

孙小茗,左晓彬,王春宇,等. 螞蟥菊内酯对对乙酰氨基酚致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(6): 86-91.

Sun XM, Zuo XB, Wang CY, et al. Protective effect of wedelolactone against acetaminophen-induced liver injury in mice [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(6): 86-91.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.06.014

螞蟥菊内酯对对乙酰氨基酚致小鼠急性肝损伤的保护作用

孙小茗^{1,2#}, 左晓彬^{2,3#}, 王春宇⁴, 柏兆方², 安丽萍^{1*}, 李瑞生^{2*}

(1. 北华大学药学院, 吉林 吉林 132013; 2. 解放军总医院第五医学中心, 北京 100039;
3. 承德医学院 河北 承德 067000; 4. 锦州医科大学 锦州 121001)

【摘要】 目的 探究螞蟥菊内酯对对乙酰氨基酚引起的小鼠急性肝损伤的保护作用。方法采用小鼠腹腔注射对乙酰氨基酚模拟肝损伤模型, 观察螞蟥菊内酯对肝的保护作用。将 BALB/c 小鼠随机分为对照组、模型组、螞蟥菊内酯低剂量组和高剂量组 ($n=8$)。通过检测小鼠血清中的丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST); 肝组织匀浆中的丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽 (GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 指标, 血清 ELIA 检测 TNF- α 、IL-6, 结合肝的组织病理学检查, 观察螞蟥菊内酯对对乙酰氨基酚所致肝损伤的保护作用。**结果** 模型组小鼠血清中的 AST、ALT、GSH、MDA、IL-6 以及 TNF- α 水平明显高于对照组 ($P<0.01$), 有统计学意义; 螞蟥菊内酯低剂量组和高剂量组的 AST、ALT 以及肝组织匀浆液中 SOD 和 GSH-PX 水平明显要高于模型组, 且肝组织匀浆液中 MDA、GSH 水平以及小鼠血清中 TNF- α 、IL-6 水平明显低于模型组 ($P<0.01$), 有统计学意义; 模型组的 GSH-PX 和 SOD 水平明显低于对照组 ($P<0.01$), 有统计学意义。组织病理学苏木素-伊红 (hematoxylin and eosin, HE) 和细胞凋亡染色 (TdT-mediated DUTP nick end labeling, TUNEL) 显示螞蟥菊内酯可明显减轻肝组织的坏死和凋亡。**结论** 螞蟥菊内酯对对乙酰氨基酚引起的急性肝损伤有明显的保护作用。

【关键词】 螞蟥菊内酯; 急性肝损伤; 对乙酰氨基酚

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 06-0086-06

Protective effect of wedelolactone against acetaminophen-induced liver injury in mice

SUN Xiaoming^{1,2#}, ZUO Xiaobin^{2,3#}, WANG Chunyu⁴, BAI Zhaofang², AN Liping^{1*}, LI Ruisheng^{2*}

(1. College of Pharmacy, Beihua University, Jilin 132013, China. 2. Fifth Medical Centre, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100039. 3. Chengde Medical College, Chengde 067000. 4. Jinzhou Medical University, Jinzhou 121001)

【Abstract】 **Objective** To investigate the protective effect of wedelolactone (Wed) against acetaminophen (APAP)-induced acute liver in mice. **Methods** A mouse model of APAP-induced liver injury was established. Thirty-two male BALB/c mice were randomly divided into normal, APAP, 10 mg/kg Wed and 20 mg/kg Wed groups ($n=8$). A

【基金项目】 重大新药创制 (2017ZX09301022); 山东省重点研发计划 (2016ZDJQ0108); 国家自然科学基金 (81874368); 北京市科技新星 (Z181100006218001)。

【作者简介】 孙小茗, 女, 硕士研究生, 研究方向: 药物分析, E-mail: 623782362@qq.com。

左晓彬, 女, 硕士研究生, 研究方向: 临床中药学, E-mail: zxb0328@163.com。#共同第一作者

【通信作者】 安丽萍, 女, 博士, 教授, 研究方向: 中药作用物质基础及其机制。E-mail: alp960@126.com。

李瑞生, 男, 博士, 副研究员, E-mail: lrsheng@sohu.com。* 共同通信作者

colorimetric method was used to assay the levels of serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GSH-PX) and superoxide dismutase (SOD) in mouse liver homogenates, and the serum levels of tumor necrosis factor (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6).

