

【综述】

熊果酸和齐墩果酸抗肝脂肪变和纤维化作用研究进展

张明发, 沈雅琴

上海美优制药有限公司, 上海 201422

摘要: 熊果酸和齐墩果酸的抗氧化作用能对抗各种原因引起的氧化应激所致的肝组织脂质过氧化反应、炎症损伤、脂肪变和纤维化。熊果酸和齐墩果酸通过阻断两面神激酶 2-信号传导及转录激活因子 3 (JAK2-STAT3) 信号转导, 抑制还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 (NOX) 活化, 阻止静息态肝星状细胞活化、增殖, 促进活化态肝星状细胞凋亡, 从而减少胶原生成、增加细胞外基质降解, 产生防治肝纤维化的作用。熊果酸和齐墩果酸诱导肝脏去毒酶和外排转运体表达, 降低胆汁淤积动物血清胆汁酸、胆红素水平和肝脏胆汁酸水平, 减轻胆汁淤积性肝损伤和纤维化; 还可通过降血脂作用抑制肝外脂质在肝脏沉积、抑制肝脏脂质生物合成和促进脂质代谢, 阻滞肝脂肪变的发生和发展。

关键词: 熊果酸; 齐墩果酸; 肝脂肪变; 肝纤维化; 作用机制

中图分类号: R975.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2017) 02- 0270 -09

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2017.02.028

Research advances on effects of ursolic acid and oleanolic acid against hepatic steatosis and fibrosis

ZHANG Ming-fa, SHEN Ya-qin

Shanghai Meiyu Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201422, China

Abstract: Anti-oxidation of ursolic acid and oleanolic acid antagonizes oxidative stress-induced lipid peroxidation, inflammatory injury, steatosis, and fibrosis in liver tissue. Ursolic acid and oleanolic acid could block static state hepatic stellate cells activation and proliferation, and promote active state hepatic stellate cells apoptosis, thus decrease expression of collagen, and increase decomposition of extracellular matrix, to produce the effect in prevention and treatment of hepatic fibrosis by obstruction of JAK2-STAT3 signal transduction to inhibit NOX activation. Ursolic acid and oleanolic acid induce expression of detoxification enzymes and efflux transporters to reduce serum levels of bile acids and bilirubin, and liver levels of bile acids in cholestatic animal, thus ameliorating cholestatic liver injury and fibrosis. Ursolic acid and oleanolic acid inhibit occurrence and development of hepatic steatosis via decreasing hyperlipidemia to inhibit lipid out of liver accumulating to liver, inhibiting hepatic lipid synthesis, and improving lipid metabolism.

Key words: ursolic acid; oleanolic acid; liver steatosis; liver fibrosis; mechanism

在慢性肝病进程中, 常伴随肝细胞脂肪变, 大量脂肪变可导致脂肪肝, 又可诱导肝纤维化, 大量纤维化可演变成肝硬化。脂肪肝是各种原因引起的肝脏脂质蓄积过多的病理状态, 致病最直接的原因是高脂血症和肝脏损伤, 二者均可单独引起脂肪肝; 当二者共存时, 脂质更容易沉积于肝脏, 更容易诱发脂肪性肝炎和肝纤维化, 甚至肝硬化。因此, 同时具有抗肝损伤和调血脂作用的药物是临床上防治脂肪肝和肝硬化最需要的治疗药。

熊果酸 (ursolic acid) 和齐墩果酸 (oleanolic acid) 是一对同分异构体, 化学结构同属五环三萜酸类化合物。齐墩果酸是我国临床应用几十年的保肝和抗肿瘤辅助药物。已有大量资料证实齐墩果酸和熊果酸具有抗四氯化碳 (CCl₄)、对乙酰氨基酚、乙醇、D-氨基半乳糖-脂多糖和氯化镉等十几种化学品的急性肝损伤, 抗免疫性或缺血再灌注急性肝损伤作用^[1]。因此熊果酸和齐墩果酸可以通过治疗急性肝损伤, 阻滞急性肝病转变成慢性肝病, 防止脂

收稿日期: 2016-11-10

作者简介: 张明发 (1946—), 研究员, 研究方向为中药药理。Tel: 13816371915 E-mail: 13816371915@139.com

肪肝和肝硬化发生。熊果酸和齐墩果酸还具有调血脂、抗肥胖药理作用^[2-3],有望增强它们的抗脂肪肝和肝硬化作用。本文综述熊果酸和齐墩果酸抗慢性肝病的肝脂肪变和纤维化作用及其机制,为临床防治脂肪肝和肝硬化提供有力依据。

1 齐墩果酸抗肝脂肪变和纤维化

早在20世纪80年代初,韩德五等^[4]在研究齐墩果酸防止实验性肝硬化发生的实验中,发现给大鼠造模同时,隔日sc齐墩果酸20 mg/只(约100 mg/kg),对CCl₄-乙醇-高脂饲料造模早期(造模2周)所见的肝脂肪变有明显抑制作用;随着造模程度加深,也可防止慢性肝炎(4周)和肝硬化(6周)发生,使模型动物的血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)和γ-球蛋白水平明显下降。但如果在肝硬化形成后给药,齐墩果酸不能使肝硬化率下降。马宏锐等^[5]将给药方式改为ig齐墩果酸200 mg/kg重复上述实验,同样能对抗CCl₄-乙醇-高脂饲料诱发的大鼠脂肪肝、慢性肝炎和肝硬化,减轻肝细胞坏死、脂肪变、疏松、气球样变、间质炎症和纤维增生,防止肝硬化,肝丙二醛和血清ALT水平分别降低43.6%和83.2%,血清白蛋白和白蛋白/球蛋白水平分别提高33.3%和67.3%。

蔺美玲等^[6]给喂高脂饲料大鼠ig齐墩果酸20、40、80 mg/kg,共8周,显著抑制高脂饲料致大鼠体重增加,即抑制肥胖形成,并使高脂饮食动物肝、肾、脾的质量明显下降,脂肪沉积减少^[7]。ip齐墩果酸20 mg/kg也能显著降低Lepr^{db/db}肥胖糖尿病小鼠的体重、脂肪质量及肝脏质量和肝脏脂肪积累^[8]。

给CCl₄染毒大鼠sc齐墩果酸20 mg/只,也能减轻染毒大鼠肝细胞坏死、脂肪变和气球样变,提高肝组织肝糖原和RNA水平,使肝组织中升高的三酰甘油(TG)含量降低79.4%^[9]。张乐之等^[10]给CCl₄染毒大鼠ig齐墩果酸50、100、150 mg/kg,可剂量相关地降低血清ALT和肝组织TG、丙二醛水平,提高肝脏谷胱甘肽和5'-核苷酸酶水平,提示齐墩果酸可能是通过提高染毒肝脏谷胱甘肽含量,抑制肝细胞脂质过氧化反应,维护肝细胞功能,使肝中TG被合成为脂蛋白而释出,阻止血脂沉积于肝脏。李志梅等^[11]报道sc齐墩果酸20 mg/kg和ig齐墩果酸钠3、15、30 mg/kg都能降低CCl₄亚急性肝损伤大鼠血清ALT、天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平和肝损伤升高的肝脏质量指数、肝脂肪变积

