

## 小柴胡汤治疗肝炎时出现肝损伤的“效-毒”作用网络分析与机制预测

刘 静<sup>1,3</sup>, 李晓宇<sup>3</sup>, 吴恺恂<sup>3</sup>, 黄娜娜<sup>1</sup>, 孙 蓉<sup>1,2\*</sup>

1. 山东大学第二医院, 山东 济南 250033

2. 山东大学高等医学研究院, 山东 济南 250012

3. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

**摘要:** **目的** 运用网络药理学研究模式, 基于小柴胡汤治疗肝炎过程中造成药物性肝损的临床不良反应伤(ADR)信息挖掘, 探讨小柴胡汤治疗肝炎时产生肝损伤的“效-毒”作用靶点、通路和机制。**方法** 以小柴胡汤为研究对象, 借助整合药理学平台构建“效-毒”作用网络, 预测分析其关键靶点和通路, 应用 Cytoscape 软件对关键靶标所参与的通路整理分析, 得到“效-毒”共同参与的通路及作用机制。**结果** 小柴胡汤治疗肝炎时产生肝损伤的“效-毒”作用分析得出, 在度值排名前 100 的候选靶标中共同靶标有 HADHA、HADH、NSDHL、ADH1A、ALDH3A2、GCK 等 40 个, 小柴胡汤中共同参与“效-毒”作用的化学成分包括柴胡 27 个、人参 74 个、半夏 13 个、生姜 8 个、甘草 32 个、大枣 39 个、黄芩 33 个, 共 226 个成分, 共同作用于内分泌系统、神经系统、雌激素信号通路、趋化因子信号通路、内分泌和代谢疾病、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)、神经退行性疾病 7 条通路参与“效-毒”过程。**结论** 小柴胡汤治疗肝炎时产生肝损伤的“效-毒”作用可能与 Ras/Raf/MEK/ERK、NF- $\kappa$ B、PI3K/AKT 信号传导途径密切相关, 通过调控细胞增殖、细胞凋亡、调控炎症因子的表达发挥作用。

**关键词:** 小柴胡汤; 肝炎; 药物性肝损伤; 网络药理学; “效-毒”作用

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)21-5135-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.21.002

## Network analysis and mechanism prediction of “effectiveness-toxicity” of liver injury in treatment of hepatitis with Xiaochaihu Decoction

LIU Jing<sup>1,3</sup>, LI Xiao-yu<sup>3</sup>, WU Kai-yi<sup>3</sup>, HUANG Na-na<sup>1</sup>, SUN Rong<sup>1,2</sup>

1. The Second Hospital of Shandong University, Jinan 250033, China

2. Institute of Advanced Medical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China

3. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

**Abstract: Objective** To explore the “efficacy-toxicity” targets, pathways, and mechanism of Xiaochaihu Decoction in the treatment of hepatitis based on the ADR information excavating of drug-induced liver injury in the treatment of hepatitis with Xiaochaihu Decoction.

**Methods** Taking Xiaochaihu Decoction as the research object, the integrated pharmacology platform was used to analyze and predict key targets and pathways. Cytoscape software was used to collate and analyze key targets and pathways to obtain co-participation pathways and mechanisms of “efficacy-toxicity”. **Results** The analysis of the effect of Xiaochaihu Decoction for liver injury in the treatment of hepatitis showed that there were 40 common targets such as HADHA, HADH, NSDHL, ADH1A, ALDH3A2, and GCK among the top 100 candidate targets with degree value. The chemical components jointly participated in the network of “effect-toxicity” which belonged to Xiaochaihu Decoction including 27 components in *Bupleuri Radix*, 74 components in *Ginseng Radix*, 13 components in *Pinelliae Rhizoma*, 8 components in *Zingiberis Rhizoma*, 32 components in *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*, 39 components in *Jujubae Fructus*, and 33 components in *Scutellaria baicalensis*. A total of 226 components were involved in the “effect-toxicity” process through endocrine and metabolic diseases, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), estrogen signaling pathway, neurodegenerative diseases, nervous system, chemokine signaling pathway, and endocrine system. **Conclusion** The “efficacy-toxicity” effect of

