

中图分类号: R965; R285 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)22-0067-06
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.22.015



黄芩素对黄药子致肝损伤模型小鼠的防护作用及其机制*

朱舒虹¹, 任翠翠¹, 王冉¹, 段石顽¹, 谢允东^{2△}

(1. 陕西省西安市第一医院, 陕西 西安 710002; 2. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046)

摘要:目的 探讨黄芩素对黄药子致肝损伤的防护作用及其机制。方法 将60只KM小鼠随机分为正常对照组[A组, 等体积0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液]、模型组(B组, 等体积0.5% CMC-Na溶液)、水飞蓟素组(C组, 200 mg/kg)及黄芩素高、中、低剂量组(D₁组、D₂组、D₃组, 10, 5, 2.5 mg/kg), 各10只。灌胃给予3 g/kg黄药子75%乙醇提取物, 每天1次, 连续14 d, 以复制肝损伤小鼠模型, 同期各组小鼠同频次均给予相应药物或0.5% CMC-Na溶液灌胃。称定小鼠体质量和肝脏质量, 计算肝脏系数。测定天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、总胆红素(TBil)、碱性磷酸酶(ALP)及过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和谷胱甘肽(GSH)水平; 苏木素-伊红染色, 检测肝脏组织病理学变化; 采用实时荧光定量聚合酶链反应法检测多药耐药相关蛋白2(MRP2)、P-糖蛋白(P-gp)、胆酸盐外排泵(BSEP)、尿苷二磷酸葡萄糖醛酰转移酶1A1(UGT1A1)的mRNA水平; 采用Western blot法检测核因子E2相关因子2(Nrf2)、核因子-κB(NF-κB)p65、磷酸化NF-κB p65(p-NF-κB p65)、血红素加氧酶1(HO-1)、白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)蛋白的表达水平。**结果** 与B组比较, D₁组、D₂组、D₃组小鼠的肝脏系数及p-NF-κB p65, TNF-α, IL-6蛋白的表达水平, D₁组、D₂组小鼠的AST, ALT, TBil水平, D₁组小鼠的MDA水平均显著降低; D₁组、D₂组、D₃组小鼠的SOD水平及细胞核Nrf2和HO-1蛋白表达水平, D₁组、D₂组小鼠的CAT水平及MRP2, P-gp, BSEP, UGT1A1 mRNA水平均显著升高(P<0.05)。D₁组、D₂组、D₃组小鼠的肝细胞形态与结构均不同程度改善。**结论** 黄芩素对黄药子诱导的肝损伤有防护作用, 其机制可能与调节Nrf2/NF-κB信号通路, 激活其下游的转运体, 以及提高抗氧化、抗炎水平有关。

关键词:黄芩素; 黄药子; 肝损伤; 小鼠; Nrf2/NF-κB信号通路; 抗氧化; 抗炎

*基金项目: 国家自然科学基金[82204790]; 陕西省自然科学基金基础研究计划项目[2021JQ-730]; 陕西省教育厅专项科研计划项目[21JK0598]。

第一作者: 朱舒虹, 女, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为药物的安全性评价, (电子信箱)35843150@qq.com。

△通信作者: 谢允东, 男, 博士研究生, 副教授, 研究方向为中药减毒, (电子信箱)eng522@126.com。

- 准(2003年版)[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2003: 85.
- [2] 孙天航, 刘玫, 孙雪芹. 东北委陵菜属植物叶形态结构的研究及其分类学价值的探讨[J]. 草业学报, 2014, 23(3): 75-84.
- [3] 刘亚华. 侗族药物彩色图谱[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2017: 276.
- [4] 罗迎春, 孙庆文. 贵州民族常用天然药物(第2卷)[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2013: 82-83.
- [5] 张敬杰, 邹娟. 苗族药物彩色图谱[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2017: 177.
- [6] LI SH, TAN J, ZENG JY, et al. Antihyperglycemic and antioxidant effect of the total flavones of *Potentilla kleiniana* Wight et Arn. in streptozotocin induced diabetic rats [J]. Pak J Pharm Sci, 2017, 30(1): 171-178.
- [7] AUGUSTYNOWICZ D, LATTÉ KP, TOMCZYK M, et al. Recent phytochemical and pharmacological advances in the genus *Potentilla* L. sensu lato - An update covering the period from 2009 to 2020 [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 266: 113412.
- [8] 黄易安, 黄思菊, 国兴明. 蛇含委陵菜提取物抑菌作用的研究[J]. 贵州大学学报(自然科学版), 2008, 25(3): 320-321.
- [9] 黄易安, 黄思菊, 国兴明. 蛇含委陵菜乙醇提取物的抗炎及抑菌活性研究[J]. 中南药学, 2018, 16(11): 1547-1552.
- [10] 陶俊宇, 庭俊, 班丽. 蛇含委陵菜提取物对人工感染鸡白痢的治疗效果[J]. 南方农业学报, 2012, 43(9): 1391-1394.
- [11] XUAN SH, HONG IK, LEE YJ, et al. Biological activities and chemical components of *Potentilla kleiniana* Wight & Arn [J]. Nat Prod Res, 2020, 34(22): 1-5.
- [12] OKUDA T, YOSHIDA T. Tannins of rosaceous medicinal plants. i. structures of potentillin, agrimononic acids A and B, and agrimoniin, a dimeric ellagitannin [J]. Chem Phar Bull, 1984, 32(6): 2165-2173.
- [13] 李胜华, 伍贤进, 牛友芽, 等. 蛇含委陵菜化学成分研究[J]. 中草药, 2011, 42(11): 2200-2203.
- [14] 黄易安. 蛇含委陵菜化学成分及抑菌活性研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2008.
- [15] LIU MZ, HUANG XQ, LIU Q, et al. Separation of α-glucosidase inhibitors from *Potentilla kleiniana* Wight et Arn using solvent and flow-rate gradient high-speed counter-current chromatography target-guided by ultrafiltration HPLC-MS screening [J]. Phytochem Anal, 2019, 30(6): 661-668.
- [16] 张宝, 刘佳, 匡维米, 等. 蛇含委陵菜的化学成分及抗炎活性研究[EB/OL]. [2023-05-16]. http://www.guihaia-journal.com/gxzw/ch/reader/view_abstract.aspx?edit_id=20221019114038001&file_no=20220711000001&journal_id=gxzw.