Results In the model group, the serum levels of AST, ALT, IL-6 and TNF- α , and GSH and MDA in the liver homogenates were significantly higher than those in the control group ($P < 0.01$). The levels of AST, ALT, SOD and GSH-PX in liver tissue homogenates of the low- and high-dose Wed groups were significantly higher than those in the model group ($P < 0.01$), and the levels of MDA and GSH in liver tissue homogenates and TNF- α and IL-6 in the serum of mice were significantly higher than those in the model group ($P < 0.01$). The levels of GSH-PX and SOD in the model group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.01$). Histopathological examination using HE and TUNEL staining showed that Wed significantly reduced liver necrosis and apoptosis. **Conclusions** Wed has a protective effect on APAP-induced acute liver injury.

【Keywords】 wedelolactone; liver damage; acetaminophen; mouse

肝病是我国常见的疾病之一。在全世界的发病率也呈逐年上升的趋势。各种因素导致的肝损伤在肝病的发生与发展中起着重要的作用。急性肝损伤是肝病发生、发展甚至到恶化的基本途径,如果不及时治疗,甚至引发肝硬化、肝癌^[1]。对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)是临床上应用频率较高的解热镇痛药,过量的摄入会导致肝损伤^[2],从而影响细胞的增殖、分化与凋亡^[3-5]。

螞蟥菊内酯(wedelolactone)属于香豆草醚类化合物^[6-7],其主要成分提取于墨旱莲和螞蟥菊等植物^[6-7]。螞蟥菊是菊科植物螞蟥菊的全草,主要分布在我国的海南、广东、福建以及贵州等地,具有凉血散瘀和清热解毒的功效,在南美洲地区也将其用于肝疾病、脓毒性休克以及毒蛇咬伤等疾病^[7-9]。实验已经证明了螞蟥菊内酯可以抑制 LPS 所致的 RAW264.7 细胞 IL-6、TNF- α 炎性细胞因子的生成^[10],并对抑制肝纤维化具有较好的保护作用^[11]。

在螞蟥菊内酯的实际应用过程中发现,其在体内作用时,受到影响的因素较多,实验结果与体外实验存在一定的偏差,因此为了进一步观察螞蟥菊内酯的保肝活性,本文对其进行了研究。在本次试验中采用的模型是乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤,通过试验中形态学观察、生化指标、ELISA 反应等证明螞蟥菊内酯对乙酰氨基酚诱导的小鼠肝损伤的保护作用,为螞蟥菊内酯临床应用提供可靠的理论参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康 SPF 级 BALB/c 小鼠 32 只,体质量(20.1 \pm 1.8)g,雄性,6~8 周龄,所有小鼠均采购于北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2017-

0006]。饲养于解放军总医院第五医学中心[SYXK(军)2017-010],适应性饲养 1 周后,随机分为 4 组用于实验。12 h 明暗交替照明,自由饮水进食。动物伦理审批号:LACUC-2017-013,按照实验动物使用的 3R 原则给予人道关怀。

1.2 主要试剂与仪器

螞蟥菊内酯购于成都普菲德生物技术有限公司,批号 18032201。APAP 购自 MCE(HY-66005)。谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽(reduced glutathione assay kit, GSH)、谷胱甘肽-过氧化物酶(cellular glutathione peroxidase assay kit, GSH-PX),试验中应用的测定试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。丙二醛(micro malondialdehyde assay kit, MDA)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司。