收稿日期: 2019-05-29

基金项目: 山东省重点研发计划(重大关键技术)项目(2016ZDJS07A21); 山东省重点研发计划项目(2017CXGC1301); 国家自然科学基金面上项目(81773997); 国家重点基础研究发展计划(“973”)中医基础理论专项(2009CB522802); 泰山学者工程专项经费项目(ts201511107)

作者简介: 刘 静, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药理与毒理。Tel: 13553183583 E-mail: 13553183583@163.com

\*通信作者 孙 蓉, 女, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药药理与毒理学研究。Tel: 13605311799 E-mail: sunrong107@163.com

Xiaochaihu Decoction on liver injury in the treatment of hepatitis may be closely related to Ras/Raf/MEK/ERK, NF- $\kappa$ B, and PI3K/AKT signal transduction pathway. It plays a role by regulating cell proliferation, cell apoptosis and the expression of inflammatory factors, which provides a theoretical basis for further pharmacological and toxicological verification and chemical separation research. It plays a role by regulating cell proliferation, cell apoptosis and the expression of inflammatory factors.

**Key words:** Xiaochaihu Decoction; hepatitis; drug-induced liver injury; network pharmacology; efficacy-toxicity effect

经方小柴胡汤由柴胡、黄芩、半夏、人参、甘草、生姜、大枣 7 味中药组成,首载于《伤寒论》,为和解少阳的代表方,具有和解表里之功效<sup>[1]</sup>。临床应用和实验研究均表明<sup>[2-3]</sup>,小柴胡汤可用于治疗病毒性肝炎、酒精性肝炎等肝炎疾病,能够有效改善肝脏功能。肝炎病因复杂,多因正气不足,邪气侵犯肝脏,肝失疏泄所致,湿热毒亦是其发生发展的主要因素之一;肝炎治则主要有清热解毒、扶正祛邪、化浊解郁等;小柴胡汤可解肝郁、疏肝气,气化则湿化,气行则瘀去<sup>[4]</sup>。方中柴胡、黄芩疏解少阳,人参、半夏扶正益气,生姜、大枣醒脾和胃,生甘草调和诸药,诸药合用共奏疏肝利胆、扶正祛邪之功。随着小柴胡汤的临床广泛应用和药监部门临床不良反应(ADR)报告系统的完善,国内外关于小柴胡汤毒副作用的报道也日益增多<sup>[5]</sup>,间质性肺炎是首报不良反应,即“日本小柴胡事件”,其后临床报道有肝损伤<sup>[6]</sup>,人肝细胞体外毒性实验发现小柴胡汤水煎液具有肝细胞毒性<sup>[7]</sup>。小柴胡汤因其有发散、疏肝、理气作用,容易伤肝阴,会导致肝阴虚、肝血虚、肝失疏泄、气不条达,降低肝脏的解毒和代谢功能<sup>[4]</sup>。小柴胡汤产生肝毒性可能为多成分综合作用在肝炎患者体内引起的一系列肝脏病变,但目前尚未见小柴胡汤治疗肝炎出现肝损伤的实验研究,无法合理判断小柴胡汤在治疗肝炎时药效和造成药物性肝损伤毒性(效-毒)的关系及其作用机制,不利于临床合理安全用药。本研究运用中药整合药理学平台<sup>[8]</sup>(TCM-IP)构建小柴胡汤作用的药物靶标和疾病靶标之间的相互作用网络,分析小柴胡汤治疗肝炎过程中产生药物性肝损伤的关键靶标和信号通路,尝试阐明该过程的“效-毒”作用机制,为实现经方小柴胡汤的精准化、安全应用和现代深入研究提供依据。

## 1 方法

### 1.1 化学成分和疾病靶标预测

借助 TCM-IP 平台中药材数据库对小柴胡汤所含中药材柴胡、黄芩、人参、半夏、甘草、生姜、大枣进行化学成分信息检索,建立小柴胡汤的化学成分信息数据库及候选靶标信息数据库。在疾病/

症状靶标数据库,以“肝炎(hepatitis)”作为疾病或症状关键词进行检索,提取小柴胡汤中治疗肝炎的药物名称、药物疗效、药物靶标的基因和蛋白质相关信息,作为候选靶标来源,建立“小柴胡汤-肝炎”靶标数据库。在疾病/症状靶标数据库,以“药物性肝损伤(DILI)”作为疾病或症状关键词进行检索,提取小柴胡汤引起药物性肝损伤的药物靶标的基因和蛋白质相关信息,作为候选靶标来源,建立“小柴胡汤-药物性肝损伤”靶标数据库。

