

• 综 述 •

基于调控法尼醇 X 受体的中药治疗肝内胆汁瘀积的研究进展

艾 国^{1,2,3}, 颜耀东¹, 黄正明³

1. 空军航空医学研究所附属医院, 北京 100142

2. 中国(河北)博士后成果转化基地, 河北 廊坊 065500

3. 北京卫健基业生物技术研究所, 北京 100039

摘 要: 肝内胆汁瘀积是临床常见病、多发病, 其形成机制十分复杂。熊脱氧胆酸和奥贝胆酸是目前 FDA 批准的仅有的 2 个用于治疗胆汁瘀积的药物。法尼醇 X 受体(FXR)是胆汁酸合成和转运的关键调节因子, 其高表达对于维持胆汁酸的内环境稳态、降低胆汁酸对肝脏的毒性具有重要意义。中药可以通过多靶点、多途径发挥作用, 针对主要发病机制的同时, 兼顾次要发病机制, 相互协同, 在治疗肝内胆汁瘀积方面疗效显著。多种中药及其提取物或有效成分被证明能够通过激活 FXR 靶点而发挥保肝利胆作用, 引起国内外广泛关注。对胆汁酸的体内代谢过程和 FXR 在肝内胆汁瘀积治疗中的作用进行概述, 总结了基于调控 FXR 的中药治疗肝内胆汁瘀积的研究进展, 以期为中药新药的开发提供参考。

关键词: 法尼醇 X 受体; 肝内胆汁瘀积; 中药; 胆汁酸; 中药新药

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)19-4077-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.19.028

Research progress on Chinese materia medica in treatment of intrahepatic cholestasis based on FXR-mediated regulation

AI Guo^{1,2,3}, YAN Yao-dong¹, HUANG Zheng-ming³

1. Hospital of Institute of Aviation Medicine of Air Force, Beijing 100142, China

2. China (Hebei) Postdoctoral Achievements Conversion Base, Langfang 065500, China

3. Beijing Weijian Jiye Institute of Biotechnology, Beijing 100039, China

Abstract: Intrahepatic cholestasis is a common disease and the formation mechanisms of this disease are complex. Until now, only two drugs (ursodeoxycholic acid and obeticholic acid) were approved by FDA for the treatment of cholestasis. Farnesoid X receptor (FXR) in cholestasis is an intriguing approach since this receptor is critically involved in the regulation of bile acid homeostasis. FXR serves as a sensor for bile acid and promotes enterohepatic clearance of bile acid by controlling the expression of genes involved in their transport and metabolism. Chinese materia medica (CMM) gained a significant effect in the treatment of intrahepatic cholestasis through multi-target, multi-channel effects, which aimed at major pathogenesis and secondary pathogenesis. Recently, a variety of CMM have been proved to activate FXR targets for the treatment of cholestasis, which has attracted widespread attention at home and abroad. In this paper, we reviewed the metabolism of bile acid, the potential of pharmacological modulators of FXR as novel therapies for cholestatic disorders, and summarized CMM for the treatment of cholestasis based on FXR targets. This paper may provide some theoretical guidance for the development of new drugs and CMM.

Key words: farnesoid X receptor; intrahepatic cholestasis; Chinese materia medica; bile acid; new Chinese materia medica

肝内胆汁瘀积(intrahepatic cholestasis)是指各种原因包括遗传性、感染性、药物性、酒精性、自身免疫性、妊娠性和手术后等引起的肝细胞和(或)毛细胆管内胆汁形成、分泌和(或)排泄异常, 临

收稿日期: 2017-05-16

基金项目: 中国医药教育协会孙思邈中医药科研专项课题(协科学 2017 第 03 号)

作者简介: 艾 国, 男, 博士后(出站), 研究方向为中药新药和药理。Tel: (010)88422297 E-mail: guoair@163.com

床可表现为瘙痒、疲劳、尿色加深和黄疸等，早期常无症状，仅表现为血清碱性磷酸酶（alkaline phosphatase, ALP）和 γ -谷氨酰转肽酶（gamma-glutamyl transferase, GGT）水平升高，若不及时干预，病情进展后可出现高胆红素血症，损伤肝脏细胞组织，并逐渐演变为肝硬化、肝功能衰竭甚至肝癌^[1-2]。目前，对于胆汁淤积的发病机制研究表明，胆汁生成障碍和胆汁流动障碍是胆汁淤积的重要因素^[3]，这个过程受到一系列核受体、膜受体及其转录因子的调控，与分布在肝细胞膜上的胆汁酸转运蛋白密切相关^[4]。

核受体（nuclear receptors, NRs）是一类配体依赖性转录因子超家族，通过内源性或外源性配体物质激活调控靶基因的转录，在机体生长发育、新陈代谢以及病理生理过程中发挥着重要的作用^[5]。核受体对胆汁酸稳态的调控研究不仅阐明了越来越多的胆汁酸合成、代谢与转运方面的分子调控机制，同时也使得一些核受体成为有应用前景的胆汁淤积治疗药物靶标，其中的代表性核受体就是法尼醇 X 受体（farnesoid X receptor, FXR）。

中药治疗胆汁淤积历史悠久。此病属于中医“黄疸”的范畴，以身黄、目黄、小便黄为主症，尤以目睛黄染为特征。大多医家认为湿、热、瘀、毒为本病的病理因素，其病机演变多由湿热熏蒸，蕴结肝胆，瘀阻血络，脉道不通而致胆汁不循常道；或因热毒入侵，耗伤营血，熏灼肝胆，胆液渗溢于肌肤，发为黄疸^[6]。中药可以通过多靶点、多途径作用，针对主要发病机制的同时，兼顾次要发病机制，相互协同，从而可以在肝内胆汁淤积的治疗方面取得显著疗效。本文对基于调控 FXR 的中药治疗肝内胆汁淤积的研究进展进行综述，以期对中药新药的开发提供参考。

1 胆汁酸的合成、转运和排泄

胆汁酸（bile acids）是胆汁的主要成分，是由胆固醇在肝脏中合成的一大类胆烷酸的总称，常以钠盐或钾盐的形式存在。胆汁酸参与调节体内的多个生物过程，包括刺激肝脏胆汁分泌和促进小肠吸收脂肪及脂溶性维生素，通过激活特异性受体和信号通路调节三酰甘油、胆固醇和葡萄糖的稳态平衡等^[7-8]。胆汁酸的代谢主要包括胆汁酸的生物合成、跨膜转运和肠肝循环。