(收稿日期: 2023-03-20; 修回日期: 2023-07-18)

Protective Effect and Mechanism of Baicalin on Rhizoma Dioscoreae Bulbiferae - Induced Liver Injury Model Mice

ZHU Shuhong¹, REN Cuicui¹, WANG Ran¹, DUAN Shiwan¹, XIE Yundong²

(1. Xi'an First Hospital, Xi'an, Shaanxi, China 710000; 2. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, China 712046)

Abstract: Objective To investigate the protective effect and mechanism of baicalin on Rhizoma Dioscoreae Bulbiferae - induced liver injury. **Methods** Sixty KM mice were randomly divided into the normal control group [group A, equal volume of 0.5% sodium carboxymethyl cellulose (CMC - Na) solution], the model group (group B, equal volume of 0.5% CMC - Na solution), the silymarin group (group C, 200 mg / kg), the high -, medium - and low - dose baicalin groups (groups D₁, D₂, D₃, 10, 5, 2.5 mg / kg), with 10 mice in each group. Each group was given 3 g / kg of 75% ethanol extract of Rhizoma Dioscoreae Bulbiferae by gavage (once a day for consecutive 14 d) to replicate a liver injury mouse model. At the same time, each group was given corresponding drug or 0.5% CMC - Na solution by gavage once a day for consecutive 14 d. The body mass and liver mass of mice were weighed, and the liver coefficient was calculated. The aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), total bilirubin (TBiL), alkaline phosphatase (ALP), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels were determined. The pathological changes in liver tissue were detected by the hematoxylin - eosin staining. The multidrug resistance - associated protein 2 (MRP2), P - glycoprotein (P - gp), bile salt export pump (BSEP) and uridine diphosphate glucuronosyl transferase 1 A1 (UGT1A1) mRNA levels were detected by the real - time fluorescence quantitative polymerase chain reaction. The nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2), nuclear factor - κ B (NF - κ B) p65, phosphorylated NF - κ B p65 (p - NF - κ B p65), heme oxygenase - 1 (HO - 1), interleukin - 6 (IL - 6), tumor necrosis factor - α (TNF - α) protein expression levels were detected by the Western blot. **Results** Compared with those in the group B, the liver coefficient, p - NF - κ B p65, TNF - α , IL - 6 protein expression levels in the groups D₁, D₂ and D₃ were significantly lower; the AST, ALT and TBiL levels in the groups D₁ and D₂ were significantly lower; the MDA level in the group D₁ was significantly lower ($P < 0.05$). Compared with those in the group B, the SOD level, nuclear Nrf2 and HO - 1 protein expression levels in the groups D₁, D₂ and D₃ were significantly higher; the CAT level, MRP2, P - gp, BSEP, UGT1A1 mRNA levels in the groups D₁ and D₂ were significantly higher ($P < 0.05$). The morphology and structure of liver cells in the groups D₁, D₂ and D₃ improved to varying degrees. **Conclusion** The protective effect of baicalin on Rhizoma Dioscoreae Bulbiferae - induced liver injury may be related to the regulation of Nrf2 / NF - κ B signaling pathway, activation of downstream transporters and improvement of antioxidant and anti - inflammatory levels.