分、肝细胞坏死积分和肝间质纤维增生积分。罗奕等^[12]给CCl₄慢性染毒大鼠每天ig齐墩果酸30、60 mg/kg共5周,显著提高被CCl₄降低的血清白蛋白水平,降低升高的血清ALT、AST、透明质酸酶、层黏蛋白、IV型胶原和III型前胶原等肝纤维化指标水平,改善肝脏的病理学变化和纤维沉积,显示出抗肝纤维化作用。

刘长金^[13]报道齐墩果酸可对抗高果糖引起的大鼠脂代谢紊乱,降低模型大鼠升高的血清总胆固醇(TC)、TG、游离脂肪酸(FFA)、胰岛素和血糖水平以及肝脏TG水平,组织学检查可见大鼠肝脏脂质沉积明显减轻。胆管结扎所致的肝外阻塞性胆汁淤积可引起包括肝纤维化在内的肝损伤。给大鼠ig齐墩果酸100 mg/kg可对抗胆管结扎大鼠的胆汁淤积和肝损伤,降低血清ALT、AST、碱性磷酸酶、总胆汁酸、各种胆汁酸(鹅去氧胆酸、胆酸、去氧胆酸)水平^[14]。Chen等^[15]报道给小鼠分别ip齐墩果酸5、10、20 mg/kg能对抗外源性胆石酸引起的小鼠胆汁淤积,减轻肝损伤,降低血清ALT、AST、碱性磷酸酶、总胆汁酸、胆红素水平和肝脏总胆汁酸水平,提高胆石酸中毒小鼠的存活率。

2 熊果酸抗肝脂肪变和纤维化

给高脂饲料性肥胖大鼠分别ig熊果酸150、300 mg/kg,4周或8周后能降低肥胖大鼠的体质量、腹部脂肪质量、肝脏质量以及高脂饲料引起的肝损伤和肝脂肪变和升高的血清TC、TG、FFA及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平^[16-18]。高敬国^[19]在用高脂饲料造模同时给大鼠ig熊果酸10、20、40 mg/kg共8周,结果剂量相关地降低模型大鼠血清ALT、AST、胆碱酯酶含量和TC、TG、LDL-C、FFA水平,肝组织TC、TG含量以及肝脏质量指数,明显改善肝组织病变、肝细胞脂肪变、炎症病变。Kunkel等^[20]报道给大鼠喂饲含0.27%熊果酸高脂饲料,可显著降低血清转氨酶水平、肝脏质量、肝细胞脂肪变、肝TG含量,抑制脂肪形成。Wang等^[21]也报道给兔ig熊果酸25 mg/kg,在降低因高脂饲料升高的血脂水平同时减轻肝脏组织脂肪变和主动脉根损伤,并能协同增强青蒿琥酯防止高脂血症的形成。熊果酸还能增强罗格列酮降低喂高脂饲料小鼠升高的血清ALT、AST,肝组织中TC、TG、FFA的水平,阻滞脂肪在肝脏沉积^[22]。

马连会等^[23]报道给高脂饲料加链脲霉素性2型糖尿病大鼠分别ig熊果酸25、50、100 mg/kg共6

周,可剂量相关地降低升高的血糖、ALT、AST水平,不影响血清总胆红素水平,显示出对2型糖尿病大鼠的肝保护作用。Jang等^[24]报道熊果酸也显著降低此种糖尿病小鼠血清TC、TG、FFA含量,使肝组织中TG含量正常化。Li等^[25]给2型糖尿病模型Lepr^{db/db}小鼠喂饲含0.14%熊果酸饲料,可显著降低肝脏质量、血清ALT、AST活性,减轻肝脂肪变,阻滞脂肪性肝病发展。熊果酸80 μmol/L预处理肝脏HepG₂细胞可对抗FFA升高肝细胞内TG,上清液中肿瘤坏死因子-α(TNF-α)和白介素-6(IL-6)的量,阻滞肝细胞内脂质堆积和炎症形成^[26]。

朱萱团队^[27-31]采用二甲基亚硝胺致大鼠肝纤维化模型深入研究了熊果酸治疗肝纤维化作用。分别给已形成肝纤维化大鼠ip熊果酸10、20、40 mg/kg共4周,可剂量相关地降低ALT、AST,升高白蛋白、白蛋白/球蛋白比值,明显改善肝纤维化大鼠的肝功能;组织病理学研究显示熊果酸改善肝小叶结构,明显减轻肝细胞坏死、纤维组织增生,减少胶原纤维沉积,降低肝脏组织胶原纤维增生程度;阻滞胶原沉积于模型大鼠的肝星状细胞中,40 mg/kg剂量组使肝星状细胞中的胶原水平趋于正常。熊果酸20、40 mg/kg剂量组治疗二甲基亚硝胺性大鼠肝纤维化的综合作用明显强于秋水仙碱0.1 mg/kg对照组。

Ma等^[32]报道给小鼠ig熊果酸25、50 mg/kg,6周,能显著防止CCl₄引起的肝损伤和肝纤维化。Wang等^[33]报道单剂量注射熊果酸能使硫代乙酰胺性大鼠肝纤维化明显消退;注射后24 h内原位末端标记(TUNEL)和α-平滑肌肌动蛋白双阳性细胞明显增加,48 h内使肝纤维变性显著消退。熊果酸也减轻长期应用硫代乙酰胺引起的和结扎胆管引起的肝纤维化发生^[33-34]。

3 抗肝脂肪变和纤维化的作用机制

3.1 对抗肝细胞的氧化应激性损伤和炎症反应

损伤肝细胞是肝纤维化发生的病理启动因素,防止肝细胞氧化应激性损伤和炎症反应是抗肝纤维化的重要环节。熊果酸和齐墩果酸具有抗氧化作用,能对抗氧化应激引起的各种组织损伤和炎症反应^[3, 35-41]。熊果酸和齐墩果酸可通过提高各种肝损伤模型动物的血清和肝组织的抗氧化酶(超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶、谷胱甘肽S-转移酶)活性和还原型谷胱甘肽水平,产生抑制活性氧生成和清除自由基的