### 1.2 网络构建与靶标分析

通过 TCM-IP 平台的蛋白质-蛋白质相互作用信息(PPI)数据库,可直接获得小柴胡汤作用的潜在靶标与“hepatitis”“DILI”靶标之间的 PPI,并构建相互作用网络,以节点连接度(degree)值 $\geq 2$ 倍中位数为筛选条件,选取方剂靶标-疾病基因互作网络的核心节点(hubs);以度值、节点紧密度(closeness)和节点介度(betweenness)的中位数为卡值,选取同时满足 3 个卡值的节点为候选靶标;通过基因功能和通路进行富集分析,进一步挖掘分子机制,并构建“方剂药材-化学成分-核心靶标-关键通路”的多层次网络关联图。

### 1.3 基因功能和通路分析

采用 TCM-IP 平台基因本体数据库(gene ontology, GO)和全基因组及代谢途径数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG),提取靶标基因或蛋白质的分子功能(molecular function)、细胞内定位(subcellular localization),及其所参与的生物学反应(biological process)和通路(pathway),结合富集计算得出的小柴胡汤直接作用靶标和肝炎及药物性肝损伤的核心靶标,进行基因功能分析和通路分析,并将所得结果按照  $P$  值降序排列,选取  $P$  值在前 20 的靶点、基因功能和通路进行分析。

### 1.4 共有通路机制分析

将 TCM-IP 平台所整理出的小柴胡汤治疗肝炎及小柴胡汤造成药物性肝损伤的“成分-靶标-通路”网络中关键靶标所参与的通路信息及相关基因通过

Cytoscape 软件进行整理分析, 得到其共同参与的通路及靶点, 带入 KEGG Mapper, 分析得多条通路的共有机制, 挖掘本方剂的“效-毒”关联机制。

### 1.5 小柴胡汤治疗肝炎的药效及造成药物性肝损伤的毒性作用机制文献验证

在中国知网及 PubMed 检索小柴胡汤治疗肝炎以及造成药物性肝损伤的相关文献, 将提及“小柴胡汤”“肝炎”“肝损伤”的文献进行分析, 查找临床应用及诊断指标、药理实验研究所得小柴胡汤治疗肝炎药效及造成药物性肝损伤的毒性作用机制, 并对小柴胡汤中君臣药对所含主要化学成分进行分析, 对本研究分析所得的“效-毒”机制进行文献验证。

## 2 结果

### 2.1 化学成分靶点预测

根据 TCM-IP 数据库收集得到小柴胡汤中含有的 647 个活性化合物基本信息, 其中 41 个来自半夏, 主要为生物碱、核苷和有机酸类化学成分; 62 个来自柴胡, 主要为柴胡皂苷类、酸类、醇类等; 72 个来自大枣, 主要为有机酸、三萜苷类、生物碱类等; 133 个来自甘草, 主要为黄酮、皂苷类化学成分; 54 个来自黄芩, 主要为黄酮类和苷类; 158 个来自人参, 主要为人参皂苷类、多糖、挥发油等; 127

个来自生姜, 主要为挥发油、氨基酸类成分, 各味药预测靶点数量见图 1。

### 2.2 小柴胡汤预测靶点生物信息学分析

如图 2 所示, 对小柴胡汤候选靶点进行基因分析, 取  $P$  值排名前 20 得到候选靶点具有的功能信息涉及的生物过程有氧化还原、谷胱甘肽衍生物合成、三羧酸循环等; 细胞组成有线粒体、线粒体基质、胞外体、髓鞘等; 分子功能有细胞外谷氨酸门

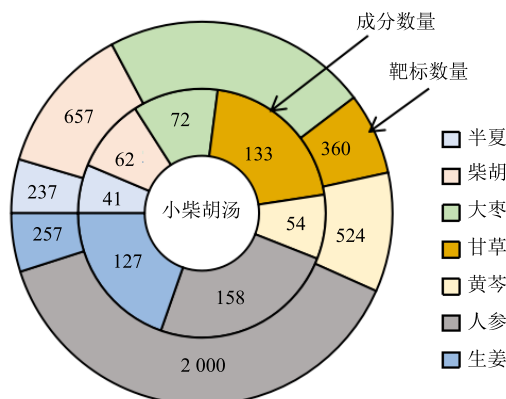


图 1 小柴胡汤“药材-成分-靶点”预测信息

Fig. 1 Predictive information of Xiaochaihu Decoction on "Chinese Medicine-Ingredients-Targets"