Key words: baicalin; Rhizoma Dioscoreae Bulbiferae; liver injury; mice; Nrf2 / NF - κ B signaling pathway; antioxidant; anti - inflammatory

黄药子为薯蓣科薯蓣属黄独 *Dioscorea bulbifera* L. 的地下块茎,在我国分布广泛,药用历史悠久^[1-2]。黄药子及其制剂用于治疗甲状腺肿大、肿瘤等效果较好,但会引发肝损伤等不良反应^[3]。研究发现,肝损伤主要是由二萜内酯类化合物在肝脏蓄积诱发氧化应激反应导致^[4-5]。核因子E2相关因子2(Nrf2)在肝脏组织中高度表达,在氧化应激的作用下,Nrf2被激活,通过抗炎、抗氧化和调控细胞凋亡等机制,抑制核因子 - κ B(NF - κ B)的激活,是肝损伤防护作用中重要的内源性抗氧化信号通路^[6];且其下游的药物转运体表达上调,加速肝脏中的药物及其代谢物的转运排泄。中药黄芩具有保肝作用,与黄药子配伍能减轻后者的肝毒性^[7]。黄芩素是黄芩的主要活性成分,对四氯化碳、半乳糖胺、对乙酰氨基酚、卡介苗 + 脂多糖等诱导的肝损伤具有防护作用。基于此,本研究中探讨了黄芩素对黄药子致肝损伤模型小鼠的防护作用及其机制,为黄芩配伍黄药子的临床安全应用提供参考。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂及动物

仪器:DYY - 7C型电泳仪(北京六一仪器厂);ELX - 800型酶标仪(美国Bio Tek公司);EXICYCLER 96型荧光定量PCR仪(韩国Bioneer公司);DP73型显微镜拍照系统(日本Olympus公司)。

试剂:黄芩素(批号为E0804550250,含量 $\geq 98\%$)、水飞蓟素(批号为D110160,含量 $\geq 98\%$),均购自安耐吉 <上海>医药化学有限公司;黄药子饮片(陕西兴盛德药业有限责任公司,批号为20210610);天门冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒(批号为20211012),丙氨酸氨基转移酶(ALT)试剂盒(批号为20211112),碱性磷酸酶(ALP)试剂盒(批号为20211212),总胆红素(TBiL)试剂盒(批号为20211216),超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号为20211016),过氧化氢酶(CAT)试剂盒(批号为20211112),谷胱甘肽(GSH)试剂盒(批号为20211116),丙二醛(MDA)试剂盒(批号为20211218),

均购自南京建成生物工程研究所; Nrf2 抗体(批号为 WL012135), 核因子(NF) - κ B p65 抗体(批号为 WL01273b), 磷酸化 NF - κ B p65(p - NF - κ B p65) 抗体(批号为 WL012169), 血红素加氧酶 1(HO - 1) 抗体(批号为 WL02400), 肿瘤坏死因子 - α (TNF - α) 抗体(批号为 WL01581), 白细胞介素 6(IL - 6) 抗体(批号为 WL02841), β - actin 细胞抗体(批号为 WL01372), 组蛋白 H3 抗体(Histone H3) 抗体(批号为 WL0984), 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白 G(二抗, 批号为 WL023), 全蛋白提取试剂盒(批号为 WLA019), 核蛋白和浆蛋白提取试剂盒(批号为 WLA020a), BCA 蛋白浓度测定试剂盒(批号为 WLA004), BeyoRT II M - MLV 反转录酶(批号为 D7160L), 均购自沈阳万类生物科技有限公司; 苏木素(H, 批号为 H8070)、伊红(E, 批号为 A600190), 均购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

动物: 健康 SPF 级 KM 小鼠 60 只, 雄性, 体质量 (20 ± 2) g, 购自成都达硕实验动物有限公司, 实验动物合格证号 0043206, 实验动物生产许可证号 SCXK(川) 022 - 030。动物实验经陕西中医药大学动物伦理委员会批准(批准号 SUCMDL20220304009), 实验动物使用许可证号 SYXK(陕) 2017 - 004。饲养于陕西中医药大学 SPF 级实验室中, 相对湿度 45% ~ 65%, 温度 22 ~ 24 $^{\circ}\text{C}$, 12 h / 12 h 明暗交替。

1.2 方法

黄药子醇提物制备: 取药材饮片样品细粉适量, 加 10 倍体积的 75% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次 4 h, 合并 3 次提取液, 减压浓缩蒸干, 得到固体, 用研钵研匀, 备用。

分组、建模与给药: 将 60 只 KM 小鼠随机分为正常对照组[A 组, 等体积 0.5% 羧甲基纤维素钠(CMC - Na) 溶液], 模型组(B 组, 等体积 0.5% CMC - Na 溶液), 水飞蓟素组(C 组, 200 mg / kg), 黄芩素高、中、低剂量组(D₁组、D₂组、D₃组, 10, 5, 2.5 mg / kg), 各 10 只。灌胃黄药子醇提物(3 g / kg), 每日上午 1 次, 连续 14 d, 以复制肝损伤小鼠模型, 同期(每日下午)各组小鼠灌胃相应药物或 0.5% CMC - Na 溶液。末次给药结束后, 禁食不禁饮 12 h。