作用,对抗各种原因引起氧化应激所致的肝组织脂质过氧化反应,抑制丙二醛生成^[1, 5, 10, 27-31],以及降低TNF-α、IL-6、前列腺素E₂、环氧化酶-2、诱生型一氧化氮合酶等炎症因子水平^[14, 19, 26, 32, 34],对抗氧化应激对肝脏的炎症损伤,阻滞肝脂肪变和纤维化形成。Ma等^[32]认为熊果酸是通过增强核因子E2相关因子2/抗氧化反应元件(Nrf2/ARE)信号转导通路,对抗CCl₄诱导肝细胞氧化应激、炎症和凋亡。而Yang等^[34]认为熊果酸是通过增强肝激酶B1-AMP活化蛋白激酶(LKB1-AMPK)信号转导,抑制氧化应激,保护胆管结扎引起的小鼠肝损伤和肝纤维化。

3.2 抑制肝星状细胞活化及胶原生成

肝星状细胞的活化是肝纤维化的中心环节,其激活途径包括肝细胞损伤后形成脂质过氧化产物、细胞外基质改变与肝库普弗细胞等激活后分泌细胞因子的旁分泌刺激、以及星状细胞活化后自身分泌细胞因子(如转化生长因子-β₁、血小板源生长因子bb)以刺激与维持细胞活化的自分泌作用^[42]。因此阻滞静息态肝星状细胞活化、增殖并转化成肌纤维细胞样肝星状细胞(即活化态肝星状细胞)是抗肝纤维化发生、发展的中心环节。

申月明^[43]报道熊果酸质量浓度在25~150 μmol/L均可浓度相关地抑制大鼠肝星状细胞T6(HSC-T6)增殖;但对L02肝细胞的生长呈双向作用:浓度在25~75 μmol/L内促进细胞增殖,浓度大于100 μmol/L时抑制肝细胞增殖。熊果酸可使HSC-T6细胞缩小变圆、核浓缩等,在25、50、75 μmol/L时使HSC-T6细胞的凋亡率分别为10.30%、21.87%、31.33%,明显高于对照组的2.93%。进一步研究认为熊果酸是通过上调Bax蛋白表达,降低Bcl-2/Bax比值,促使线粒体通透性增加,再激活半胱天冬酶-3,诱导HSC-T6细胞凋亡。Wang等^[33]认为熊果酸能引起线粒体通透性转换,使半胱天冬酶-3、-9裂解,也能降低蛋白激酶B(Akt)磷酸化水平,取消核因子-κB的核易位,从而特异性诱导活化态肝星状细胞发生凋亡性死亡,但不诱导肝细胞和静息态肝星状细胞发生凋亡性死亡,对肝纤维化显示出治疗和预防作用。陈涛等^[44]报道熊果酸50 μmol/L能对抗血管紧张素II促进HSC-T6细胞增殖和I型胶原基因表达,并认为熊果酸是通过抑制还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(NOX),即还原型辅酶II氧化酶活化,阻滞血管紧张素II在

肝星状细胞内的磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 和 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 的信号转导, 从而抑制 HSC-T6 细胞增殖和 I 型胶原基因表达。熊果酸也通过下调 α -平滑肌肌动蛋白表达, 对抗二甲亚硝胺性肝纤维化大鼠的肝星状细胞活化, 从而下调促纤维化因子如转化生长因子- β 1 的基因和蛋白表达, 使胶原分泌减少; 上调基质金属蛋白酶-1 表达和下调基质金属蛋白酶组织抑制因子表达, 增加细胞外基质的降解, 从而使肝内细胞外基质沉积减少^[27-30]。离体实验也发现 10 μ mol/L 的熊果酸或 20 μ mol/L 的齐墩果酸抑制大鼠肝星状细胞激活, 降低佛波醇酯升高基质金属蛋白-2 和 α -平滑肌肌动蛋白水平, 对抗 CCl₄ 诱生肝纤维化^[45]。熊果酸可能是通过抑制转化生长因子- β 1 与成纤维细胞上的转化生长因子- β 1 受体结合(抑制小鼠 3T3 成纤维细胞上受体结合的 IC₅₀ 为 6.9 μ mol/L), 拮抗转化生长因子的促进胶原合成功能^[46]。

瘦蛋白也是促进慢性肝病发生肝纤维化的一类脂肪细胞激素, 当身体脂肪含量增加(如肥胖)时, 脂肪细胞合成和分泌瘦蛋白增多。瘦蛋白促肝纤维化主要是通过激活两面神激酶 2-信号传导及转录激活因子 3 (JAK2-STAT3) 引起肝星状细胞增殖, 抑制其凋亡, 上调基质金属蛋白酶组织抑制因子、I 型胶原表达, 抑制基质金属蛋白酶-1 表达; 也能活化 NOX 并促进活性氧生成, 激活 Akt、细胞外信号调节激酶 (ERK) 信号通路, 调节趋化因子的表达和吞噬凋亡小体, 引起肝纤维化。因此朱萱团队又采用瘦蛋白作为诱导剂、用 NOX 抑制剂氯化二亚苯基碘喹、PI3K/Akt 信号通路抑制剂 LY294002、p38MAPK 信号通路抑制剂 SB203580、ERK 抑制剂 PD98059、JAK 抑制剂 AG490、活性氧清除剂 *N*-乙酰-*L*-半胱氨酸作为对照, 深入探讨熊果酸抑制 HSC-T6 细胞活化、增殖成活化态肝星状细胞的作用机制。结果发现熊果酸显著对抗瘦蛋白促进 HSC-T6 细胞增殖并诱导细胞凋亡^[31, 47-51]和活性氧生成^[31, 47-48]。由于熊果酸的这一对抗作用与 NOX 抑制剂氯化二亚苯基碘喹相似且呈时间相关, 而活性氧清除剂 *N*-乙酰-*L*-半胱氨酸的这一作用随时间延长而减弱, 推测熊果酸主要是通过抑制活性氧的酶性生成, 而不是清除活性氧, 降低细胞内活性氧水平^[31]。深入研究发现熊果酸抑制 NOX 活化(抑制瘦蛋白诱导 HSC-T6 细胞的 NOX 亚基 p47^{phox} 从胞浆向细胞膜易位, 抑制 NOX 亚基 gp91^{phox}、