肝脏是合成胆汁酸的唯一器官，肝细胞以胆固醇为原料，通过复杂而有序的酶促反应，最终合成

胆汁酸。合成途径包括胆固醇 7α -羟化酶（cholesterol 7α -hydroxylase, CYP7A1）介导的经典途径和甾醇 27α 羟化酶（sterol 27α -hydroxylase, CYP27A1）、甾醇 12α 羟化酶（sterol 12α -hydroxylase, CYP7B1）介导的替代途径。经典途径主要合成胆酸（cholic acid, CA）和鹅脱氧胆酸（chenodeoxycholic acid, CDCA）2 种初级胆汁酸（primary bile acids），旁路途径主要合成 CDCA。胆汁酸合成后，需经过胆小管侧胆盐外排泵（bile salt export pump, BSEP）、基底侧多药耐药相关蛋白 2（multidrug resistance-associated protein 2, MRP2）和多药耐药性蛋白 3（multidrug resistance protein 3, MDR3）等泵入胆小管，随胆汁进入小肠^[9-11]。其中 BSEP 主要运输单价胆汁酸，MRP2 主要运输 2 价胆汁酸，MDR3 主要运输胆汁酸与胆固醇的混合微胶粒。在小肠中，甘氨酸（glycine, G）或牛磺酸（taurine, T）结合的 CA（G/T-CA）和 CDCA（G/T-CDCA）被肠道菌群分解，在脱羟基酶的作用下脱掉 1 个 7α -羟基形成二级胆汁酸（secondary bile acids），如脱氧胆酸（deoxycholic acid, DCA）、石胆酸（lithocholic acid, LCA）和酮基石胆酸（ketone lithocholic acid, KLCA）^[12]。脂类和脂溶性维生素在回肠被吸收之后，大部分初级胆汁酸通过小肠刷状缘钠盐依赖的胆汁酸转运蛋白（apical sodium-dependent bile acid transporter, ASBT）从肠腔吸收至肠壁细胞^[13]。在回肠细胞，胆汁酸可能结合于回肠胆汁酸结合蛋白（ileum bile acid binding protein, IBABP），然后从肠细胞底外侧部分通过有机溶质转运蛋白 α/β （organic solute transporter alpha and beta, OST α/β ）排泄入门静脉。在肝脏，肝细胞通过基底侧膜上的钠离子/牛磺胆酸共转运体（Na⁺-taurocholate co-transporter, NTCP）以钠依赖性方式或有机阴离子转运蛋白（organic anion transporting protein, OATP）介导的非钠依赖性方式重新摄取肝血窦血浆中的胆汁酸，完成胆汁酸的肠肝循环^[14]。肠肝循环中胆汁酸有 95% 被重吸收，5% 随粪便排出丢失，丢失的胆汁酸再通过胆汁酸的合成得到补充。除了初级胆汁酸和次级胆汁酸外，三级胆汁酸（tertiary bile acids）包括磺基石胆酸（sulfonated lithocholic acid, SLCA）和熊脱氧胆酸（ursodeoxycholic acid, UDCA），是次级胆汁酸经过重新吸收后在肝脏及肠道的代谢产物。胆汁酸的代谢示意图见图 1。

正常的胆汁流动取决于胆汁生成、分泌及排泄

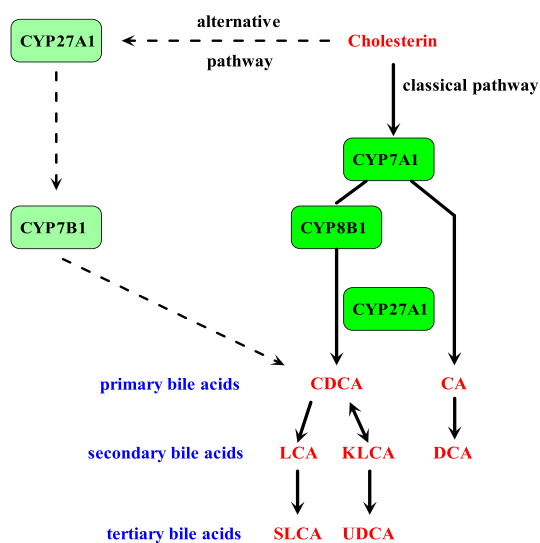


图 1 胆汁酸代谢示意图

Fig. 1 Schematic diagram of bile acids metabolism

等过程中的所有结构、形态和功能的完整性,当这种完整性受到影响,即损害了其中的任何一个环节时都可能引起一系列继发反应导致胆汁生成和排泄的障碍,从而出现胆汁瘀积。

2 FXR 在肝内胆汁瘀积治疗中的作用

FXR 具有典型的核受体结构,由于能被超生理浓度的法尼醇激活,故以其命名。FXR 广泛分布在肝、肾、小肠等富含胆汁酸的器官中,在心脏、脂

肪组织、血管以及胰岛 β 细胞中也发现了 FXR 的存在。FXR 具有典型的核受体结构,包括氨基末端高度保守的结合区 (DBD)、羧基末端配体结合区 (LBD)、氨基末端的配体非依赖性转录激活功能区 (AF-1) 和羧基端 1 个配体依赖性激活功能区 (AF-2) 等。利用不同的启动子和 mRNA 选择性剪切,FXR 编码产生 4 个 FXR α 亚型,即 FXR α 1、FXR α 2、FXR α 3 和 FXR α 4^[15]。FXR 和配体结合后可以被激活或抑制,从而促进下游基因的高表达或抑制下游基因的表达。到目前为止,研究表明 FXR 是一个多功能的核受体,其在维持胆汁酸代谢^[16]、脂质和糖稳态^[17]上扮演了重要的角色。此外,FXR 的一些新功能也被不断发现,包括肠道屏障保护作用、对先天性免疫的调节,以及在肿瘤发生中的调节作用等^[18]。

FXR 作为胆汁酸感受器,CDCA、LCA、DCA 和 CA 都是 FXR 有效的内源性配体,其中以 CDCA 的激活作用最为明显。FXR 通过调控一系列基因的表达,减少胆汁成分的摄入,减少肝脏中胆汁酸的合成,增加其亲水性代谢及转运外排,对胆汁酸的代谢进行调控,在维持胆汁酸稳态方面具有举足轻重的作用^[19]。如图 2 所示,在胆汁酸的摄入、合成、外排、代谢与转运过程中,FXR 具有多方面的作用。

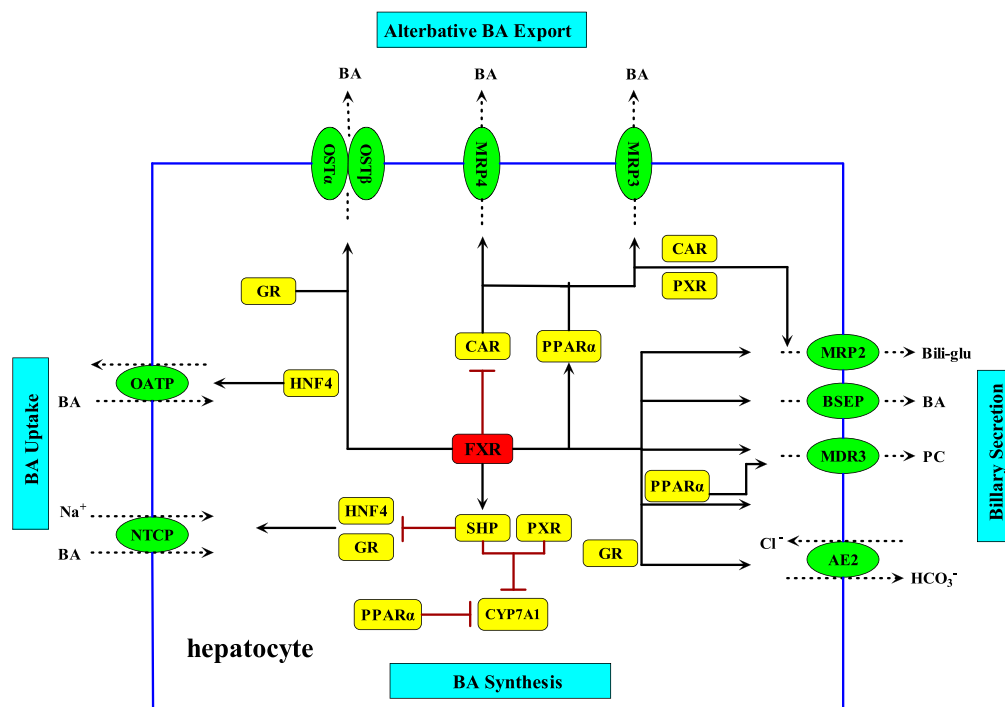


图 2 FXR 对胆汁酸合成、转运和代谢的调节作用^[8]

Fig. 2 FXR regulating bile acid synthesis, transport, and metabolism^[8]

大量胆固醇转化为胆汁酸后, 激活 FXR, 继而诱导小异源二聚体伴侣 (small heterodimer partner, SHP) 的表达, 负反馈调节胆汁酸合成限速酶 CYP7A1 的活性, 抑制胆汁酸的进一步合成^[20]。除 SHP 途径外, 近年研究还发现 FXR 激活后可诱导人成纤维细胞生长因子 19 (fibroblast growth factor, FGF19) 的表达, FGF19 可激活肝 FGF 受体 4 (FGFR4), 启动 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 和细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 信号通路, 导致 CYP7A1 基因表达下调, 从而抑制胆汁酸的合成^[21]。