1.3 观察指标

体质量、肝脏质量与肝脏系数: 称定小鼠体质量。眼眶取血后, 取肝脏组织, 置生理盐水中去除血块及结缔组织等, 用吸水纸吸干表面的水分, 称定肝脏质量。计算肝脏系数(肝脏质量与体质量的比值)。

肝脏组织病理检查: 取小鼠肝脏组织, 剪取一部分固定于 4% 多聚甲醛溶液中, 3 d 后进行石蜡包埋、切片及 HE 染色, 显微镜下观察并拍照。

生化指标: 眼眶取血, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 4 000 r / min 离心 10 min, 取上清液。采用试剂盒说明书方法分别测定肝功能指标 AST, ALT, ALP, TBIl 水平及抗氧化指标 SOD, CAT, GSH, MDA 水平。

Nrf2 蛋白调控的下游药物转运体 mRNA 水平: 取小鼠肝脏组织, 加入 TRIpure 裂解液, 充分混匀, 室温静置 5 min, 加入氯仿, 混匀, 室温静置 3 min, 取水相, 加入等量异丙醇, - 20 $^{\circ}\text{C}$ 下过夜, 12 000 r / min 离心 10 min, 弃上清, 加入 75% 乙醇, 4 080 r / min 离心 3 min, 弃上清, 加入 RNase - free 双蒸水, 室温放置 2 min, 充分混匀, 待沉淀完全溶解, 得样本总 RNA, 采用紫外 - 可见分光光度法测定 RNA 浓度。采用反转录聚合酶链反应将样本总 RNA 反转录为 cDNA, 加入 Nrf2 蛋白调控的下游药物转运体多药耐药相关蛋白 2(MRP2)、P - 糖蛋白(P - gp)、胆酸盐外排泵(BSEP)、尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1(UGT1A1) 基因引物, 采用实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR) 法检测上述基因的 mRNA 水平。

蛋白表达水平: 采用 Western blot 法。取小鼠肝脏组织, 液氮研磨, 加入蛋白裂解液, 研成匀浆, 冰上静置 5 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r / min 离心 10 min, 分离蛋白质抽提物。采用 BCA 法进行蛋白质定量, 经 SDS - PAGE, 转膜, 封闭, 用 5% 脱脂奶粉稀释 p - NF - κ B p65, NF - κ B p65, TNF - α , IL - 6, Nrf2, HO - 1 等一抗, 稀释比例为 1:500, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜, 浸入 TBST 缓冲液中, 用 5% 脱脂奶粉稀释二抗, 稀释比例为 1:5 000, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 45 min, 采用电化学发光法在暗室中显影, 扫描胶片, 分析目标条带的光密度值; 同时提取细胞核 Nrf2(Nuc - Nrf2) 蛋白, 同时测定光密度值。

1.4 统计学处理

采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计学分析, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析; 绘制柱状图。P < 0.05 为差异有统计学意义。

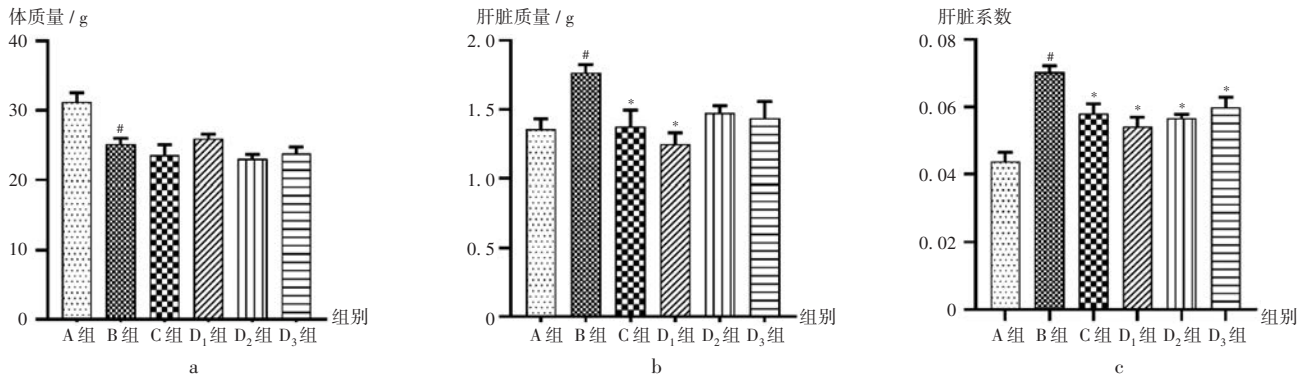
2 结果

2.1 体质量、肝脏质量及肝脏系数

与 A 组比较, B 组小鼠体质量显著降低, 肝脏质量与肝脏系数均显著升高(P < 0.05)。与 B 组比较, C 组、D₁组小鼠肝脏质量均显著降低, C 组、D₁组、D₂组、D₃组小鼠的肝脏系数均显著降低(P < 0.05)。详见图 1。