p22^{phox}、p67^{phox}、Rac1 表达), 阻滞活性氧生成, 对抗瘦蛋白诱导 ERK、PI3K/Akt、p38MAPK 的信号转导通路, 从而抑制基质金属蛋白酶组织抑制因子表达, 促进基质金属蛋白酶-1 表达, 阻断瘦蛋白诱导 I 型胶原的表达, 产生抗肝纤维化作用^[31, 49, 52-53]。而熊果酸又可通过阻断 JAK2-STAT3 信号通路, 阻滞对 NOX 的活化^[49], 熊果酸阻止瘦蛋白诱导活性氧生成, 从而抑制了活性氧对核因子- κ B 的活化, 并下调 X-连锁凋亡抑制蛋白的基因表达, 导致 HSC-T6 细胞凋亡^[48]。熊果酸还可通过抑制 NOX 活化, 阻滞瘦蛋白诱导 HSC-T6 细胞的 Hedgehog 信号通路中的 sonic hedgehog、跨膜蛋白、锌指转录因子基因表达, 下调锌指转录因子-2 蛋白表达, 从而抑制肝星状细胞增殖^[50-51]。熊果酸也可通过抑制 NOX 活化, 阻滞下游 PI3K/Akt 信号通路和 p38MAPK 信号通路, 阻断血管紧张素 II 在肝星状细胞内的信号转导, 从而抑制肝星状细胞的增殖和 I 型胶原的基因表达^[44]。Son 等^[54]报道熊果酸可通过激活 AMP 活化蛋白激酶 (AMPK) 和使糖原合酶激酶 3 β (GSK3 β) 磷酸化, 裂解聚-ADP-核糖聚合酶 (PARP), 抑制促肝星状细胞基因 (astrocyte elevated gene) 表达, 诱导肝癌 HepG₂ 细胞凋亡, 提示熊果酸有抑制肝星状细胞形成作用。体外实验发现齐墩果酸浓度和时间相关地抑制小鼠 L929 成纤维细胞活性并诱导其凋亡, 在培养 12、24、48 h 时齐墩果酸的 IC₅₀ 分别为 27.69、18.24、28.34 mg/L^[55]。

3.3 促进肝细胞再生和抑制肝血管新生

王晓峰等^[56]报道给实验动物分别 sc 齐墩果酸 20、40、80 mg/kg 连续 3 d, 可剂量相关地促进正常小鼠肝细胞 DNA 和蛋白质合成, 刺激肝细胞有丝分裂^[57], 促进部分肝切除大鼠的肝细胞核分裂和再生, 提高肝部分切除动物急、慢性肝炎血清甲胎蛋白检出率^[58], 提示齐墩果酸通过加强 DNA 和蛋白质合成, 促使脂质和蛋白质结合成脂蛋白而释出肝脏, 加速修复受损的肝细胞, 从而阻止纤维增生, 防止肝硬化发生。Jin 等^[59]报道给切除 70% 肝脏的小鼠 ig 熊果酸可显著提高肝脏质量指数, 并认为熊果酸可能是通过促进胞苷-胞苷-腺苷-腺苷-胸苷增强子结合蛋白 β (C/EBP β) 表达而提高细胞周期蛋白 D1、细胞周期蛋白 E 表达水平, 刺激部分肝脏切除小鼠的肝脏再生而阻止肝纤维化发生。

肝纤维化时常伴有血管新生(如肝窦毛细血管

化)。尽管尚未见到有关熊果酸和齐墩果酸抑制肝纤维化动物肝血管新生的实验报告,但已有不少熊果酸抑制其他组织器官血管新生的研究论文。如熊果酸剂量相关地抑制鸡胚绒毛膜的血管形成和抑制牛主动脉血管内皮细胞增殖、迁移和管状形成^[60-61]。作用机制可能是熊果酸抑制了 ERK 信号转导通路中的 ERK1、原癌基因(c-Jun 和 c-Myc)、细胞周期蛋白 D1 的基因和蛋白表达^[62]。熊果酸也可通过抑制血管平滑肌细胞的趋化性,抑制增殖性细胞核抗原表达,破坏 β -微管蛋白和波形蛋白等细胞支架蛋白,抑制球囊损伤后大鼠颈动脉新内膜增生,降低内膜与中膜面积比值^[63-64]。熊果酸能对抗高糖激活 p38MAPK 信号转导通路,从而下调立早基因 c-fos 蛋白表达,浓度(10、20、40 $\mu\text{mol/L}$)相关地抑制高糖诱导大鼠主动脉血管平滑肌细胞增殖^[65]。熊果酸 200 mg/L 能强烈抑制前血管生成刺激剂(糖尿病并发非增殖性视网膜病患者血清)诱导小鼠血管新生^[66]。熊果酸还可通过增加胰岛素敏感性,降低视网膜内的糖含量,抑制链脲霉素性糖尿病小鼠视网膜组织中的血管新生和炎症反应^[67]。贺玲等^[68]报道给小鼠玻璃体内注射熊果酸 1.5、3.0、6.0 $\mu\text{g/L}$ 各 3 μL ,可剂量相关地减轻氧诱导小鼠视网膜病变。熊果酸通过下调视网膜组织中的血管内皮生长因子、环氧合酶-2 及基质金属蛋白酶-2 的表达,减少突破视网膜内界膜的新生血管内皮细胞核数和新生血管腔形成。王博等^[69]报道熊果酸显著降低角膜移植后植片中的白介素-2、 γ -干扰素、核因子- κB 、细胞间黏附分子-1 及血管内皮生长因子的含量,抑制角膜新生血管形成与排斥反应,从而延长大鼠角膜植片的存活时间。

陈锡强等^[70]报道熊果酸质量浓度 5、10 mg/L 可引起转基因斑马鱼背部节间荧光血管残缺或缺失,也能抑制斑马鱼移植癌诱导背部节间血管增生。熊果酸可能是通过阻滞血管内皮生长因子受体-2,抑制斑马鱼生理性和移植癌引起的血管生成。熊果酸也能抑制低氧培养基诱导神经母细胞瘤血管形成^[71]。熊果酸抑制血管平滑肌细胞和血管内皮细胞增殖还可能与熊果酸减少内皮祖细胞数量和抑制内皮祖细胞增殖、迁移、黏附和分泌血管内皮生长因子、粒细胞集落刺激因子有关。糖皮质激素受体拮抗剂能对抗熊果酸的这些抑制作用,提示熊果酸可能通过糖皮质激素样作用抑制内皮祖细胞^[72]。因此推测熊果酸可能具有抑制肝血管新生作用,有利于发挥