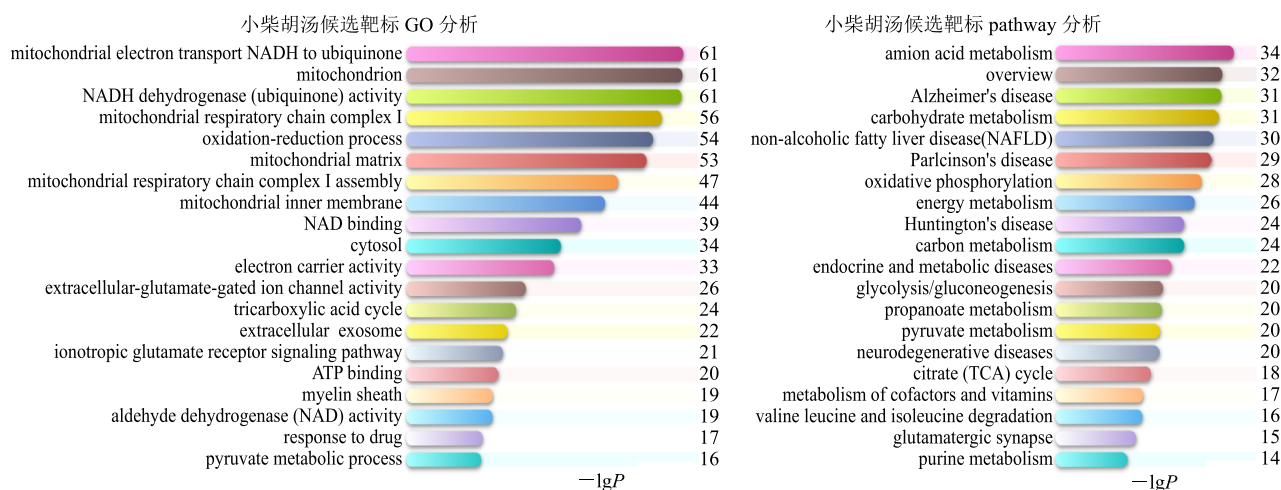


图 2 小柴胡汤候选靶点 GO 和 pathway 功能富集分析

Fig. 2 Analysis of GO and pathway functional enrichment for candidate targets of Xiaochaihu Decoction

控离子通道活动、线粒体电子传递等条目。

对候选靶点进行通路富集分析, 取  $P$  值排名前 20 得到候选靶点参与的通路信息, 涉及氨基酸代谢、碳水化合物代谢、谷胱甘肽代谢、非酒精性脂肪肝 (NAFLD)、碳代谢、氧化磷酸化、能量代谢、糖酵解/糖异生、丙酸酯代谢、丙酮酸代谢、P450

酶异物代谢、核苷酸代谢等。研究还显示小柴胡汤在阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病、神经退行性疾病等的治疗中存在一定应用价值。

### 2.3 小柴胡汤治疗肝炎与造成药物性肝损伤的候选靶点网络构建

通过 TCM-IP 平台的 PPI 相互作用数据库, 建

立小柴胡汤药物靶标与疾病靶标之间的相互作用网络。根据条件筛选出与小柴胡汤治疗肝炎药效相关的核心靶标 734 个，其中潜在靶标 (putative drug target) 416 个；筛选出小柴胡汤造成药物性肝损伤的核心靶标 672 个，其中潜在靶标 335 个。图 3、4 为根据度值排序仅显示排名前 100 位的靶点，图中节点的大小与度值呈正比关系。

由图 5 所示，对肝炎和肝损伤的各前 100 个靶点进行分析，“肝炎-药物性肝损伤”的共有靶标为 40 个。分别对肝炎及肝损伤排名前 20 的靶点进行分析，“小柴胡汤-肝炎”特有靶标有 ADH1C、