2.2 肝脏组织病理形态

A 组小鼠的肝细胞排列整齐, 边界清晰, 细胞形态与结构正常; B 组小鼠肝细胞结构紊乱, 边缘模糊, 界限不清, 出现水肿及炎性因子浸润, 部分肝细胞核出现溶解; C 组小鼠肝细胞损伤得到好转; D₁组、D₂组、D₃组小鼠的肝细胞形态与结构有好转, 且随着剂量的增加, 改善作用明显增强。详见图 2。



a. 体质量 b. 肝脏质量 c. 肝脏系数
注:与A组比较,[#] $P < 0.05$;与B组比较,^{*} $P < 0.05$ 。图3至图6同。

图1 小鼠的体质量、肝脏质量、肝脏系数($\bar{X} \pm s, n = 10$)

a. Body mass b. Liver mass c. Liver coefficient

Note: Compared with those in the group A, [#] $P < 0.05$. Compared with those in the group B, ^{*} $P < 0.05$ (for Fig. 1 and Fig. 3 - 6).

Fig. 1 Body mass, liver mass and liver coefficient of mice ($\bar{X} \pm s, n = 10$)

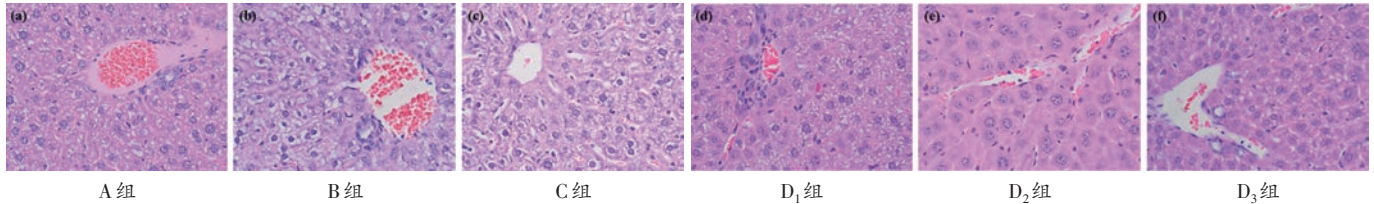


图2 小鼠肝脏组织病理形态(HE, × 400)

Fig. 2 Pathological morphology of liver tissue of mice (HE, × 400)

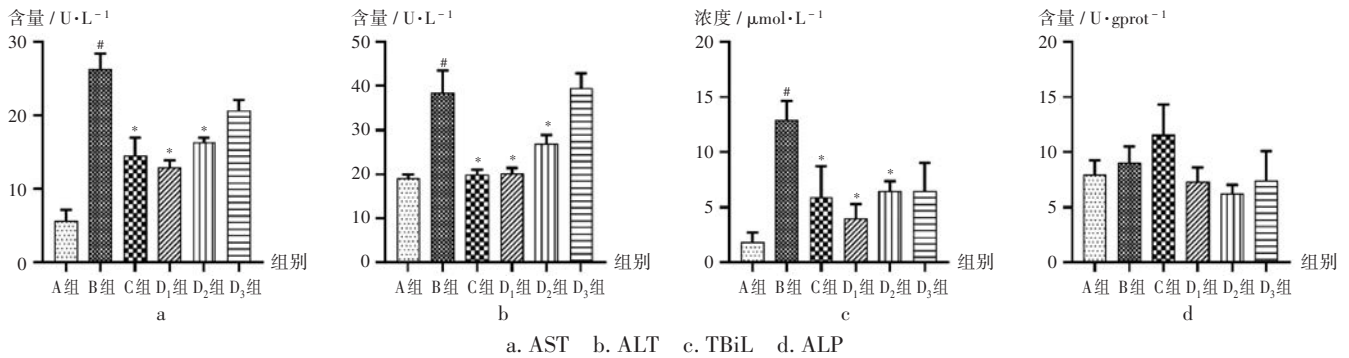


图3 小鼠肝功能指标($\bar{X} \pm s, n = 10$)

a. AST b. ALT c. TBiL d. ALP

Fig. 3 Liver function indexes of mice ($\bar{X} \pm s, n = 10$)

2.3 肝功能指标

与A组比较,B组小鼠的AST,ALT,TBiL水平均显著升高($P < 0.05$);与B组比较,C组、D₁组、D₂组小鼠的AST,ALT,TBiL水平均显著降低($P < 0.05$)。详见图3。

2.4 抗氧化指标

与A组比较,B组小鼠的MDA水平显著升高,SOD,CAT,GSH水平均显著降低($P < 0.01$);与B组比较,C组、D₁组小鼠的MDA水平显著降低,C组、D₁组、D₂组小鼠的SOD,CAT水平均显著升高,D₃组小鼠的SOD水平显著升高($P < 0.05$)。详见图4。