激活 FXR, 能够上调 BSEP 和 MRP2 表达, 下调 NTCP 表达, 促进胆汁酸的外排, 抑制胆汁酸的重吸收^[22-23]。FXR 还能通过上调 MDR3 的表达来增加胆小管侧的磷脂 (phosphatidylcholine, PC) 外排^[24], 促进 IBABP 的表达, 影响胆汁酸在肠上皮细胞的转运^[25], 抑制肝细胞核因子 4 (hepatocyte nuclear factor 4, HNF4), 减少 OATP 家族的表达, 从而抑制胆汁酸的吸收^[26]。FXR 可以上调原发性胆汁性肝硬化患者和胆管结扎大鼠和小鼠 OST α/β 的表达, 此种作用可能是肝细胞胆汁淤积时胆汁酸排出的一种代偿性反应^[27]。胆汁酸具有潜在的毒性, 解毒过程包括胆汁酸的氧化、硫酸盐化和糖苷化, 其中关键酶如细胞色素 P450 3A4 (cytochrome P450 3A4, CYP3A4)、磺基转移酶 2A1 (sulfotransferase 2A1, SULT2A1) 和葡萄糖醛酸转移酶 2B4 (UDP-glucuronyl transferases, UGT2B4) 等都是 FXR 的靶基因, 可以促进硫酸盐化和糖苷化的胆汁酸分泌进入胆汁^[28]。

激活的 FXR 也可激活另一核受体, 孕烷 X 受体 (pregnane X receptor, PXR) 的基因转录, PXR 能诱导增强胆汁酸降解的基因, 以保护肝脏免受高水平胆汁酸的损伤, 同时 FXR 又能抑制组成型雄烷受体 (constitutive androstane receptor, CAR) 的表达, 降低血浆中胆汁酸的量^[29]。FXR 被激活后, 可以激活糖皮质激素受体 (glucocorticoid receptor, GR), GR 能够进一步调控人胆汁酸转运体, 如 NTCP、OST α/β 的表达; GR 被激活后, 还能调控其他核受体的功能, 如能上调 PXR mRNA 以及蛋白的表达; GR 在调控转运体中的另一个重要效应是激活阴离子交换蛋白 (anion exchanger 2, AE2) 的表达, 从而增加胆管上皮细胞碳酸氢盐 (HCO_3^-) 的分泌^[30]。

炎症反应会抑制多种参与维持胆汁酸相关转运体基因表达的核转录调节因子的表达和活性, FXR 能够诱导过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ) 的表达, 抑制肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 的活化^[31-32], 抑制白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、诱导型一氧化氮合成酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、核转录因子- κB (nuclear factor- κB , NF- κB)、环氧化酶 2 (cyclooxygenase 2, COX-2) 等多种炎症因子的表达^[33], 减轻炎症反应, 改善和恢复相关转运体的活性。肝纤维化是多种慢性肝病的共同病理过程, 是肝脏损伤后自我修复的代偿性反应, 多种致病因素如肝内胆汁淤积等均可导致肝纤维化的发生。体内研究发现, 激活 FXR 能明显降低肝纤维化标志基因 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA)、转化生长因子 β 1 (transforming growth factor β 1, TGF- β 1) 的表达, 同时减轻胆管结扎致大鼠肝纤维化的程度^[34-35]。

综上所述, FXR 的主要靶基因包括 CYP3A4、SHP、NTCP、BSEP、MRP2、MDR3、ASBT、IBABP、SULT2A1、UGT2B4、UGT2B7、OATP1B3、OST α/β 等。通过调控上述关键酶和靶基因的表达, FXR 参与胆汁酸的摄入、合成、外排、代谢与转运调节, 是胆汁酸合成和转运的关键调节因子, 其高表达对于维持胆汁酸的内环境稳态、降低胆汁酸对肝脏的毒性具有重要意义。因此, FXR 很有希望成为治疗肝内胆汁淤积性疾病的药物靶点^[36]。

3 基于 FXR 的中药影响肝内胆汁淤积的研究

3.1 基于 FXR 的中药治疗肝内胆汁淤积的研究

由于肝内胆汁淤积发病机制复杂, 相关治疗药物的研究非常缓慢, UDCA 和 Ocaliva (obeticholic acid, 奥贝胆酸) 是目前 FDA 批准的仅有的 2 个用于治疗胆汁淤积的药物。UDCA 是 FXR 的配体, 可下调 CYP7A1 的表达从而抑制胆酸内源性合成, 上调 BSEP 和 MRP 的表达, 减轻肝内胆酸负担, 同时还兼具抗凋亡和抗纤维化的作用^[37]。但由于 UDCA 与 FXR 的亲和力较低, 在临床上有 30%~50% 的胆汁淤积患者对 UDCA 治疗无应答反应。时隔近 20 年后, FDA 于 2016 年 5 月 27 日批准了美国 Intercept 药业公司的 Ocaliva 用于治疗成人原发性胆汁性胆管炎 (primary biliary cholangitis, PBC)。Ocaliva 可与 UDCA 联合用药, 适用于对 UDCA 反

应不足的患者,如果患者对 UDCA 不耐受,也可以单独用药。II、III 期临床试验的结果表明,作为新型 FXR 激动剂, Ocaliva 通过激动 FXR, 调节相关基因, 影响胆汁酸的合成、分泌、转运和吸收, 对 UDCA 不能完全耐受的患者, 通过服用 Ocaliva 能够明显改善 ALP 和血清胆红素的水平, Ocaliva 可能会成为未来治疗 PBC 和非酒精性脂肪肝的首选药物^[38-39]。

我国是中药资源大国, 随着中医药越来越被世人所认可, 国内外科学工作者对中药的研究亦显示了浓厚的兴趣。针对 FXR 这一治疗肝内胆汁瘀积性疾病最有前景的药物靶点, 众多研究者采用 α -萘异硫氰酸酯 (alpha-naphthylisothiocyanate, ANIT) 诱发或胆管结扎 (bile-duct ligation, BDL) 造成胆汁瘀积性肝损伤动物模型, 利用现代分子生物学手段, 研究用于肝内胆汁瘀积治疗的中药及其提取物或有效成分, 阐明其作用机制和靶点, 为中药治疗肝内胆汁瘀积提供科学依据, 也为中药新药的研发提供新的思路和契机。

茵栀黄注射液和茵栀黄口服液源于汉代张仲景所著《伤寒论》中的茵陈蒿汤, 由茵陈、栀子、金银花、黄芩 4 味中药组成, 具有清热、解毒、利湿、退黄疸和降低转氨酶的作用, 临床上广泛用于治疗胆汁瘀积^[40-41]。吴海滨等^[42-44]根据肝内胆汁瘀积湿热证的中西医理论, 在长夏湿热季节将大鼠置放于湿热造模箱内, 喂饲葡萄糖和猪油脂混合液, 之后一次性 ig ANIT 造成急性药物性肝内胆汁瘀积动物模型。通过研究茵栀黄注射液对肝内胆汁瘀积湿热证大鼠血清生化指标、肝脏组织病理的变化, 以及对 FXR、BSEP、NTCP 基因和蛋白表达的影响, 明确了茵栀黄注射液通过干预 FXR, 上调 BSEP 的表达来治疗肝内胆汁瘀积。张双金等^[45-47]也研究发现茵栀黄水提物对 ANIT 或雌激素诱导的胆汁瘀积小鼠具有治疗作用, 可能与其增加肝转运体 NTCP、BSEP、MRP2、MRP4 表达以及肾转运体 OATP2 和 OATP3 的表达有关。此外, 谭桢等^[48]研究了茵栀黄中的主要成分绿原酸 (chlorogenic acid)、栀子苷 (geniposide)、黄芩苷 (baicalin) 和滨蒿内酯 (wogonoside) 等对 ANIT 诱导的胆汁瘀积大鼠模型的治疗作用以及对胆汁酸代谢相关转运体 CYP7A1、CYP8B1、CYP27A1、MRP2、MRP3、MRP4、BSEP、OATP1 和 OATP2 表达的影响, 发现茵栀黄中的绿原酸和栀子苷能有效改善胆汁瘀