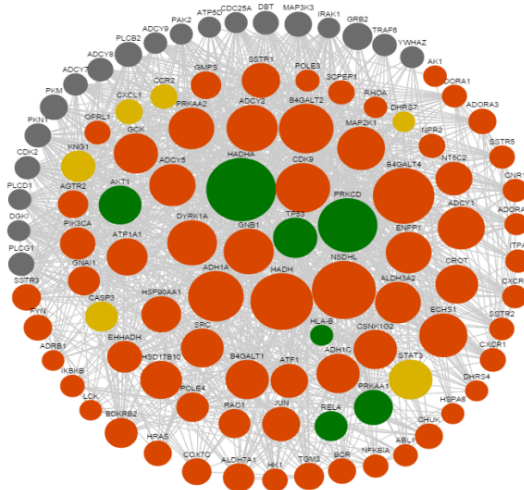


图 4 小柴胡汤造成药物性肝损伤的候选靶标网络  
Fig. 4 Candidate target network for drug-induced liver injury (DILI) in Xiaochaihu Decoction

ATP1A1、NT5C2、PRKAA1、HSD17B10、ALDH7A1、POLE4、EHHADH、ATF1、AKT1；“小柴胡汤-药物性肝损伤”特有靶标有 B4GALT4、PRKCD、CDK9、B4GALT2、GNB1、DYRK1A、ECHS1、MAP2K1、PRKAA2、TP53；“肝炎-药物性肝损伤”共有靶标有 HADHA、HADH、NSDHL、ADH1A、ALDH3A2、GCK、ENPP1、ADCY2、ADCY1、ADCY5，且排名均较靠前，由图中节点大小可看出，其中网络中连接度最高的节点为 HADHA 基因，在“小柴胡汤-肝炎”网络中能与 152 个疾病靶标发生相互作用，在“小柴胡汤-药物性肝损伤”网络中能与 142 个疾病靶标发生相互作用。

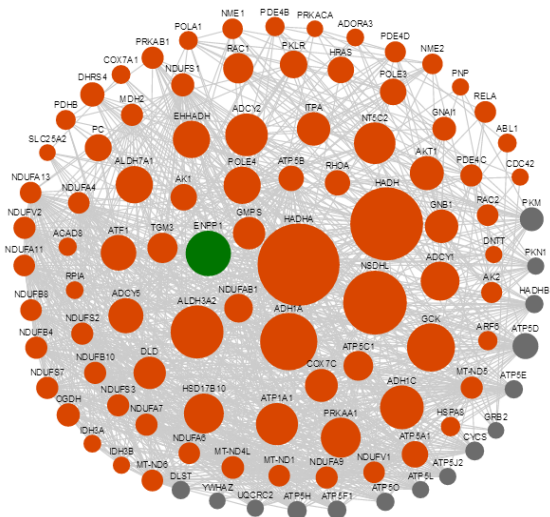


图 3 小柴胡汤治疗肝炎的候选靶标网络  
Fig. 3 Candidate target network for treatment of hepatitis by Xiaochaihu Decoction

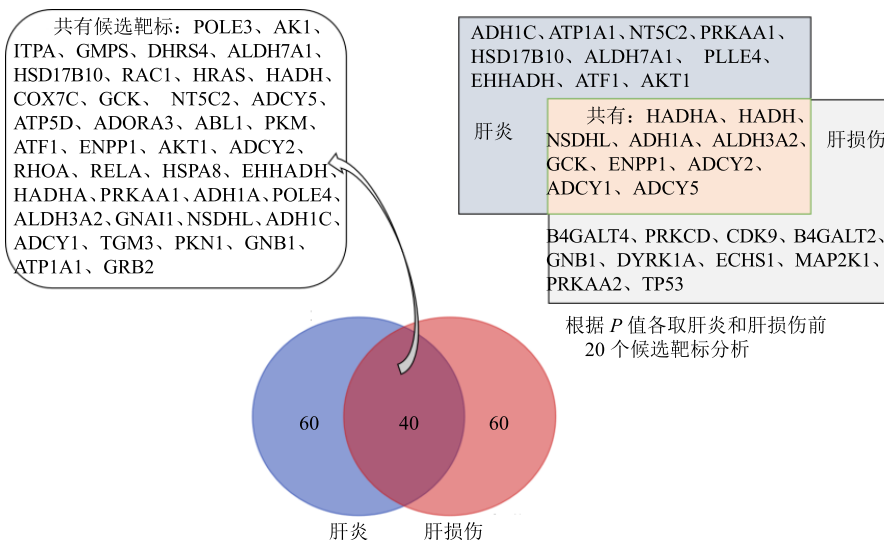


图 5 小柴胡汤治疗肝炎及造成药物性肝损伤候选靶标分析

Fig. 5 Candidate target analysis of Xiaochaihu Decoction in treatment of hepatitis and DILI