所用仪器为 SynergyH2 型多功能微孔板检测仪,生产厂家为美国 Bio-Tek 公司;Nikon E200 型光学显微镜及 Mini-6 K 微型离心机,生产厂家为杭州奥盛仪器有限公司;PL602-L 型电子天平,生产厂家为梅特勒-托利多仪器有限公司;HC-3018R 型高速冷冻离心机,生产厂家为安徽中科中佳科学仪器有限公司;KPJ-1 A 型生物组织摊片烤片机,生产厂家为天津天利航空有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 药物配制

称取螞蟥菊内酯,加生理盐水混悬至所需浓度(10 mg/kg;20 mg/kg);称取对乙酰氨基酚溶于生理盐水至所需浓度(200 mg/kg)。

1.3.2 动物分组及处理

接受实验对象为健康 BALB/c 小鼠,在其饲养

7 d 后,将其分为对照组、模型组(APAP)、螾蜞菊内酯低剂量组(10 mg/kg, APAP+Wed)、螾蜞菊内酯高剂量组(20 mg/kg, APAP+Wed),每组 8 只,各组以灌胃的方式给药,对照组和模型组给与等量生理盐水,螾蜞菊内酯低、高剂量组每天给药 1 次,连续给药 7 d。给药第 6 天,模型组与螾蜞菊内酯低、高剂量组小鼠腹腔注射溶解在生理盐水中的 APAP(200 mg/kg),对照组腹腔注射生理盐水,造模前 12 h 禁食不禁水,造模 12 h 后留取组织及血清样本,做各项测定用。收集的全血标本在室温凝结 1 h 后,4℃ 离心(3500 r/min, 15 min)。

1.3.3 血清学指标检测

小鼠造模后禁食不禁水 12 h,留取血清样本,静置 1 h,3500 r/min,离心 15 min 取血清,冷藏 4℃ 备用。按照试剂盒说明书的方法测定血清中 ALT、AST、IL-6、TNF- α 。

1.3.4 氧化应激指标检测

取冻存的肝组织,制备成 10% 组织匀浆,离心,取上清液,按照试剂盒说明书的方法检测肝组织中 MDA 含量和 GSH、SOD、GSH-PX 活性。

1.3.5 肝组织病理学观察

取相同部位的肝组织固定于中性福尔马林固定液中,脱水石蜡包埋、切片,常规苏木素-伊红(HE)染色,TUNEL 染色,用于组织切片观察肝细胞的凋亡情况和肝病例损伤情况。

1.3.6 疗效观察及评价

观察螾蜞菊内酯对小鼠 AST、ALT 的影响、对小鼠肝中 SOD、MDA、GSH、GSH-PX 的影响、对小鼠炎症反应的影响、肝细胞坏死以及肝细胞凋亡情况进行观察。炎症评价指标:通过小鼠血清 IL-6、TNF- α 水平进行评价,其水平越高代表其炎症反应越大;肝细胞坏死的评价标准:切片中出现无核肝细胞残体可评价为肝坏死;肝细胞凋亡的评价标准:当 TUNEL 染色呈阳性时代表 细胞出现凋亡,其切片特点为细胞核表现为棕褐色,凋亡小体则为较小的

棕褐色圆形小体。

1.4 统计学方法

本次调查中涉及的实验数据库均采用统计软件进行计算,软件版本为 SPSS 20.0,实验所得的 ALT、AST 数据表现形式为平均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$),统计学方法为单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对小鼠 ALT、AST 的影响

ALT、AST 是肝损伤的主要酶标记物,当肝细胞受到损伤时,会导致二者血清浓度急剧升高。由表 1 可以看出,模型组小鼠血清中的 AST 和 ALT 水平与对照组对比明显较高,经统计学计算后显示($P<0.01$),说明其存在统计学意义;螾蜞菊内酯各剂量组的 AST 和 ALT 水平明显要高于模型组,经统计学计算后发现($P<0.01$),统计学意义明显,结果显示螾蜞菊内酯具有较好的保护肝受损的作用。见表 1。