积、肝功能及肝脏病理性损伤, 并逆转 ANIT 引起的胆汁酸代谢相关基因 mRNA 的变化, 从而起到肝保护作用。

溪黄草 *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara 为唇形科香茶菜属植物。现代研究显示, 溪黄草具有保肝、利胆、增强免疫、抗炎等功效, 我国岭南地区的居民有将溪黄草制作为茶饮治疗肝胆湿热的传统^[49]。闵剑斌等^[50-51]通过研究发现溪黄草水提液及其主要活性成分迷迭香酸 (rosmarinic acid, RosA) 能较明显地改善 ANIT 诱发的胆汁瘀积性肝损伤大鼠血清中肝功能生化指标 [丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、总胆固醇 (TC)、直接胆红素 (DBIL)、总胆红素 (TBIL)、总胆汁酸 (TBA)], 改善肝组织中抗氧化酶指标 [丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)], 改善胆汁中成分 (TBIL、TBA) 的量、胆汁的分泌, 同时抑制肝细胞炎症状态, 保护肝细胞结构 (如线粒体等重要细胞器), 而且这种保肝利胆的作用机制可能是通过上调核受体 FXR 的基因转录和蛋白表达, 然后进一步上调 BSEP 和 MRP2 的基因转录和蛋白表达而发挥保肝利胆、抗胆汁瘀积的作用。

蒲公英 *Taraxaci Hebra* 为菊科植物蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand. -Mazz.、碱地蒲公英 *Taraxacum borealisinense* Kitam. 或同属数种植物的干燥全草。蒲公英富含黄酮类、多糖类、有机酸类等生理活性成分, 有利尿、缓泻、退黄疸、利胆等功效^[52]。吕渭升^[53]研究了蒲公英醋酸乙酯提取物 (TEE) 及其活性成分咖啡酸 (caffeic acid) 通过 FXR 及其靶基因 CYP7A1、BSEP 对 ANIT 诱导的急性肝内胆汁瘀积模型大鼠的护肝利胆作用及其机制。TEE 和咖啡酸能不同程度地缓解 ANIT 导致的胆汁异常蓄积和返流入血的病变, 从而减少黄疸, 改善肝功能; 刺激 FXR 表达的上调, 反馈性抑制胆汁酸合成酶 CYP7A1 的表达, 减少胆汁酸的合成; 激活肝细胞膜上 BSEP 的转录, 加速胆汁酸从肝细胞向胆管的外排转运, 从而表现出保肝利胆、抗胆汁郁积的作用。

龙胆 *Gentianae Radix et Rhizoma* 为龙胆科植物条叶龙胆 *Gentiana manshurica* Kitag.、龙胆 *Gentiana scabra* Bge.、三花龙胆 *Gentiana triflora* Pall. 或坚龙胆 *Gewhawa rigescens* Franch. 的干燥根和根茎。在各种关于龙胆的研究中发现, 龙胆具有多种药理作用, 如

保肝、利胆、抗炎、抗病毒等,临床应用价值颇高^[54]。徐美丽^[55]从胆汁酸自身反馈调节角度探讨龙胆水提物通过 FXR 及其靶基因 SHP、NTCP、MRP2、BSEP 和 CYP7A1 对 ANIT 诱导的急性肝内胆汁瘀积模型大鼠护肝利胆的作用,证实了 FXR 调控胆汁酸的合成和代谢是其利胆护肝的作用机制之一。

大黄 *Rhei Radix et Rhizoma* 是我国最为常用的中药材之一,中药制剂中含有大黄的有 800 多种。《中国药典》2015 年版规定的大黄是以掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *R. tanguticum* Maxim. ex Balf. 或药用大黄 *R. officinale* Baill. 的干燥根及根茎入药。大黄具有治疗胆汁瘀积的作用,在临床上有着广泛的应用^[56]。张国强^[57]采用 sc 炔雌醇 (ethinylestradiol, EE) 建立大鼠肝内胆汁瘀积模型,发现大黄能明显缓解 EE 诱导的大鼠胆汁瘀积,且能下调肝细胞核受体 CAR 的表达,但对 FXR 的表达无影响。大黄素 (emodin) 是从大黄中提取的一种蒽醌类衍生物,是大黄的主要有效单体,具有广泛的药理学作用,如抗炎、抗病毒、抑菌、免疫调节和肝保护等^[58]。周方等^[59-60]采用 RT-PCR 检测 BSEP、MRP2、MRP3、NTCP、MDR2、MDR1a、MDR1b 和 FXR mRNA 的水平,Western blotting 法检测肝脏 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 的变化。发现大黄素能上调肝脏中与胆汁酸代谢相关的转运蛋白 MRP3 和 P-gp 的表达以减少胆汁酸及其他有毒化合物在肝脏中的蓄积,这可能为其退黄、恢复肝脏功能的作用机制之一。丁艳等^[61]在研究中也发现大黄素可显著降低 ANIT 诱导的瘀胆型肝炎大鼠血清中 TB、DB、ALT、TBA 水平,其作用机制可能与促进 FXR 表达有关。此外,尚振中^[62]采用人正常肝细胞株 LO2 对大黄素的 FXR-BSEP 通路干预机制进行了研究。

赤芍 *Paeoniae Rubra Radix* 为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 或川赤芍 *Paeonia veitchii* Lynch 的干燥根。药理及临床研究结果显示,赤芍具有保肝、抗凝血、抗血栓、抗炎及多途径抑制自身免疫反应等多种药理作用,在临床上用于治疗胆汁瘀积型肝炎尤其是重度黄疸的疗效显著^[63]。方晶^[64]研究了不同剂量赤芍对 ANIT 诱导的肝内胆汁瘀积大鼠模型肝细胞膜蛋白 NTCP、BSEP 的影响,Zhao 等^[65-66]的研究也证实对胆汁酸转运体的干预是赤芍发挥保肝利胆作用的可能机制。周厚琴等^[67]采用 Autodock 软件模拟预测赤芍中 4 种主要成分芍

药苷 (paeoniflorin)、芍药内酯苷 (albiflorin)、芍药花苷 (paeonin)、丹皮酚 (paeonol) 与 FXR 的相互作用,提示赤芍治疗胆汁瘀积型肝炎的作用机制可能为其主要成分与 FXR 受体蛋白具有较强结合作用,引起 FXR 调节其相应靶基因的表达,从而调控胆汁酸的合成和代谢,以达到保肝利胆的作用。

泽泻 *Alismatis Rhizoma* 为泽泻科植物泽泻 *Alisma orientate* (Sam.) Juzep. 的干燥块茎,是传统中药之一。近年研究表明,泽泻除具有明显的利尿作用外,还具有抗血栓形成、调血脂、抑制动脉粥样硬化斑块形成、保肝、抗炎、免疫调节等多种作用^[68],诸多著名中药复方制剂如龙胆泻肝丸、泽泻汤、六味地黄丸、猪苓汤等都含有泽泻。泽泻醇 B 23-乙酸酯 (alisol B 23-acetate, AB23A) 是一种存在于泽泻根茎中的天然三萜类化合物,已报道其具有抗肝炎、抗菌及肝保护等作用。孟强等^[69-70]以小鼠部分肝切除模型为基础,考察了 AB23A 的促肝再生作用;采用 ANIT 和 EE 所致胆汁瘀积模型,研究了 AB23A 抗胆汁瘀积和肝保护的作用机制;以 CCl₄ 诱导的急性肝损伤模型探讨了 AB23A 的肝修复作用机制。结果表明,AB23A 通过激活 FXR 信号通路,促进了正常肝细胞增殖、调控了胆汁酸体内平衡,从而发挥促肝再生、抗胆汁瘀积和肝保护作用。