其抗肝纤维化效应。

3.4 改善胆汁酸代谢和转运

Chai 等^[14]和 Chen 等^[15]对齐墩果酸对抗胆管结扎阻塞性胆汁淤积和外源性胆石酸淤积致动物肝损伤和肝纤维化作用机制进行了研究。发现齐墩果酸提高肝脏胆汁酸去毒酶细胞色素 P450 (Cyp) 3a、尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 2b (Ugt2b)、磺酸化转移酶 2a1 (Sult2a1)、谷胱甘肽 S-转移酶 (Gst) a1-2、Gstm1-3、膜转运体多药耐药相关蛋白 (Mrp) 2、Mrp3、Mrp4、胆盐外排泵 (Bsep)、有机溶质转运蛋白 (Ost) β 、多药耐药蛋白 (Mdr) 1、Mdr2、核受体孕烯醇酮 X 受体 (Pxr)、维生素 D 受体 (Vdr)、肝细胞核因子 4a (Hnf4a)、视黄醛 X 受体 α (Rxra)、维甲酸受体 α (Rara)、肝脏 X 受体 (Lxr)、肝受体同源蛋白 (Lrh-1),以及转录因子 Nrf2、肝细胞核因子 3 β (Hnf3 β)、芳香烃受体 (Ahr) 表达水平。认为齐墩果酸是通过上调核受体和转录因子表达,诱导肝去毒酶、外排转运体表达,产生抗胆汁淤积性肝损伤。柴进等^[73]也报道齐墩果酸能上调阻塞性胆汁淤积大鼠肝脏 OST α 、OST β 、BSEP 表达。而 Lu 等^[74]报道齐墩果酸是通过抑制有机阴离子转运肽 (Oatp) 1b2 表达,阻滞肝细胞摄取次毒覃环肽,又可通过激活 Nrf2,阻滞次毒覃环肽刺激 MAPK 信号转导,对抗其诱导肝损伤。

熊果酸对正常大鼠有促进胆汁分泌作用和提高胆汁总胆红素和直接胆红素含量的作用^[75]。给大鼠预先 3 次 ig 熊果酸 7.5、15、30 mg/kg 可剂量相关地对抗异硫氰酸苯酯引起大鼠肝内阻塞性黄疸和胆汁淤积性肝炎:抑制异硫氰酸苯酯升高急性肝损伤大鼠血清胆红素、ALT、AST 水平,减轻肝组织病理学改变,提高中毒大鼠胆汁分泌及总胆红素和直接胆红素浓度,显示了熊果酸降酶、退黄、保肝作用^[75-76]。Hua 等^[77]报道熊果酸也可通过抑制有机阴离子转运肽 1B1 (OATP1B1) 活性,阻滞肝细胞摄取瑞舒伐他汀,从而降低血浆清除率,提高他汀类药物的降脂作用。

3.5 抑制肝脏脂质合成和促进脂质代谢,抑制肝外脂质在肝脏的沉积

前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (PCSK9) 由肝细胞表达,PCSK9 可降解肝细胞表面低密度脂蛋白 (LDL) 受体,抑制肝脏对血脂的清除能力。齐墩果酸可降低肝细胞的 PCSK9 的 mRNA 和蛋白表达,提高肝脏对血脂的清除能力,也能对抗降脂药阿托

伐他汀诱导肝细胞表达 PCSK9, 从而强化阿托伐他汀对高血脂患者的降脂效果。而齐墩果酸对肝脏脂代谢的影响还需要载脂蛋白 A1-高密度脂蛋白的参与^[3]。刘长金^[13]报道给大鼠 ig 齐墩果酸 25 mg/kg 共 70 d 可对抗果糖引起大鼠肝脏 TG 过度累积所致的脂肪肝。机制研究发现齐墩果酸是通过抑制果糖刺激肝脏过度表达脂质合成转录因子甾醇调节元件结合蛋白-1c (SREBP-1c) 的基因和蛋白, 从而下调脂肪酸再合成的相关基因脂肪酸合酶、乙酰辅酶 A 羧化酶-1、硬脂酰辅酶 A 去饱和酶-1 的表达, 减少肝脏 TG 的合成。

熊果酸显著增强链脲霉素性糖尿病小鼠肉碱棕榈酰基转移酶活性, 并促进肝中脂肪酸 β -氧化反应, 也抑制肝中脂肪酸合酶活性 (IC_{50} 为 68.23 μ mol/L), 可促使肝中 TG 含量趋于正常。熊果酸 10~30 mg/L 显著抑制棕榈酸引起的 L02 肝细胞脂质累积, 也提示熊果酸促进脂肪酸 β -氧化作用^[25]。Sundaresan 等^[22]报道熊果酸也像齐墩果酸那样下调喂饲高脂饲料小鼠生脂基因 SREBP-1c、脂肪酸合酶和乙酰辅酶 A 羧化酶的表达, 上调脂肪酸氧化基因肉碱棕榈酰基转移酶、乙酰辅酶 A 羧化酶和 PPAR- α 的基因表达, 抑制肝脏脂质沉积。熊果酸 5 mg/kg 与罗格列酮 4 mg/kg 联用还能增强罗格列酮阻滞脂肪在肝脏沉积。熊果酸也显著上调肝细胞 PPAR- α 的 mRNA 和蛋白表达, 并能增强 PPAR- α 与 PPAR- α 应答基因中的 PPAR 效应元件结合, 改变脂代谢中关键基因的表达, 从而显著降低肝细胞中 TG 和胆固醇水平, 对抗高脂饮食性肥胖大鼠的肝脂肪变性^[3]。

熊果酸和齐墩果酸都能刺激胰岛素的表达和分泌, 也能改善胰岛素抵抗, 从而刺激各种组织器官利用脂质和葡萄糖。熊果酸和齐墩果酸也能促进组织合成和分泌脂蛋白酯酶, 帮助组织摄取和利用血脂, 产生降低高血脂作用, 减轻肝外脂质在肝脏中的沉积^[3], 产生防治脂肪肝作用。由于熊果酸和齐墩果酸抑制酰基辅酶 A 胆固醇酰基转移酶活性, 因此也可降低肝胆固醇酯含量, 促使肝中游离胆固醇分解、利用和以胆汁形式排泄^[3]。

4 结语

通过以上综述, 可以概括为以下几点: (1) 熊果酸和齐墩果酸具有抗氧化作用, 可通过提高肝组织的抗氧化酶活性和还原型谷胱甘肽水平, 抑制活性氧生成和清除自由基, 对抗各种原因引起的氧化

应激所致的肝组织脂质过氧化反应、炎性损伤、脂肪变和纤维化。(2) 熊果酸和齐墩果酸可通过阻断 JAK2-STAT3 信号通路, 抑制 NOX 活化, 对抗活性氧生成, 从而阻滞 ERK、PI3K/Akt 和 p38MAPK 的信号转导, 增强 Nrf2/ARE 信号转导, 抑制核因子- κ B 活化, 阻止静息态肝星状细胞活化、增殖, 促进活化态肝星状细胞凋亡, 并下调促纤维化因子转化生长因子- β 1 表达, 使胶原生成减少; 上调基质金属蛋白酶-1 表达和下调基质金属蛋白酶组织抑制因子表达, 增加细胞外基质降解, 产生防治肝纤维化作用。(3) 熊果酸和齐墩果酸又可上调核受体和转录因子表达, 诱导肝去毒酶、外排转运体表达, 降低胆汁淤积动物血清胆汁酸、胆红素水平以及肝脏胆汁酸水平, 减轻胆汁淤积性肝损伤和纤维化。(4) 熊果酸和齐墩果酸还可以通过降低高血脂作用, 抑制肝外脂质在肝脏沉积; 通过抑制肝脏脂质合成和促进脂质代谢, 抑制肝脂肪变的发生和发展。熊果酸和齐墩果酸主要是通过以上 4 方面的作用产生抗肝脂肪变和纤维化效应, 因此临床有望将它们用于防治脂肪肝和肝硬化。