2.2 对小鼠肝中 SOD、MDA、GSH、GSH-PX 的影响 各组小鼠 SOD、MDA、GSH、GSH-PX 活力

模型组的 GSH 和 MDA 水平明显高于对照组,且统计学计算后显示($P<0.01$),统计学意义明显;模型组的 GSH-PX 和 SOD 水平明显低于对照组,且统计学计算后显示($P<0.01$),统计学意义明显;螾蜞菊内酯各剂量的肝组织 MDA 和 GSH 水平明显低于模型组,且 SOD 和 GSH-PX 水平高于模型组,组间数据差异均显示($P<0.01$),具有统计学意义。表 2 结果显示螾蜞菊内酯具有一定的抗氧化作用。见表 2。

2.3 对小鼠 TNF- α 、IL-6 的影响

模型组的 IL-6 和 TNF- α 水平明显高于对照组,且统计学结果显示($P<0.01$),存在统计学意义;与模型组比较,螾蜞菊内酯各剂量组明显降低小鼠血清中 TNF- α 、IL-6 水平($P<0.01$),统计学意义明显。结果表明,螾蜞菊内酯能够抑制炎症细胞分泌,减轻炎症反应,阻止损伤加重。见表 3。

表 1 螾蜞菊内酯对小鼠 ALT、AST 的影响($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Table 1 Effect of wedelolactone on the levels of ALT and AST in liver tissues

组别 Groups	剂量(mg/kg) Dose	ALT(U/L)	AST(U/L)
对照组 Normal group	0	3.41 \pm 2.17	171.62 \pm 10.99
模型组 Model group	0	331.39 \pm 16.27 ^{##}	408.57 \pm 32.38 ^{##}
螾蜞菊内酯低剂量组 WED-L group	10	204.63 \pm 41.35 ^{**}	313.04 \pm 22.55 ^{**}
螾蜞菊内酯高剂量组 WED-H group	20	174.62 \pm 36.42 ^{**}	220.38 \pm 18.79 ^{**}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$ 。

Note. Compared with normal group,^{##} $P<0.01$. Compared with model group,^{**} $P<0.01$.

2.4 蟛蜞菊内酯对肝损伤小鼠肝病理改变的影响

按照以上实验方法,小鼠连续给药 7 d 后,各组对小鼠的肝实施组织病理学观察。结果显示,正常组小鼠肝小叶和肝细胞结构清晰,肝索呈放射状排列,且核居中。汇管区未见炎细胞浸润。肝损伤模型组可见肝小叶结构破坏,排列紊乱,肝血窦扩张充血中央静脉附近大面积肝细胞坏死,伴有肝细胞广泛性水肿和细胞炎性浸润。蟛蜞菊内酯各给药组肝病变程度较模型组有明显的改善,肝细胞变性和坏死面积明显减少,局部仍可见炎细胞浸润。结

果提示,模型成功,蟛蜞菊内酯各给药组对缓解肝组织损伤均有一定的作用。见图 1。

2.5 蟛蜞菊内酯对肝损伤小鼠凋亡改变的影响

对照组小鼠肝组织切片中未见到黄色细胞核,与对照组比较,模型组黄色细胞核明显,大量肝细胞凋亡;与模型组比较,蟛蜞菊内酯低剂量组和高剂量组棕褐色细胞核减少,肝细胞凋亡明显减少,且高剂量组明显优于低剂量组。结果进一步表明,蟛蜞菊内酯对 APAP 造成的肝细胞凋亡具有抑制作用且有一定的差异。见图 2。

表 2 蟛蜞菊内酯对肝组织中 SOD、MDA、GSH、GSH-PX 的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)
Table 2 Effect of wedelolactone on hepatic levels of SOD, MDA, GSH, and GSH-PX