川西獐牙菜 *Swertia mussotii* Franch. 是生长于高原地区的珍贵中药,系龙胆科獐牙菜属植物,具有清肝利胆、祛热退黄之功效,是我国治疗各种肝病的传统药材。藏医里常常以其单方治疗肝脏和胆囊疾病,临床上多用于治疗急、慢性黄疸性肝炎^[71]。刘畅^[72]通过川西獐牙菜醇提取物体外刺激 HepG2 细胞,观测其对 MRP3 和 BSEP 的影响,发现川西獐牙菜醇提取物可刺激 HepG2 细胞膜转运蛋白 MRP3 在 mRNA 和蛋白水平的表达,且其表达水平升高可能与核转录因子 SP1 及核受体 PXR、CAR 表达上调密切相关。高宇等^[73]发现川西獐牙菜醇提取物能明显减轻内毒素 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的大鼠胆汁瘀积性肝损伤,这种保护作用可能与上调肝细胞胆酸转运蛋白 BSEP 的表达有关,而且 BSEP 表达的上调可能是通过转录后水平调节的。杜晓煌^[74]分别在 mRNA 和蛋白水平检测肝细胞胆酸转运蛋白 MRP3、MRP4、MRP2、MDR1、MDR2、OST α 、OST β ,核转录因子 NRF2、LRH1 及核受体 RXR α 、RAR α 、VDR、PXR、CAR 等的表达变化,研究发现川西獐牙菜醇提取物对 BDL

大鼠胆汁瘀积模型保护作用的分子机制可能是通过核转录因子 NRF2 调节 MRP4 的表达上调,从而发挥减轻胆汁瘀积大鼠肝脏损伤的作用。

3.2 基于 FXR 的中药肝毒性研究

安全、有效和质量可控是药物的三大基本要求,中药也不例外,如何科学合理地评价中药尤其是复方中药的安全性,已成为中药研发的一个关键问题^[75]。肝脏在药物代谢中发挥着重要的作用,容易受到药物的损伤,因此中药潜在肝毒性及其毒性成分研究已经成为中药安全性研究的基本领域之一。目前,肝细胞系、亚细胞、三维培养、模式动物等体内外模型在中药肝毒性的筛选中发挥着重要作用。随着现代系统观和整体论的引入,基因组学、蛋白质组学、代谢组学以及网络毒理学等新方法也开始逐步应用于中药肝毒性标志物挖掘和肝毒性预警等方面^[76]。FXR 不但是中药治疗肝内胆汁瘀积的重要研究方向,对其的抑制也可能是中药肝毒性的潜在原因。

乳香 *Olibanum* 和没药 *Myrrha* 作为中药能够发挥诸多功效,具有活血止痛及消肿生肌的作用,临床经常将 2 种药物作为对药联合使用,能够有效增强临床治疗效果。但是药物使用后,患者临床通常会表现出一系列的不良反应,这与药物自身的毒性作用密切相关^[77]。朱桃桃等^[78]连续 ig 给予 Wistar 大鼠乳香、没药及乳香-没药 2 周,末次给药后收集胆汁,HPLC 检测胆汁中 TBA 和 GSH 的量,Western blotting 法检测 FXR 和 BSEP 的蛋白表达。研究发现给药后,虽然大鼠的胆汁流量增加,但排入胆管的 TBA 量减少,且乳香对胆汁流量及 TBA 分泌量的影响强于没药。胆汁分泌的 TBA 量减少会导致 TBA 在肝细胞内过度蓄积,可能是乳香、没药引起肝损伤的原因之一。

何首乌 *Polygoni Multiflori Radix* 为蓼科植物何首乌 *Polygonum multijiorum* Thunb. 的干燥块根。现代研究表明何首乌具有延缓衰老、调节血脂、抗动脉粥样硬化、提高记忆等作用,因此何首乌在中药处方、已上市中成药及保健产品中应用广泛^[79]。但近年来国内外陆续出现因服用何首乌或含何首乌制剂引起肝损伤的病例报道,且以急性肝细胞损伤型为主^[80]。王涛等^[81]发现何首乌水提物可明显损伤大鼠胆管上皮细胞和干扰肝细胞功能,明显改变大鼠胆汁成分,在不诱发严重肝脏损伤前提下即可引起大鼠胆汁瘀积相关指标的改变。检测肝脏 MRP3、

MRP2、BSEP、FXR、CYP7A1 等分子的 mRNA 和蛋白表达水平,何首乌水提物使 FXR 表达下降,MRP3 表达上调,大鼠具有胆汁瘀积特征。

补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 是一种重要的药用植物,具有抗菌、抗肿瘤、抗氧化、抗炎和免疫调节等活性,其植物体内含有多种化学成分,包括补骨脂素 (psoralen)、异补骨脂素 (isopsoralen)、补骨脂酚 (bakuchiol) 等^[82]。近年来补骨脂的肝毒性开始受到重视,相继有补骨脂肝毒性的临床和实验研究报道^[83-88]。研究发现补骨脂水提物可显著降低小鼠肝脏中 BSEP 蛋白水平,降低了胆汁酸排出肝细胞的能力,引起肝细胞中胆汁酸浓度的升高,导致肝细胞损伤^[83-84]。周昆等^[85]观察了异补骨脂素体外对 HepG2 的细胞毒性和细胞内胆汁酸浓度的影响,并考察其对胆汁酸合成转运的影响,包括肝细胞中转运体 BSEP、MRP2、MRP3、OATP2、NTCP、OST α , 合成酶 CYP7A1、CYP27A1 和受体 FXR、PXR 的 mRNA 转录水平。发现异补骨脂素可引起 HepG2 细胞内胆汁酸升高和细胞毒性,其机制可能与抑制 MRP2 和 MRP3 有关。其他类似研究也表明,补骨脂素^[86]、补骨脂酚^[87-88]的肝细胞毒性可能也与其影响胆汁酸转运体有关。

4 基于 FXR 对胆汁酸转运体/合成酶的调控探讨黄蜀葵花总黄酮改善肝内胆汁瘀积的分子机制实例研究

黄蜀葵花 *Abelmoschi Corolla* 为锦葵科植物黄蜀葵 *Abelmoschus manihot* (L.) Medic 的干燥花冠。现代研究表明,黄蜀葵花具有显著的药理活性,如抗炎、抗氧化、抗凝血、抗病毒、抗心肌缺血和保护缺血性脑损伤等^[89]。化学成分研究发现,黄蜀葵花中主要含有黄酮类、还原糖类、鞣酸类和长链烃类等成分,其中黄酮类化合物 (黄蜀葵花总黄酮, total flavone of *Abelmoschus manihot*, TFA) 是黄蜀葵花的主要成分,也是其主要的活性物质。目前对黄蜀葵花的化学成分和药理学研究也主要集中于 TFA 及其单体^[90-94]。本课题组通过前期的研究,获得了成熟的 TFA 提取工艺,并进一步分离、纯化和鉴定了 TFA 中多种黄酮类单体化合物。在此基础上,利用 CCl₄ 诱导培养肝细胞损伤和大鼠肝损伤 2 种模型观察 TFA 的保肝作用,结果表明 TFA 能通过抗氧化应激与抗炎作用保护 CCl₄ 诱导的肝 (细胞) 损伤^[95]。同时,在 TFA 对 ANIT 诱导的肝内胆汁瘀积大鼠保护作用的研究中,也发现 TFA 能够减轻 ANIT 导致的

胆管损伤、胆汁淤积和肝细胞受损, TFA 各剂量组大鼠的胆汁平均流量均有所增加, 血清生化学指标有所改善, 并呈剂量依赖性, 而且 TFA 的保肝利胆作用与其对 BSEP、MRP2 和 NTCP 的调控有关^[96-97]。为了进一步探讨 TFA 对 ANIT 诱导的肝内胆汁淤积大鼠的保护作用, 本课题组将继续研究 TFA 对胆汁酸合成酶 CYP7A1、CYP8b1 及 2 种胆汁酸结合酶——胆汁酸-Co A 连接酶 (bile acid-Co A ligase, BAL) 和胆汁酸-Co A: 氨基酸 *N*-乙酰转移酶 (bile acid-Co A: amino acid *N*-acetyltransferase, BAAT) 的影响, 揭示 TFA 对胆汁酸合成及结合的作用机制;