甘草酸属齐墩果酸型衍生物, 是临床上治疗乙型肝炎、药物性肝损伤等肝炎的常用药物^[78]。由于甘草酸也具有降高血脂、抗脂肪肝药理作用^[79], 临床医生已将甘草酸推广应用于脂肪肝的治疗实践中。齐墩果酸是在我国已经注册了 40 多年的老药, 而熊果酸还在申请注册中。临床工作者可以先选择齐墩果酸与甘草酸比较抗肝脂肪变和纤维化作用, 评估齐墩果酸是否可以替代甘草酸, 因为齐墩果酸药源广泛、价格低廉, 又没有甘草酸的皮质激素样副作用。

给正常小鼠 ig 齐墩果酸 225~1 350 mg/kg (500~3 000 μ mol/kg) 连续 10 d^[80-81]或 sc 齐墩果酸 90~135 mg/kg 连续 5 d^[82], 可剂量相关地抑制胆汁酸生物合成酶基因 Cyp7a1、Cyp8b1、Cyp27a1、Cyp7b1, 胆汁酸摄取转运体钠离子-牛磺酸共转运肽 (Ntcp)、Oatp1b2、Oatp1a1, ig 给药时还抑制 Ost β 和 Bsep, sc 时则促进 Ost β 表达。齐墩果酸促进急性相蛋白 Nrf2 及其靶基因醌氧化还原酶 1 (Nqo1)、血红素加氧酶-1 (HO-1)、MT-1 表达, 并抑制芳香烃受体 (AhR)、细胞黏附调节因子 (CAR)、过氧化物酶体增殖物激活受体- α (PPAR α) 及它们的靶基因 Cyp1a2、Cyp2b10、Cyp4a10 表达, 使 PXR 和 Cyp3a11 的作用减弱, 并引起小鼠胆汁

淤积性肝损伤, 表现为剂量相关地升高小鼠血清 ALT、AST、总胆红素和直接胆红素水平, 以及肝脏质量指数; 肝脏组织病理学所见: ig 齐墩果酸从 225 mg/kg 开始出现羽毛样变性 (胆汁淤积的病理特征); 450 mg/kg 剂量时肝小叶结构不清, 肝淤血, 羽毛样变性增多, 出现散在点状无核坏死, 小鼠肝外观颜色变浅, 胆囊轻度肿大; 900 mg/kg 剂量时肝小叶结构不清, 羽毛样变性加重, 明显灶状坏死伴片状坏死, 炎性细胞浸润, 小鼠肝外观颜色变得更浅, 胆囊中度肿大; 1 350 mg/kg 剂量时肝细胞大片坏死, 肝外观颜色呈苍白色, 胆囊呈重度肿大^[80-82]。因此齐墩果酸剂量过大时可致胆汁淤积性肝损伤。万晓莉等^[81]经过推算, 建议齐墩果酸的人每日用量不宜超过 270 mg, 以避免临床用药时出现肝脏毒性反应。因此, 在药物开发以及应用时需要密切关注有效剂量以及引起不良反应的剂量, 还应该针对不同年龄以及人群的剂量变化。

参考文献

- [1] 张明发, 沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸保肝药理作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2012, 9(1): 13-19.
- [2] 刘颖, 刘登科, 刘默, 等. 齐墩果酸的药理作用和结构修饰 [J]. 中草药, 2009, 40(增刊): 21-23.
- [3] 张明发, 沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸调血脂、抗肥胖药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(1): 90-97.
- [4] 韩德五, 马学惠, 赵元昌, 等. 齐墩果酸防止实验性肝硬变发生的研究 [J]. 中医杂志, 1981(3): 57-60.
- [5] 马宏锐, 王淑红, 曹敏. 沙棘油和齐墩果酸对大鼠肝损伤的保护作用 [J]. 西北药学杂志, 1996, 11(2): 74-76.
- [6] 蔺美玲, 陈红梅, 张小郁, 等. 齐墩果酸抑制脂肪饮食肥胖大鼠体重的实验研究 [J]. 成都医学院学报, 2010, 5(1): 16-20.
- [7] 马伯良, 王振宇, 杨家海, 等. 齐墩果酸的降血脂研究 [J]. 中药药理与临床, 1986, 2(2): 38-39.
- [8] Wang X, Liu R, Zhang W, et al. Oleanolic acid improves hepatic insulin resistance via antioxidant, hypolipidemic and anti-inflammatory effects [J]. Mol Cell Endocrinol, 2013, 376(1/2): 70-80.
- [9] 马学惠, 赵元昌, 尹镭, 等. 齐墩果酸防治实验性肝损伤作用的研究 [J]. 药学学报, 1982, 17(2): 93-97.
- [10] 张乐之, 李新芳. 齐墩果酸对大鼠实验性肝损伤作用的研究 [J]. 中药药理与临床, 1992, 8(2): 24-26.
- [11] 李志梅, 孙志勇, 刘华庆. 齐墩果酸钠盐对大鼠化学性肝损伤的保护作用 [J]. 贵州医药, 2004, 28(7): 582-583.
- [12] 罗奕, 刘文. 齐墩果酸对四氯化碳所致大鼠肝纤维损伤的保护作用 [J]. 中国药师, 2014, 17(3): 378-381.
- [13] 刘长金. 齐墩果酸改善高果糖所致大鼠脂肪肝的作用及机制的研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014.
- [14] Chai J, Du X, Chen S, et al. Oral administration of oleanolic acid, isolated from *Swertia mussotii* Franch, attenuates liver injury, inflammation, and cholestasis in bile duct-ligated rats [J]. Int J ClinExp Med, 2015, 8(2): 1691-1702.
- [15] Chen P, Zeng H, Wang Y, et al. Low dose of oleanolic acid protects against lithocholic acid-induced cholestasis in mice: potential involvement of nuclear factor-E2-related factor 2-mediated upregulation of multidrug resistance-associated proteins [J]. Drug Metab Dispos, 2014, 42(5): 844-852.
- [16] 张杰, 吴淑艳, 王琳, 等. 熊果酸对胰岛素抵抗大鼠肝脏组织 PTP-1B, IRS-2 mRNA 表达的影响 [J]. 江苏中医药, 2010, 31(4): 69-71.
- [17] 张杰, 吴淑艳, 王琳, 等. 熊果酸对高脂饮食诱导胰岛素抵抗大鼠脂质代谢的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(5): 975-978.
- [18] Li S, Liao X, Meng F, et al. Therapeutic role of ursolic acid on ameliorating hepatic steatosis and improving metabolic disorders in high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease rats [J]. PLoS One, 2014, 9(1): e86724.
- [19] 高敬国. 熊果酸对非酒精性脂肪肝大鼠肝脏的保护作用及研究 [J]. 中药药理与临床, 2016, 32(2): 27-31.
- [20] Kunkel S D, Elmore C J, Bongers K S, et al. Ursolic acid increases skeletal muscle and brown fat and decreases diet-induced obesity, glucose intolerance and fatty liver disease [J]. PLoS One, 2012, 7(6): e39332.
- [21] Wang Y L, Wang Z J, Shen H L, et al. Effects of artesunate and ursolic acid on hyperlipidemia and its complications in rabbit [J]. Eur J Pharm Sci, 2013, 50(3/4): 366-371.
- [22] Sundaresan A, Harini R, Pugalendi K V. Ursolic acid and rosiglitazone combination on hepatic lipid accumulation in high fat diet-fed C57BL/6J mice [J]. Eur J Pharmacol, 2014, 741: 297-303.
- [23] 马连会, 韩淑英. 熊果酸对 2 型糖尿病大鼠肝功能的影响 [J]. 临床合理用药杂志, 2016, 9(8): 78-79.
- [24] Jang S M, Kim M J, Choi M S, et al. Inhibitory effect of ursolic acid on hepatic polyol pathway and glucose production in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. Metabolism, 2010, 59(4): 512-519.