2.5 Nrf2下游药物转运体mRNA水平

与A组比较,B组小鼠的MRP2,P-gp,BSEP,UGT1A1 mRNA水平均显著降低($P < 0.05$);与B组比较,C组、D₁组、D₂组小鼠的MRP2,P-gp,BSEP,UGT1A1 mRNA均显著升高($P < 0.05$)。详见图5。

2.6 蛋白质表达水平

与A组比较,B组小鼠的细胞核Nrf2,HO-1蛋白的表达水平均显著降低,p-NF-κB p65,TNF-α,IL-6蛋白的相对表达水平均显著升高;与B组比较,C组、D₁组、D₂组、D₃组小鼠前2种蛋白的表达水平均显著升高,后3种蛋白的表达水平均显著降低($P < 0.05$)。详见图6。

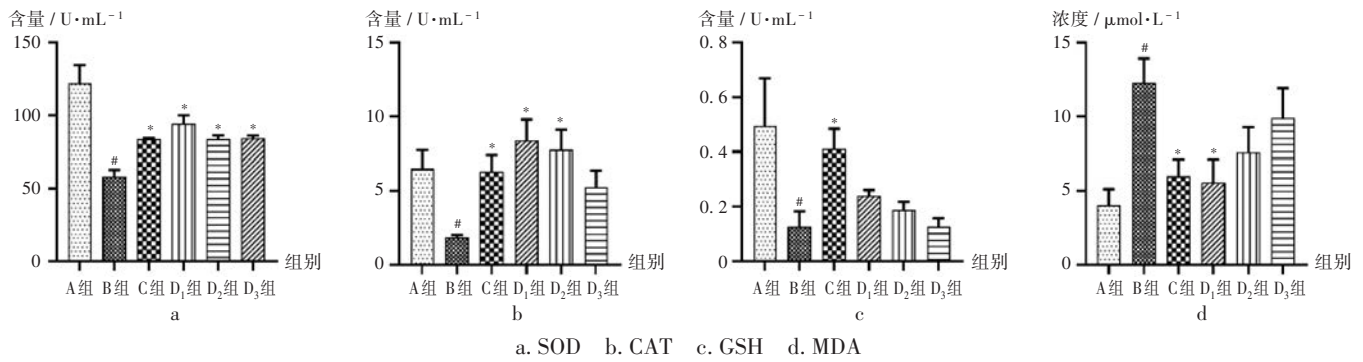


图4 小鼠抗氧化指标($\bar{X} \pm s, n = 10$)

a. SOD b. CAT c. GSH d. MDA

Fig. 4 Antioxidant indexes of mice ($\bar{X} \pm s, n = 10$)

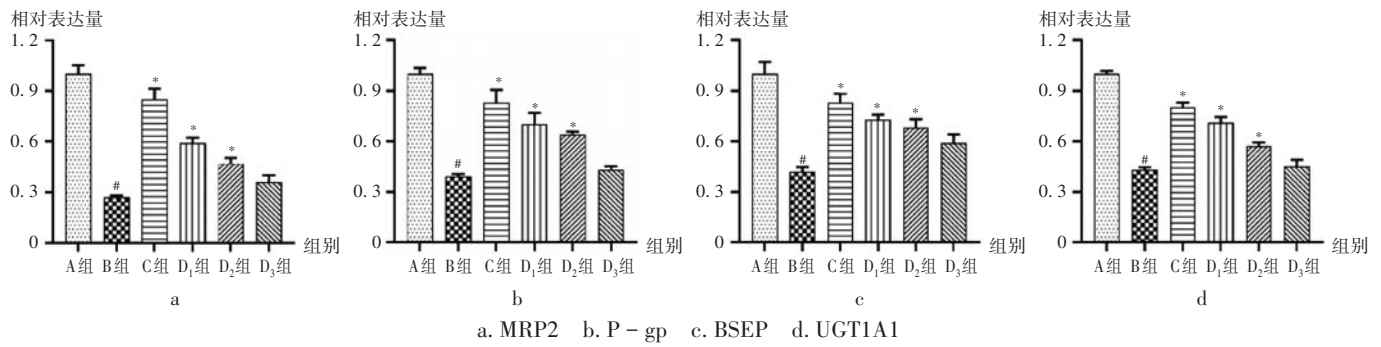


图5 小鼠Nrf2下游药物转运体mRNA水平($\bar{X} \pm s, n = 10$)

a. MRP2 b. P-gp c. BSEP d. UGT1A1

Fig. 5 mRNA levels of Nrf2 downstream drug transporters of mice ($\bar{X} \pm s, n = 10$)