测定肝脏中, 介导胆汁酸解毒的关键酶 CYP3A4、SULT2A1 和 UGT2B4 的表达, 揭示 TFA 对胆汁酸代谢的作用机制。为了验证 TFA 是通过激活 FXR 进而调控参与胆汁酸体内平衡的基因表达这一推测, 计划采用 FXR 拮抗剂木苦甾酮 (guggulsterone, GS) 阻断 FXR 信号通路, 评价 TFA 降低肝内胆汁酸及肝保护作用是否与激活 FXR 有关。基于 FXR 对胆汁酸转运体/合成酶的调控探讨 TFA 改善肝内胆汁淤积的分子机制研究方案见图 3。通过研究, 科学阐明 TFA 治疗肝内胆汁淤积的分子机制和作用靶点, 为进一步研究和开发 TFA 提供理论基础。

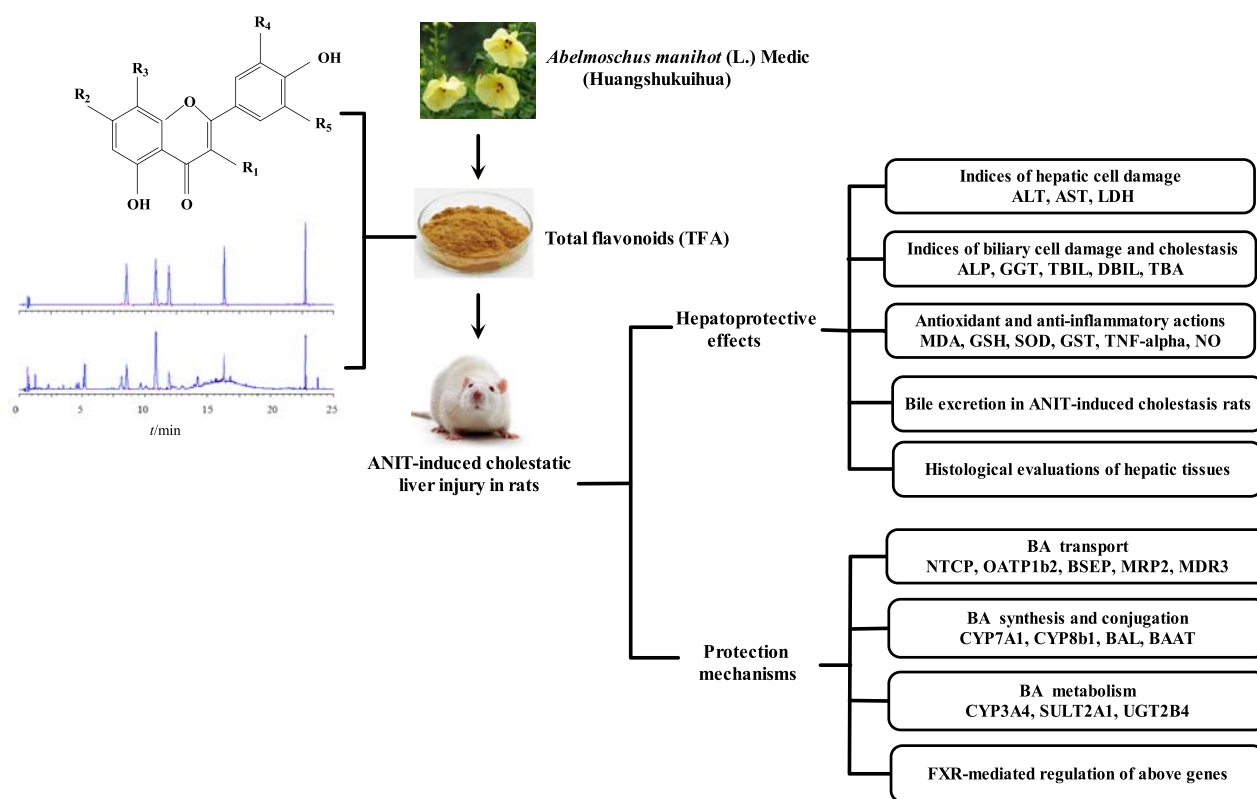


图3 黄蜀葵花总黄酮改善肝内胆汁淤积的分子机制研究

Fig. 3 Hepatoprotective effects and protection mechanisms of TFA against ANIT-induced liver injury and cholestasis in rats

5 结语

肝内胆汁淤积发生、发展是一个较为复杂的过程, 目前尚不能完全明确其发病机制。FXR 是胆汁酸合成和转运的关键调节因子, 以 FXR 为靶点治疗胆汁淤积性疾病具有广阔的研究前景和重要的临床价值。中药的有效成分复杂, 具有多靶点、多层次、多环节综合作用的药效特点, 在针对主要发病机制的同时, 可以兼顾次要发病机制, 多途径协同作用, 这可能是中医药治疗肝内胆汁淤积疗效的原因所

在。已有研究发现 FXR 是多种中药及其提取物或有效成分治疗肝内胆汁淤积的作用机制和靶点, 为中药治疗此病提供了科学依据, 也为中药新药的开发提供了参考。

参考文献

- [1] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会消化病学分会, 中华医学会感染病学分会. 胆汁淤积性肝病诊断和治疗共识 (2015) [J]. 实用肝脏病杂志, 2016, 19(6): 771-781.

- [2] Pollheimer M J, Fickert P, Stieger B. Chronic cholestatic liver diseases: Clues from histopathology for pathogenesis [J]. *Mol Aspects Med*, 2014, 37: 35-56.
- [3] 韩 平, 田德安. 肝内胆汁瘀积发病机制及药物治疗新进展 [J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2016, 25(5): 584-588.
- [4] 孙 梅, 王 洋. 胆汁酸代谢障碍及其相关胆汁瘀积性肝病 [J]. 中国实用儿科杂志, 2013, 28(4): 246-250.
- [5] 马彦荣, 张国强, 武新安. 核受体 PXR、CAR、LXR 和 FXR 作为代谢性疾病治疗靶点的研究进展 [J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(7): 659-663.
- [6] 方 晶, 薛博瑜. 中医药治疗肝内胆汁瘀积的机制研究进展 [J]. 环球中医药, 2014, 7(3): 233-237.
- [7] 李开济, 田增有, 门秀丽, 等. 胆汁酸代谢与调节中的选择性剪接 [J]. 生理科学进展, 2015, 46(3): 203-208.
- [8] Liu J, Lu H, Lu Y, *et al.* Potency of individual bile acids to regulate bile acid synthesis and transport genes in primary human hepatocyte cultures [J]. *Toxicol Sci*, 2014, 141(2): 538-546.
- [9] Dawson P A, Lan T, Rao A. Bile acid transporters [J]. *J Lipid Res*, 2009, 50(12): 2340-2357.
- [10] Halilbasic E, Claudel T, Trauner M. Bile acid transporters and regulatory nuclear receptors in the liver and beyond [J]. *J Hepatol*, 2013, 58(1): 155-168.
- [11] Jones H, Alpini G, Francis H. Bile acid signaling and biliary functions [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2015, 5(2): 123-128.
- [12] Chiang J Y. Regulation of bile acid synthesis: Pathways, nuclear receptors, and mechanisms [J]. *J Hepatol*, 2004, 40(3): 539-551.
- [13] Mosińska P, Fichna J, Storr M. Inhibition of ileal bile acid transporter: An emerging therapeutic strategy for chronic idiopathic constipation [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(24): 7436-7442.
- [14] Kusters A, Karpen S J. Bile acid transporter in health and disease [J]. *Xenobiotica*, 2008, 38(7/8): 1043-1071.
- [15] Lee F Y, Lee H, Hubbert M L, *et al.* FXR, a multipurpose nuclear receptor [J]. *Trends Biochem Sci*, 2006, 31(10): 572-580.
- [16] 许文萱, 张自力, 赵士峰, 等. 法尼酯衍生物 X 受体在慢性肝病中的作用及机制研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(3): 314-319.
- [17] 姜 茜, 彭 军, 刘率男, 等. 法尼醇 X 受体与糖脂代谢 [J]. 药学报, 2015, 50(3): 245-251.
- [18] 赵 丛, 丛玉玲, 徐祎骏, 等. 法尼酯 X 受体对于肿瘤研究和治疗的作用 [J]. 生理科学进展, 2012, 43(4): 303-306.
- [19] 韩 俊, 彭惠萍, 李辽闽. 法尼酯衍生物 X 受体调节代谢作用研究进展 [J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(13): 1127-1129.
- [20] Bechmann L P, Kocabayoglu P, Sowa J P, *et al.* Free fatty acids repress small heterodimer partner (SHP) activation and adiponectin counteracts bile acid-induced liver injury in superobese patients with nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Hepatology*, 2013, 57(4): 1394-1406.
- [21] Kong B, Wang L, Chiang J Y, *et al.* Mechanism of tissue-specific farnesoid X receptor in suppressing the expression of genes in bile acid synthesis in mice [J]. *Hepatology*, 2012, 56(3): 1034-1043.
- [22] Yan J Y, Ai G, Zhang X J, *et al.* Investigations of the total flavonoids extracted from flowers of *Abelmoschus manihot* (L.) Medic against α -naphthylisothiocyanate-induced cholestatic liver injury in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 172: 202-213.
- [23] Liu D, Wu T, Zhang C L, *et al.* Beneficial effect of *Calculus bovis sativus* on 17 α -ethynylestradiol-induced cholestasis in the rat [J]. *Life Sci*, 2014, 113(1/2): 22-30.
- [24] 唐 清, 王琳琳, 单庆文, 等. 熊去氧胆酸对婴儿胆汁瘀积性肝炎多药耐药蛋白 3 及法尼醇受体基因表达的影响和意义 [J]. 中国当代儿科杂志, 2013, 15(9): 756-758.
- [25] De Gottardi A, Touri F, Maurer C A, *et al.* The bile acid nuclear receptor FXR and the bile acid binding protein IBABP are differently expressed in colon cancer [J]. *Dig Dis Sci*, 2004, 49(6): 982-989.
- [26] Kazgan N, Metukuri M R, Purushotham A, *et al.* Intestine-specific deletion of SIRT1 in mice HNF-1 α -FXR signaling and alters systemic bile acid homeostasis [J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(4): 1006-1016.
- [27] Guo H L, Hassan H M, Zhang Y, *et al.* Pyrazinamide induced rat cholestatic liver injury through inhibition of FXR regulatory effect on bile acid synthesis and transport [J]. *Toxicol Sci*, 2016, 152(2): 417-428.
- [28] Barrett K G, Fang H, Cukovic D, *et al.* Upregulation of UGT2B4 expression by 3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate synthase knockdown: Implications for coordinated control of bile acid conjugation [J]. *Drug Metab Dispos*, 2015, 43(7): 1061-1070.
- [29] Prakash C, Zuniga B, Song C S, *et al.* Nuclear receptors in drug metabolism, drug response and drug interactions [J]. *Nucl Receptor Res*, 2015, 2015: 101178.
- [30] Khan A A, Chow E C, Porte R J, *et al.* Expression and regulation of the bile acid transporter, OST α -OST β