组别 Groups	剂量 (mg/kg) Dose	MDA (nmol/mg.pro)	SOD (U/mg.pro)	GSH ($\mu\text{mol/g.pro}$)	GSH-PX (U/mg.pro)
对照组 Normal group	0	2.18 \pm 0.43	462.26 \pm 8.04	96.38 \pm 6.45	744.33 \pm 56.63
模型组 Model group	0	7.79 \pm 1.31 ^{##}	361.68 \pm 17.29 ^{##}	131.83 \pm 15.37 ^{##}	475.85 \pm 84.10 ^{##}
蟛蜞菊内酯低剂量组 WED-L group	10	3.93 \pm 0.84 ^{**}	388.55 \pm 17.45 ^{**}	118.57 \pm 8.73 ^{**}	592.26 \pm 77.48 ^{**}
蟛蜞菊内酯高剂量组 WED-H group	20	3.04 \pm 0.83 ^{**}	412.75 \pm 13.96 ^{**}	98.22 \pm 19.34 ^{**}	633.20 \pm 19.12 ^{**}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$ 。

Note. Compared with normal group,^{##} $P<0.01$. Compared with model group,^{**} $P<0.01$.

表 3 蟛蜞菊内酯对血清中 TNF- α 、IL-6 的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 3 Effect of wedelolactone on serum levels of TNF- α and IL-6 in the mice

组别 Groups	剂量 (mg/kg) Dose	TNF- α (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)
对照组 Normal group	0	26.49 \pm 8.36	40.50 \pm 9.47
模型组 Model group	0	133.33 \pm 26.42 ^{##}	128.60 \pm 30.36 ^{##}
蟛蜞菊内酯低剂量组 WED-L group	10	75.10 \pm 11.33 ^{**}	91.87 \pm 11.89 ^{**}
蟛蜞菊内酯高剂量组 WED-H group	20	57.03 \pm 14.31 ^{**}	77.11 \pm 9.84 ^{**}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$ 。

Note. Compared with normal group,^{##} $P<0.01$. Compared with model group,^{**} $P<0.01$.

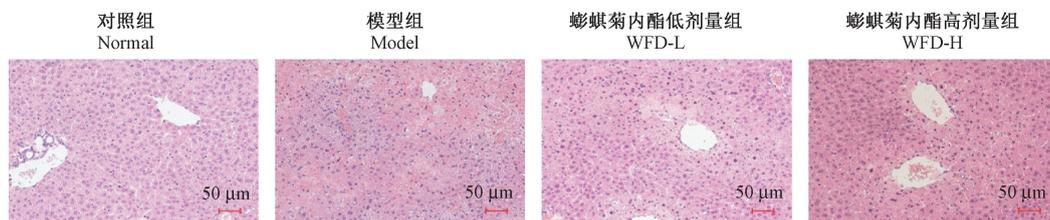


图 1 蟛蜞菊内酯对纤维化小鼠肝组织病理学的影响(HE 染色)

Figure 1 Effect of wedelolactone on liver tissue pathology in the mice with liver fibrosis (HE staining)

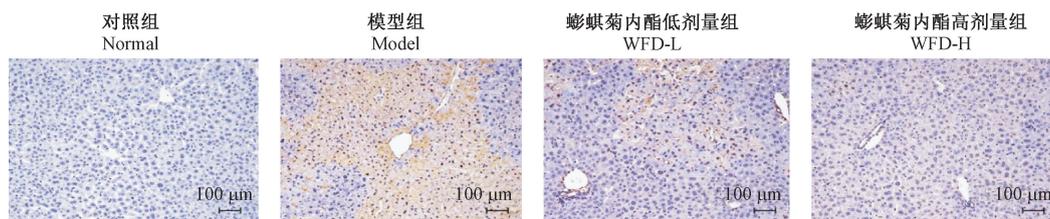


图 2 蟛蜞菊内酯对纤维化小鼠肝组织肝细胞凋亡的影响(TUNEL)