- [25] Li J S, Wang W J, Sun Y, et al. Ursolic acid inhibits the development of nonalcoholic fatty liver disease by attenuating endoplasmic reticulum stress [J]. Food Funct, 2015, 6(5): 1643-1651.
- [26] 曾璐, 唐外姣, 殷锦锦, 等. 熊果酸改善肝细胞脂肪变性的实验研究 [J]. 中药材, 2015, 38(5): 1049-1052.
- [27] 戴颖, 朱萱. 熊果酸抗实验性大鼠肝纤维化作用机制的研究 [J]. 江西医药, 2008, 43(5): 414-417, 410.
- [28] 戴颖. 熊果酸抗实验性肝纤维化作用及其机制研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2008.
- [29] 欧阳灿晖, 朱萱, 张焜, 等. 熊果酸对肝纤维化大鼠肝组织 TGF- β 1 和 α -SMA 表达的影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(22): 2237-2243.
- [30] 欧阳灿晖. 熊果酸对大鼠肝纤维化及 TGF β 1 表达的影响 [D]. 南昌: 南昌大学, 2008.
- [31] He W H, Shi F, Zhu X, et al. A bioinformatics and mechanistic study elicits the antifibrotic effect of ursolic acid through the attenuation of oxidative stress with the involvement of ERK, PI3K/Akt, and p38 MAPK signaling pathways in human hepatic stellate cells and rat liver [J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 3989-4104.
- [32] Ma J Q, Ding J, Zhang L, et al. Protective effects of ursolic acid in an experimental model of liver fibrosis through Nrf2/ARE pathway [J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2015, 39: 188-197.
- [33] Wang X, Ikejima K, Kon K, et al. Ursolic acid ameliorates hepatic fibrosis in the rat by specific induction of apoptosis in hepatic stellate cells [J]. J Hepatol, 2011, 55(2): 379-387.
- [34] Yang Y, Zhao Z, Liu Y, et al. Suppression of oxidative stress and improvement of liver functions in mice by ursolic acid via LKB1-AMPK-activated protein kinase signaling [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2015, 30: 609-618.
- [35] 张明发, 沈雅琴. 齐墩果酸降血糖和抗糖尿病并发症药理作用研究进展 [J]. 抗感染药学, 2015, 12(6): 801-806.
- [36] 张明发, 沈雅琴. 熊果酸抗糖尿病并发症药理作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2016, 13(2): 247-251.
- [37] 张明发, 沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的抗炎及其抗变态反应 [J]. 抗感染药学, 2011, 8(4): 235-240.
- [38] 张明发, 沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的神经精神药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(5): 570-576.
- [39] 张明发, 沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸的泌尿系药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(2): 304-312.
- [40] 张明发, 沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸的心脏保护作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2016, 13(3): 489-493.
- [41] 张明发, 沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸的肺保护和抗肿瘤作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2016, 13(5): 961-965.
- [42] 赵志敏, 刘成海. 扶正化癥方抗肝纤维化的主要作用机制与效应物质 [J]. 上海医药, 2016, 37(13): 13-16.
- [43] 申月明. 熊果酸对肝星状细胞增殖与凋亡的影响 [D]. 南昌: 南昌大学, 2007.
- [44] 陈涛, 何文华, 朱萱, 等. 熊果酸对血管紧张素 II 诱导肝星状细胞内 NADPH 氧化酶的活化及下游信号通路的影响 [J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2015, 35(1): 17-22.
- [45] Shyu M H, Kao T C, Yen G L. Hsian-tsao (*Mesona procumbens* Heml.) prevents against rat liver fibrosis induced by CCl₄ via inhibition of hepatic stellate cells activation [J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46(12): 3707-3713.
- [46] Murakami S, Takashima H, Sato-Watanabe M, et al. Ursolic acid, an antagonist for transforming growth factor (TGF)- β 1 [J]. FEBS Lett, 2004, 566(1/3): 55-59.
- [47] 刘戈云, 何文华, 朱萱, 等. 熊果酸对瘦素诱导的肝星状细胞 JAK2-STATs 活化及活性氧产生的影响 [J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(19): 2016-2020.
- [48] 李博, 李弼民, 朱萱, 等. 熊果酸对肝星状细胞内活性氧产生的影响及与细胞凋亡的关系 [J]. 广东医学, 2011, 32(11): 1391-1394.
- [49] 张新华, 何文华, 朱萱, 等. 熊果酸对活化型肝星状细胞 NADPH 氧化酶亚基 p47phox 表达及 ERK1/2 信号通路活化的影响 [J]. 第二军医大学学报, 2012, 33(6): 590-594.
- [50] 陈璐, 何文华, 朱萱, 等. 熊果酸对肝星状细胞 NADPH 氧化酶-Hedgehog 信号通路的影响 [J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(5): 427-431.
- [51] 陈璐. 熊果酸对肝星状细胞 Hedgehog 信号通路的影响 [D]. 南昌: 南昌大学医学院, 2012.
- [52] 施凤, 何文华, 朱萱, 等. 熊果酸对大鼠活化型肝星状细胞的 NADPH 氧化酶亚基及 PI3K/Akt、p38MAPK 信号通路活化的影响 [J]. 复旦学报: 医学版, 2014, 41(3): 328-334, 339.
- [53] 施凤. 熊果酸对大鼠活化型肝星状细胞的 NOX 及其调控的信号网络的影响 [D]. 南昌: 南昌大学医学院, 2013.
- [54] Son H S, Kwon H Y, Sohn E J, et al. Activation of AMP-activated protein kinase and phosphorylation of glycogen synthase kinase3 β mediate ursolic acid induced apoptosis in HepG2 liver cancer cells [J]. Phytother Res, 2013, 27(11): 1714-1722.
- [55] 何琨, 张妍, 张蓝可, 等. 齐墩果酸对小鼠成纤维细胞 L929 的影响 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(2): 281-283.