- in rat and human intestine and liver [J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2009, 30(5): 241-258.
- [31] 平 键, 陈红云, 周 扬, 等. 毛蕊异黄酮上调过氧化物酶体增殖因子活化受体 γ 抑制大鼠肝星状细胞活化的研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(12): 2383-2388.
- [32] Renga B, Mencarelli A, Migliorati M, *et al.* SHP-dependent and-independent induction of peroxisome proliferator-activated receptor- γ by the bile acid sensor farnesoid X receptor counter-regulates the pro-inflammatory phenotype of liver myofibroblasts [J]. *Inflamm Res*, 2011, 60(6): 577-587.
- [33] Wang Y D, Chen W D, Wang M, *et al.* Farnesoid X receptor antagonizes nuclear factor Kappa B in hepatic inflammatory response [J]. *Hepatology*, 2008, 48(5): 1632-1643.
- [34] Fiorucci S, Antonelli E, Rizzo G, *et al.* The nuclear receptor SHP mediates inhibition of hepatic stellate cells by FXR and protects against liver fibrosis [J]. *Gastroenterology*, 2004, 127(5): 1497-1512.
- [35] Weerachayaphorn J, Luo Y, Mennone A, *et al.* Deleterious effect of oltipraz on extrahepatic cholestasis in bile duct-ligated mice [J]. *J Hepatol*, 2014, 60(1): 160-166.
- [36] 陈 攀, 李晶洁, 陈 杰. 以核受体为靶标的胆汁瘀积治疗药物研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2015, 31(9): 1195-1198.
- [37] 马 雄, 王绮夏. 胆汁瘀积的药物治疗 [J]. 内科理论与实践, 2014, 9(5): 316-319.
- [38] Geier A, Rau M. Obeticholic acid (Ocaliva) for primary biliary cholangitis [J]. *Med Lett Drugs Ther*, 2017, 59(1517): 53-55.
- [39] 朱世超, 郑学敏, 张 玥, 等. 法尼醇 X 受体激动剂奥贝胆酸 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(3): 396-400.
- [40] 陈 强, 朱华荣, 刘 涛, 等. 茵栀黄注射液研究进展 [J]. 中国药物经济学, 2011(6): 35-40.
- [41] 马印图, 李莉华, 李玉秋, 等. 茵栀黄口服液临床应用研究进展 [J]. 解放军医药杂志, 2014(6): 88-91.
- [42] 吴海滨. 基于 FXR 探讨利胆退黄法治疗肝内胆汁瘀积的的机制及临床研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [43] 吴海滨, 余世锋, 兰绍阳. 基于 FXR 探讨茵栀黄注射液利胆退黄的机制研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(4): 845-848.
- [44] 吴海滨, 余世锋, 兰绍阳. 茵栀黄注射液对肝内胆汁瘀积湿热证大鼠 NTCP、BSEP 表达的影响 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(10): 2318-2321.
- [45] 张双金, 张国强, 章晓轶, 等. 茵栀黄水提物对胆汁瘀积小鼠的作用研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 32(9): 834-837.
- [46] Zhang G, Zhou Y, Rao Z, *et al.* Effect of Yin-Zhi-Huang on up-regulation of Oatp2, Ntcp, and Mrp2 proteins in estrogen-induced rat cholestasis [J]. *Pharm Biol*, 2015, 53(3): 319-325.
- [47] Ou Q Q, Qian X H, Li D Y, *et al.* Yinzh Huang attenuates ANIT-induced intrahepatic cholestasis in rats through upregulation of Mrp2 and Bsep expressions [J]. *Pediatr Res*, 2016, 79(4): 589-595.
- [48] 谭 桢, 刘爱明, 罗 敏, 等. 茵栀黄注射液抗胆汁瘀积药效成分的筛选及其作用机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(6): 1113-1118.
- [49] 何国增, 范文昌. 广东地产药材溪黄草药理作用与临床应用研究进展 [J]. 中国医药指南, 2011, 9(21): 243-244.
- [50] 闵剑斌. 溪黄草水提液对胆汁瘀积大鼠模型药效作用机制及 PK-PD 研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2016.
- [51] 闵剑斌, 陈 浩, 石 思, 等. 溪黄草水提物对 ANIT 诱发的实验性大鼠肝内胆汁瘀积模型的干预作用 [J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(5): 635-639.
- [52] 张幻诗, 杨建宇. 蒲公英药用研究进展 [J]. 云南中医中药杂志, 2013, 34(9): 69-71.
- [53] 吕渭升. 基于 FXR 的蒲公英乙酸乙酯提取物利胆作用研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2015.
- [54] 黄 俊, 陈 容, 张元斌, 等. 龙胆保肝作用研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2016, 12(7): 79-81.
- [55] 徐美丽. 龙胆水提物通过 FXR 及其靶基因对胆汁瘀积大鼠保护作用的机制研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [56] Zhao Y L, Wang J B, Zhou G D, *et al.* Investigations of free anthraquinones from rhubarb against alpha-naphthylisothiocyanate-induced cholestatic liver injury in rats [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2009, 104(6): 463-469.
- [57] 张国强. 不同剂量大黄对雌激素诱导的胆汁瘀积大鼠 FXR、CAR 的调节作用 [A] // 2014 年中国药学会暨第十四届中国药师周论文集 [C]. 石家庄: 中国药学会, 2014.
- [58] 刘 晗, 高 云. 大黄素药理作用的分子机制研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(12): 1552-1555.
- [59] 周 方. 大黄素对大鼠肝内胆汁瘀积相关转运体基因表达的研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2010.
- [60] 周 方, 许红梅. 大黄素对胆汁瘀积大鼠肝细胞转运体基因表达的影响 [J]. 第四军医大学学报, 2009, 30(22): 2663-2666.
- [61] 丁 艳, 徐 芳, 熊小丽, 等. 法尼醇 X 受体在急性淤胆型肝炎大鼠模型中的表达及大黄素的干预作用 [J].