Figure 2 Effect of wedelolactone on apoptosis in hepatocytes in the mice with liver fibrosis

3 讨论

肝是人的重要脏器之一,具有解除毒物和药物的作用,同时也容易受到有害因素的影响,造成肝损伤。发生肝损伤之后,可通过的一定的方法进行恢复,例如在肝损伤早期,通过及时服用治疗药物可恢复肝细胞的正常功能,但是如果未能及时进行治疗,那么损伤的肝细胞则无法恢复至正常,并且会发展为肝硬化、肝纤维化甚至是肝癌。所以在肝损伤的治疗中,能够明确其发病机制以及药物治疗的作用,对肝病的治疗的具有重要意义。本研究通过建立对乙酰氨基酚诱导的小鼠急性肝损伤模型,研究螞蟥菊内酯对对乙酰氨基酚小鼠的保护作用。

APAP 诱导的急性肝损伤动物模型,其具有良好的稳定性,并且容易复制,造模时间短,因此其是抗肝纤维化和筛选保肝药物的较常用的动物模型^[13-17]。APAP 是应用最为广泛的非甾体类解热镇痛药,因此对乙酰氨基酚所导致的肝毒性已经成为了药物性肝损伤的主要原因^[13-19]。APAP 在体内的代谢方式主要是通过葡萄糖的硫酸化和醛酸化作用生成无毒的代谢物排出体外^[13-20]。一小部分 APAP 是在细胞色素 P450 酶的作用下产生 NAPQI, NAPQI 是毒性中间体,其在肝内可以和 GSH 结合,达到解毒的效果^[13-21]。但是当临床大剂量应用对乙酰氨基酚后,硫酸化通路和葡萄糖醛酸化的通路均达到饱和状态,对应的对乙酰氨基酚就会通过细胞色素 P450 酶转化成 NAPQI,再次过程中会迅速的消耗肝细胞内的 GSH^[13-22],当 GSH 被耗尽之后, NAPQI 就会与肝细胞内的蛋白质结合,最后造成肝细胞的氧化损伤^[13-23]。

在肝功能的评估中,常用的评价指标为 AST 和 ALT,当肝细胞受损或者病变后,其细胞膜的通透性就会增加,导致 AST 和 ALT 的指标上升^[24]。在本研究中模型组的 ALT 水平和和 AST 水平上升程度比较明显,并且经过组织学研究后发现,肝组织结构已经出现了明显的损坏,此研究结果表明,乙酰氨基酚诱导小鼠急性肝损伤模型复制成功。各剂量给药组均能显著降低 ALT、AST,同时对乙酰氨基酚对于肝组织造成的损伤已经得到了一定程度的控制。结果显示,螞蟥菊内酯可有效的预防并控制过量对乙酰氨基酚对肝组织造成的损伤,其对于肝细胞具有一定的保护作用。

MDA 作为评价组织氧化损伤程度的生物标志物^[25],其水平的上升代表了组织氧化防御系统出现了损坏,同时也代表了组织氧化损伤出现了加强。在机体的抗氧化系统中, SOD 是比较关键的酶,当其活性降低时,体内自由基的含量就会上升,导致脂质过氧化,细胞出现损伤^[27]。在本次调查中显示,当给予小白鼠乙酰氨基酚后,其肝组织中的 MDA 水平出现了明显的上升,而 SOD 的活性则明显降低,这说明乙酰氨基酚已经对小白鼠的抗氧化防御系统造成了破坏,而肝组织也出现了明显的氧化损伤。

检测 GSH 和 GSH-PX 活性的高低,可以间接反映机体对氧自由基的清除能力。结果表明与模型组相比,螞蟥菊内酯各给药组与 GSH 和 GSH-PX 活性均有显著性差异,说明螞蟥菊内酯能提高机体对氧自由基的清除能力,从而减轻氧化应激所致的肝损伤的严重程度。