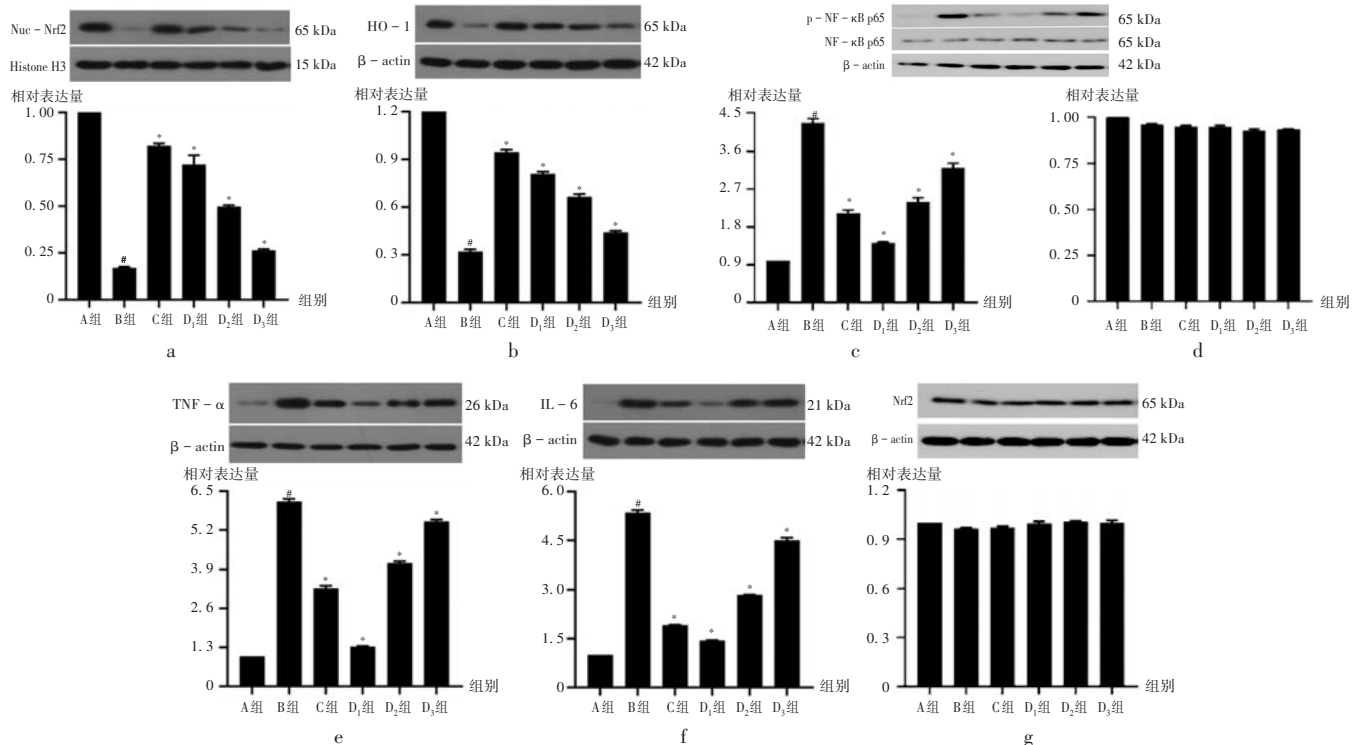


图6 小鼠肝保护信号通路相关蛋白表达水平($\bar{X} \pm s, n = 10$)

a. Nuclear Nrf2 b. HO-1 c. p-NF-κB p65 d. NF-κB p65 e. TNF-α f. IL-6 g. Nrf2

Fig. 6 Expression levels of proteins related to liver - protection signaling pathways of mice ($\bar{X} \pm s, n = 10$)

3 讨论

黄芩素是黄芩发挥保肝作用的有效成分,属黄酮类化合物,具有显著的抗氧化和抗炎作用,对四氯化碳、半乳糖胺、对乙酰氨基酚及卡介苗加脂多糖所致肝损伤具有显著的防护作用。本研究中,黄芩素干预后,细胞核 Nrf2 表达上调,NF- κ B p65 磷酸化过程被抑制,提示黄芩素可激活 Nrf2 / NF- κ B 通路,启动其下游的相关抗氧化蛋白的表达,抑制相关炎症因子的表达。Nrf2 / NF- κ B 信号通路是肝损伤防护的有效途径^[8-10]。本研究中,B组小鼠的细胞核 Nrf2 蛋白表达水平,SOD,CAT,GSH 水平均显著低于 A 组,MDA 水平,p-NF- κ B p65,TNF- α ,IL-6 蛋白表达水平均显著高于 A 组,提示黄药子诱导的肝损伤模型小鼠发生了严重的氧化应激反应和炎症反应。B 组小鼠肝细胞中,Nrf2 蛋白调控的下游药物转运体 MRP2,P-gp,BSEP,UGT1A1 mRNA 表达水平均显著低于 A 组,提示肝损伤模型小鼠转运黄药子提取物及其代谢物的量相对减少,易产生药物蓄积损伤肝脏。