- 中国当代儿科杂志, 2014, 16(4): 424-429.
- [62] 尚振中. 大黄素对人正常肝细胞 LO2 株 FXR-BSEP 通路干预机制研究 [D]. 广州: 广西中医药大学, 2016.
- [63] 陆小华, 马 骁, 王 建, 等. 赤芍的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(4): 595-602.
- [64] 方 晶. 不同剂量赤芍对 ANIT 诱导的肝内胆汁瘀积大鼠模型肝细胞膜蛋白 NTCP、BSEP 的影响 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2014.
- [65] Zhao Y, He X, Ma X, *et al.* Paeoniflorin ameliorates cholestasis via regulating hepatic transporters and suppressing inflammation in ANIT-fed rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89: 61-68.
- [66] Zhou H Q, Liu W, Wang J, *et al.* Paeoniflorin attenuates ANIT-induced cholestasis by inhibiting apoptosis via mitochondria-dependent pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89: 696-704.
- [67] 周厚琴, 王 建, 李 洋, 等. 基于分子对接技术探讨赤芍治疗胆汁瘀积型肝炎作用机制的研究 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2016, 16(11): 1456-1460.
- [68] 程志红, 萧 伟, 王振中, 等. 泽泻调血脂活性成分及其药理和临床应用研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(22): 3420-3426.
- [69] 孟 强. 泽泻醇 B23-乙酸酯的肝保护作用及其药理学机制 [D]. 大连: 大连医科大学, 2015.
- [70] Meng Q, Chen X L, Wang C Y, *et al.* Alisol B 23-acetate protects against ANIT-induced hepatotoxicity and cholestasis, due to FXR-mediated regulation of transporters and enzymes involved in bile acid homeostasis [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2015, 283(3): 178-186.
- [71] 孟宪华, 陈德道, 张樱山, 等. 川西獐牙菜的化学成分、药理作用和临床应用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(2): 176-179.
- [72] 刘 畅. 川西獐牙菜醇提取物对 HepG2 细胞膜转运蛋白 MRP3、BSEP 表达的影响 [D]. 重庆: 第三军医大学, 2014.
- [73] 高 宇, 柴 进, 李绍雪, 等. 川西獐牙菜醇提取物对内毒素所致大鼠胆汁瘀积性肝损伤的保护作用 [J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(8): 769-773.
- [74] 杜晓煌. 传统藏药材川西獐牙菜减轻肝脏胆汁瘀积损伤的分子机制研究 [D]. 重庆: 第三军医大学, 2015.
- [75] 岑小波, 韩 玲. 中药新药非临床安全性研究和评价的思考 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 30(12): 1343-1357.
- [76] 边育红, 庄朋伟, 王 丽, 等. 药物潜在毒性发现技术及其在中药安全性评价中的应用展望 [J]. 中草药, 2011, 42(12): 2379-2385.
- [77] 杨建土. 乳香没药的临床不良反应及其毒性分析 [J]. 中国医药指南, 2015, 13(1): 49-50.
- [78] 朱桃桃, 王安红, 周 昆, 等. 乳香没药对大鼠胆汁分泌的影响 [J]. 天津中医药大学学报, 2012, 31(2): 111-113.
- [79] 袁 炜, 高增平, 杨建波, 等. 何首乌化学成分的研究 [J]. 中草药, 2017, 48(4): 631-634.
- [80] 马 喆, 赵珺睿, 董冉冉, 等. 基于高内涵分析技术的何首乌提取物及其主要成分肝毒性研究 [J]. 中草药, 2016, 47(22): 4021-4029.
- [81] 王 涛, 王佳颖, 周植星, 等. 何首乌水提物大鼠连续灌胃给药 28 d 肝毒性研究——胆汁瘀积相关机制探讨 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(11): 2163-2167.
- [82] 陈 莹, 吴 玥, 宋金春. 补骨脂化学成分及生物活性研究进展 [J]. 实用药物与临床, 2016, 19(9): 1184-1188.
- [83] 毕亚男, 李 震, 卢国彦. 补骨脂水提物对小鼠的肝毒性及胆汁酸转运的影响 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(3): 267-270.
- [84] 周 昆, 代 志, 柳占彪, 等. 补骨脂水提物引起的大鼠肝损害 [J]. 天津中医药大学学报, 2013, 32(4): 221-224.
- [85] 周 昆, 毕亚男, 史 红. 异补骨脂素抑制 MRP2、MRP3 所致的 HepG2 细胞内胆汁酸蓄积和毒性 [J]. 中国药理学通报, 2015, 31(8): 1112-1116.
- [86] 王安红, 周 昆, 柴丽娟. 补骨脂素对 HepG2 细胞 BSEP、NTCP 的影响 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(7): 1563-1565.
- [87] 周 昆, 王安红, 柴丽娟, 等. 补骨脂酚对 HepG2 的细胞毒性及 BSEP、NTCP、FXR、CYP7A1 的影响 [J]. 毒理学杂志, 2015, 29(3): 193-196.
- [88] 毕亚男, 李 震, 周 昆, 等. 补骨脂酚对小鼠肝功能和胆汁酸转运体 BSEP、NTCP 的影响 [J]. 天津中医药大学学报, 2015, 34(4): 222-225.
- [89] 温 锐, 谢国勇, 李旭森, 等. 黄蜀葵化学成分与药理活性研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2015, 34(2): 37-44.
- [90] 蔡红蝶, 宿树兰, 郭 盛, 等. 黄蜀葵花中黄酮类成分对前脂肪细胞增殖、分化及胰岛素抵抗的影响 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(24): 4635-4641.
- [91] 蔡红蝶, 陶伟伟, 宿树兰, 等. 黄蜀葵花中黄酮类化合物抗抑郁活性及其上调大鼠海马组织中 BDNF 的作用机制研究 [J]. 药学报, 2017, 52(2): 222-228.
- [92] Li J, Zhang J, Wang M, *et al.* Extraction of flavonoids from the flowers of *Abelmoschus manihot* (L.) medic by modified supercritical CO₂ extraction and determination of antioxidant and anti-adipogenic activity [J]. *Molecules*, 2016, 21(7): E810.

- [93] Ge J, Miao J J, Sun X Y, *et al.* Huangkui capsule, an extract from *Abelmoschus manihot* (L.) medic, improves diabetic nephropathy via activating peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- α/γ and attenuating endoplasmic reticulum stress in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 189: 238-249.
- [94] Chen Y, Cai G, Sun X, *et al.* Treatment of chronic kidney disease using a traditional Chinese medicine, *Flos Abelmoschus manihot* (Linnaeus) *Medicus* (Malvaceae) [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2016, 43(2): 145-148.
- [95] Ai G, Liu Q, Hua W, *et al.* Hepatoprotective evaluation of the total flavonoids extracted from *Abelmoschus manihot* (L.) Medic: *In vitro* and *in vivo* studies [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 146(3): 794-802.
- [96] Yan J Y, Ai G, Zhang X J, *et al.* Investigations of the total flavonoids extracted from *Abelmoschus manihot* (L.) Medic against α -naphthylisothiocyanate-induced cholestatic liver injury in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 172: 202-213.
- [97] Ai G, Liu Q C, Huang Z M. Total flavonoids from flowers of *Abelmoschus manihot* for amelioration of α -naphthylisothiocyanate-induced cholestasis by regulating expression of transporters [J]. *Chin Herb Med*, 2015, 7(2): 162-166.