对乙酰氨基酚诱导的肝细胞坏死,可激活固有免疫细胞,而固有免疫细胞释放的炎性介质,如炎性因子,氧自由基等,参与肝损伤的进展。库普弗细胞定位于肝的具有噬菌作用的巨噬细胞,具有免疫调节作用。有文献表明,对乙酰氨基酚诱导的情况下,库普弗细胞激活产生的 TNF- α 表达量升高^[28-29], Masubuchi 等^[30] 研究发现, IL-6 基因敲除的小鼠肝细胞内的热休克蛋白缺乏,导致机体对对乙酰氨基酚肝毒性更加敏感。本实验结果表明小鼠血清中 TNF- α 水平明显升高,经过螞蟥菊内酯治疗后,小鼠血清中 TNF- α 、IL-6 明显降低。说明螞蟥菊内酯可以抑制炎性细胞分泌 TNF- α 、IL-6,减轻炎性反应,阻止肝损伤加重。HE 和 TUNEL 染色切片显示,与模型组比较,螞蟥菊内酯组肝组织形态改善明显,说明螞蟥菊内酯具有减轻炎性细胞浸润,抑制细胞凋亡的作用。

综上所述,螞蟥菊内酯可以抑制对乙酰氨基酚对肝的损伤,提示螞蟥菊内酯可能是一种具有明显保肝作用,极具开发价值的候选药物,作用可能与抑制对乙酰氨基酚对肝的氧化损伤有关。也为进一步探究机制提供了依据。

参考文献:

- [1] 张倩,刘江宁,秦川.乙型病毒性肝炎动物模型的比较分析[J].中国比较医学杂志,2017,27(06):72-76.
- [2] 汪倩,徐瑞娟,杨劲.对乙酰氨基酚肝毒性机理及药物干预靶点[J].药学与临床研究,2011,19(3):247