本研究中,与 B 组比较,D₁组、D₂组、D₃组小鼠的 SOD,CAT,GSH 水平均显著升高,MDA 水平显著降低,TNF- α 和 IL-6 蛋白表达水平均显著降低,提示黄芩素对黄药子诱导的氧化应激与炎症反应具有改善作用。本研究中,黄芩素干预后,D₁组、D₂组、D₃组小鼠的细胞核 Nrf2 蛋白表达显著下调,肝细胞中药物转运体 MRP2,P-gp,BSEP,UGT1A1 mRNA 水平均显著升高;且 Nrf2 蛋白激活后诱导下游的转运体转录,对于减轻药物性肝损伤具有重要作用^[11-16],提示黄芩素对黄药子诱导的小鼠肝损伤具有防护作用可能与激活 Nrf2 / NF- κ B 信号通路及其下游的药物转运体有关。AST,ALT,ALP,TBil 是临床诊断肝功能损伤的常用指标^[17]。B 组小鼠的 AST,ALT,TBil 指标较 A 组显著均升高,提示 B 组小鼠肝脏细胞出现了损伤坏死;D₁组、D₂组、D₃组小鼠的上述指标水平均显著低于 B 组,提示黄芩素能改善小鼠肝损伤。该检测结果与肝脏组织病理形态观察结果相符。

综上所述,黄芩素对黄药子诱导的肝损伤有一定防护作用,其作用机制可能与通过 Nrf2 / NF- κ B 信号通路,激活其下游的转运体及提高抗氧化、抗炎水平有关。

参考文献

[1] 张杏红,李建恒,侯大宜. 黄药子的研究进展[J]. 中国药业,2000,9(7):61-62.
[2] 朱大诚,况东,徐丽婷,等. 黄药子药理作用及临床应用[J]. 中国老年学杂志,2022,42(1):239-243.

[3] 古维新,马云. 中药诱发肝损害[J]. 中国药业,2000,9(12):42-43.
[4] KUNDU BB, VANNI K, FARHEEN A, et al. *Dioscorea bulbifera* L. (Dioscoreaceae): a review of its ethnobotany, pharmacology and conservation needs [J]. South African Journal of Botany, 2021, 140:365-374.
[5] LI H, PENG Y, ZHENG J. *Dioscorea bulbifera* L. - induced hepatotoxicity and involvement of metabolic activation of furanoterpenoids [J]. Drug Metabolism Review, 2020, 52(4):568-584.
[6] 王秋红,杨欣,王蒙,等. 黄芩与黄柏协同保护黄药子致肝毒性的实验研究[J]. 中国中药杂志,2016,41(5):898-903.
[7] 刘凤兰. 具护肝作用的黄芩素类似物的合成研究[D]. 杭州:浙江大学,2001.
[8] 南瑛,张薇,常晋瑞,等. 绞股蓝皂苷通过 Nrf2 / NF- κ B 信号通路发挥抗小鼠急性酒精性肝损伤作用[J]. 中国药理学通报,2019,35(1):40-45.
[9] 谢允东,王小平,何世鹏. 芝麻酚对模型小鼠肝损伤的改善作用[J]. 中国药业,2021,30(18):37-41.
[10] 张海莉. 木犀草素通过调控 Nrf2 / NF- κ B / P53 通路减轻氯化汞诱导的肝损伤[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2017.
[11] ZHANG XQ, WANG T, YANG YJ, et al. Tanshinone II A attenuates acetaminophen - induced hepatotoxicity through HOTAIR - Nrf2 - MRP2 / 4 signaling pathway [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 130:110547.
[12] 谭亲友,刘兵,张靖,等. 基于 Nrf2 信号通路探讨异甘草酸镁对雷公藤甲素损伤 L-02 细胞中相关蛋白表达的影响[J]. 中国现代应用药学,2020,37(2):138-142.
[13] WU JJ, ZHU YF, GUO ZZ, et al. *Aconitum* alkaloids, the major components of *Aconitum* species, affect expression of multidrug resistance - associated protein 2 and breast cancer resistance protein by activating the Nrf2 - mediated signalling pathway [J]. Phytomedicine, 2018, 44:87-97.
[14] ZHANG Y, LICKTEIG AJ, LIU J, et al. Effects of ablation and activation of Nrf2 on bile acid homeostasis in male mice [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2020, 403:115170.
[15] WANG Z, SUN X, FENG Y, et al. Dihydropyridinone reverses MRP2 - induced multidrug resistance by preventing NF- κ B - Nrf2 signaling in colorectal cancer cell [J]. Phytomedicine, 2021, 82:153414.
[16] HUI G, LI H, YAN M, et al. Effect of licorice on the induction of phase II metabolizing enzymes and phase III transporters and its possible mechanism [J]. Pharmazie, 2014, 69:894-897.
[17] 孟霞,李梦,翟亚南,等. 小鼠慢性肝损伤周期性病变研究[J]. 实验动物科学,2019,36(5):54-59.

(收稿日期:2022-11-14;修回日期:2023-05-11)