- [56] 王晓峰, 李继尧, 于吉人. 齐墩果酸对肝 DNA 和蛋白质合成速率的影响 [J]. 贵阳医学院学报, 1999, 24(2): 117-118.
- [57] Liu Y P, Hartley O P, Liu J. Protection against carbon tetrachloride hepatotoxicity by oleanolic acid is not mediated through metallothionein [J]. Toxicol Lett, 1998, 95(2): 77-85.
- [58] Liu J. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid [J]. J Ethnopharmacol, 1995, 49(1): 57-68.
- [59] Jin Y R, Jin J L, Li C H, et al. Ursolic acid enhances mouse liver regeneration after partial hepatectomy [J]. Pharm Biol, 2012, 50(4): 523-528.
- [60] Sohn R H, Lee H Y, Chung H Y, et al. Anti-angiogenesis activity of triterpeneacids [J]. Cancer Lett, 1995, 94(2): 213-217.
- [61] 王杰军, 王 兵, 郭 静, 等. 熊果酸体外抑制血管形成的研究 [J]. 第二军医大学学报, 2000, 21(11): 1071-1073.
- [62] 李 伟, 刘 琼, 何 林, 等. 熊果酸对血管内皮细胞增殖的影响及其机制 [J]. 中国生物制品学杂志, 2011, 24(2): 157-162, 168.
- [63] Pozo M, Castilla V, Gutierrez C, et al. Ursolic acid inhibits neointima formation in the rat carotid artery injury model [J]. Atherosclerosis, 2006, 184(1): 53-62.
- [64] 朱保成, 夏 勇. 熊果酸对球囊损伤大鼠颈总动脉后内膜增生及 PCNA、NF- κ B 表达的影响 [J]. 泰山医学院学报, 2014, 35(4): 261-264.
- [65] 王建梅, 向 敏, 吴萍萍, 等. 熊果酸抑制大鼠血管平滑肌细胞增殖的作用及其机制 [J]. 中国药科大学学报, 2010, 41(1): 66-69.
- [66] Skopinski P, Szaflik J, Dudo-Krol B, et al. Suppression of angiogenic activity of sera from diabetic patients with non-proliferative retinopathy by compounds of herbal origin and sulindacsulfone [J]. Int J Mol Med, 2004, 14(4): 707-711.
- [67] 于爱忠. 熊果酸对糖尿病小鼠视网膜病变的预防作用及其机制探究 [J]. 海南医学院学报, 2016, 22(14): 1479-1481, 1485.
- [68] 贺 玲, 郑晓龙, 张 杰, 等. 熊果酸对氧诱导小鼠视网膜病变的保护作用 [J]. 眼科新进展, 2013, 33(10): 918-921, 926.
- [69] 王 博, 吴 京, 马 明, 等. 熊果酸对大鼠角膜移植排斥反应的抑制作用 [J]. 南方医科大学学报, 2015, 35(4): 530-535.
- [70] 陈锡强, 程丽芳, 徐新刚, 等. 熊果酸对斑马鱼血管生成及斑马鱼移植瘤的抑制作用 [J]. 中国药理学通报, 2015, 31(7): 1004-1008.
- [71] Das B, Yeger H, Tsuchida R, et al. A hypoxia-driven vascular endothelial growth factor/Flt 1 autocrine loop interacts with hypoxia-inducible factor-1 α through mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase1/2 pathway in neuroblastoma [J]. Cancer Res, 2005, 65(16): 7267-7275.
- [72] 赵 请, 魏 盟, 赵炳辉, 等. 熊果酸对兔外周血内皮祖细胞数量和功能的影响 [J]. 世界临床药物, 2006, 27(12): 713-717.
- [73] 柴 进, 向国春, 封欣婵, 等. 齐墩果酸对阻塞性胆汁淤积大鼠胆酸转运蛋白 OST α / β 和 BSEP 的调控作用 [J]. 局解手术学杂志, 2016, 25(1): 1-4.
- [74] Lu Y F, Liu J, Wu K C, et al. Protection against phalloidin-induced liver injury by oleanolic acid involves Nrf2 activation and suppression of Oatp1b2 [J]. Toxicol Lett, 2014, 232(1): 326-332.
- [75] 熊筱娟, 陈蔚云, 崔江龙, 等. 乌苏酸对大鼠胆汁的影响 [J]. 中医药学报, 2003, 31(4): 54-55.
- [76] 熊筱娟, 陈蔚云, 崔江龙, 等. 乌苏酸对动物实验性肝损伤及胆汁的影响 [J]. 中药材, 2003, 26(8): 578-580.
- [77] Hua W J, Hua W X, Nan F Y, et al. The influence of herbal medicine ursolic acid on the uptake of rosuvastatin mediated by OATP1B1*1a and *5 [J]. Eur J Drug Metab Pharmacokinet, 2014, 39(3): 221-230.
- [78] 张明发, 沈雅琴. 甘草酸治疗肝病的临床再评价 [J]. 抗感染药学, 2011, 8(2): 82-87.
- [79] 张明发, 沈雅琴. 甘草及其有效成分抗脂肪肝和抗肥胖的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(4): 439-447.
- [80] Lu Y F, Wan X L, Liu J, et al. Repeated oral administration of oleanolic acid produces cholestatic liver injury in mice [J]. Molecules, 2013, 18(3): 3060-3071.
- [81] 万晓莉, 李 杰, 陆远富, 等. 口服齐墩果酸所致胆汁淤积性肝损伤研究 [J]. 毒理学杂志, 2013, 27(5): 363-366, 369.
- [82] Liu J, Lu Y F, Zhang Y, et al. Oleanolic acid alters bile acid metabolism and produces cholestatic liver injury in mice [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2013, 272(3): 816-824.