- [3] 李三强, 韩红梅, 卢华杰, 等. 解整合素-金属蛋白酶 9 在对乙酰氨基酚诱导的小鼠急性肝损伤中的表达分析 [J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(12): 1143-1145.
- [4] 李大伟, 陆天飞, 华相伟, 等. 对乙酰氨基酚诱导的小鼠药物性肝损伤的模型研究 [J]. 中国细胞生物学学报, 2014, 36(6): 805-809.
- [5] 潘家琪, 宋丹军, 李鹏旭, 等. 对乙酰氨基酚肝毒性机制与防治研究新进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2014, 28(4): 618-624.
- [6] Govindachari TR, Nagarajan K, Pai BR. Chemical examination of *Wedelia calendulacea*. Part I. Structure of wedelolactone [J]. J Chem Soc, 1956: 629-632.
- [7] Mors WB, Nascimento MC, Parente JP, et al. Neutralization of lethal and myotoxic activities of South American rattlesnake venom by extracts and constituents of the plant *Eclipta prostrata* (Asteraceae) [J]. Toxicon, 1989, 27(9): 1003-1009.
- [8] Wagner H, Geyer B, Kisp Y, et al. Coumestans as the main active principles of the liver drugs *Eclipta alba* and *wedelia calendulacea* [J]. Planta Med, 1986, 10(5): 370-374.
- [9] Kobori M, Yang Z, Gong D, et al. Wedelolactone suppresses LPS-induced caspase-11 expression by directly inhibiting the IKK complex [J]. Cell Death Differ, 2004, 11(1): 123-130.
- [10] 陈杰, 许静, 罗子玲, 等. 蟛蜞菊内酯对脂多糖诱导 RAW264.7 细胞 IL-6、TNF- α 及 NF- κ B 的影响 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(9): 2166.
- [11] Xia Y, Chen J, Cao Y, et al. Wedelolactone exhibits anti-fibrotic effects on human hepatic stellate cell line LX-2 [J]. Eur J Pharmacol, 2013, 714(1-3): 105-111.
- [12] Bleibel W, Kim S, D' Silva K, et al. Drug-induced liver injury: review article [J]. Dig Dis Sci, 2007, 52(10): 2463-2471.
- [13] 刘冰, 姜树民. 中药制剂治疗急性肝损伤临床观察 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(11): 101-103.
- [14] 周琼, 刘芳萍, 赵玉林, 等. 四氯化碳致小鼠急性肝损伤动物模型建立方法的 [J]. 东北农业大学学报, 2012, 43(6): 77-81.
- [15] 邢旺兴, 陈斌, 宓鹤鸣, 等. 乌骨藤辨考 [J]. 中药材, 2003, 26(7): 524-526.
- [16] 邢旺兴, 唐婷, 谷娜, 等. 抗肿瘤中药通光藤的药理作用及其作用机理初步研究 [J]. 健康研究, 2011, 31(1): 12-16
- [17] Ghosh J, Das J, Manna P, et al. Acetaminophen induced renal injury via oxidative stress and TNF-alpha production; therapeutic potential of arjunolic acid [J]. Toxicology, 2010, 268(1-2): 8-18
- [18] Ghosh J, Das J, Manna P, et al. Arjunolic acid, a triterpenoidsaponin, prevents acetaminophen (APAP)-induced liver and hepatocyte injury via the inhibition of APAP bioactivation and JNK-mediated mitochondrial protection [J]. Free Radic Biol Med, 2010, 48(4): 535-553.
- [19] Terneus MV, Kiningham KK, Carpenter AB, et al. Comparison of S-Adenosyl-L-methionine and N-acetylcysteine protective effects on acetaminophen hepatic toxicity [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2007, 320(1): 99-107.
- [20] Latchoumycandane C, Goh CW, Ong MM, et al. Mitochondrial protection by the JNK inhibitor leflunomide rescues mice from acetaminophen-induced liver injury [J]. Hepatology, 2007, 45(2): 412-421.
- [21] Mullins ME, Schmidt RU, Jand TB, et al. What is the rate of adverse events with intravenous versus oral N-acetylcysteine in pediatric patients [J]. Ann Emerg Med, 2004, 44(5): 547-548.
- [22] Schmidt LE, Dalhoff K. Risk factors in the development of adverse reactions to N-acetylcysteine in patients with paracetamol poisoning [J]. Br J Clin Pharmacol, 2001, 51(1): 87-91.
- [23] Adewusi EA, Afolayan AJ. A review of natural products with hepatoprotective activity [J]. J Med Plants Res, 2010, 4(13): 1318-1334.
- [24] 何伟, 宋莎莎, 袁平凡, 等. 雷公藤红素对二乙基亚硝胺诱导的大鼠肝纤维化的治疗作用及机制 [J]. 中国药理学通报, 2013, 29(4): 519-524
- [25] 陈彤, 李丽洪, 陈小河, 梁金平, 杨立明. 紫甘薯叶超声波提取工艺优化及其对小鼠肝脏保护作用研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(08): 1212-1218.
- [26] Hsu YW, Tsai CF, Chen WK, et al. Protective effects of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L) seed oil against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice [J]. Food Chem Toxicol, 2009, 47(9): 2281-2288.
- [27] 李雅莉, 赵玲, 张丽, 张兰, 李林. 复原再造胶囊对全脑缺血小鼠学习记忆及脑内氧化应激的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(08): 1-5+83.
- [28] Jaeschke H. Role of inflammation in the mechanism of acetaminophen-induced hepatotoxicity [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2005, 1(3): 389-397.
- [29] Ishida Y, Kondo T, Ohshima T, et al. A pivotal involvement of IFN-gamma in the pathogenesis of acetaminophen-induced acute liver injury [J]. FASEB J, 2002, 16(10): 1227-1236.
- [30] Masubuchi Y, Bourdi M, Reilly TP, et al. Role of interleukin-6 in hepatic heat shock protein expression and protection against acetaminophen-induced liver disease [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 304(1): 207-212.

[收稿日期] 2018-11-23