell death by suppressing oxidative stress and hepatic apoptosis in vivo and in vitro [J].*International Journal of Biological Macromolecules*,2018(111):1133-1139.
- [24]高平章,陈金珍,李安娜,等.黄芩苷对对乙酰氨基酚诱导小鼠肝损伤中蛋白质氧化及硝化的影响[J].*华中科技大学学报(医学版)*,2015,44(1):64-68.
- [25]Shi L,Hao Z,Zhang S,et al.Baicalein and baicalin alleviate acetaminophen-induced liver injury by activating Nrf2 antioxidative pathway:The involvement of ERK1/2 and PKC [J].*Biochemical Pharmacology*,2018(150):9-23.
- [26]Yu FL,Wu JW,Zhu H.Honokiol alleviates acetaminophen-induced hepatotoxicity via decreasing generation of acetaminophen-protein adducts in liver [J].*Life Sciences*,2019,1(230):97-103.
- [27]舒广文,邱韵涵,李薇,等.荷叶总生物碱激活肝脏 AMPK/Nrf2 通路缓解对乙酰氨基酚诱导的小鼠急性肝损伤[J].*天然产物研究与开发*,2019,13(2):198-203,317.

收稿日期:2021-04-08;修回日期:2021-04-19

编辑/成森