有研究表明,肝细胞损伤后该基因会出现差异表达,参与脂质代谢、炎症、应激反应等功能<sup>[9]</sup>; HADHA 的先天性基因突变还可能造成肝功能衰竭<sup>[10]</sup>, HADHA 还对细胞脂变方面起保护作用,抑制 HADHA 的表达显著减少氧化应激的程度。靶标网络分析及研究表明,小柴胡汤的“效-毒”机制可能与 HADHA 的表达有密切关系。

### 2.4 小柴胡汤治疗肝炎和造成药物性肝损伤的关键靶标功能和通路分析

对小柴胡汤药物靶标、肝炎疾病靶标、药物性肝损伤靶标进行基因功能分析和通路分析,取 *P* 值排名前 20 的通路,结果见图 6、7。可以看出,“肝炎-药物性肝损伤”共有基因功能主要涉及 ATP 结合、血小板活化、蛋白质结合、蛋白激酶活性、蛋

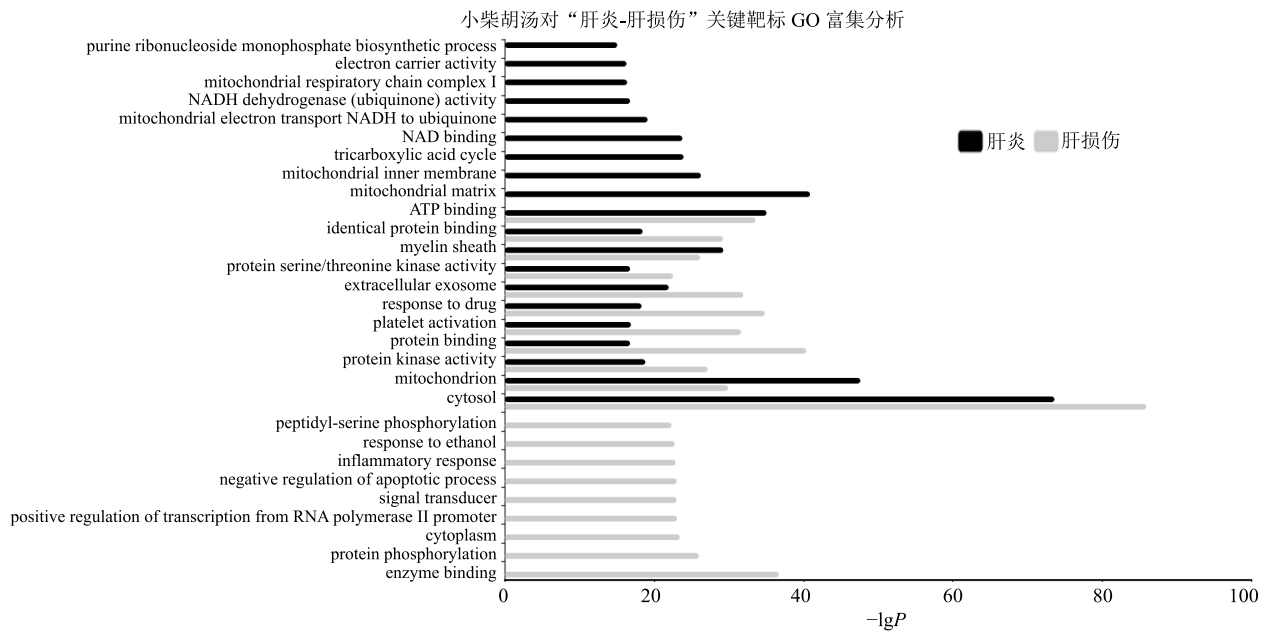


图 6 关键靶标 GO 富集分析

Fig. 6 GO enrichment analysis of key targets

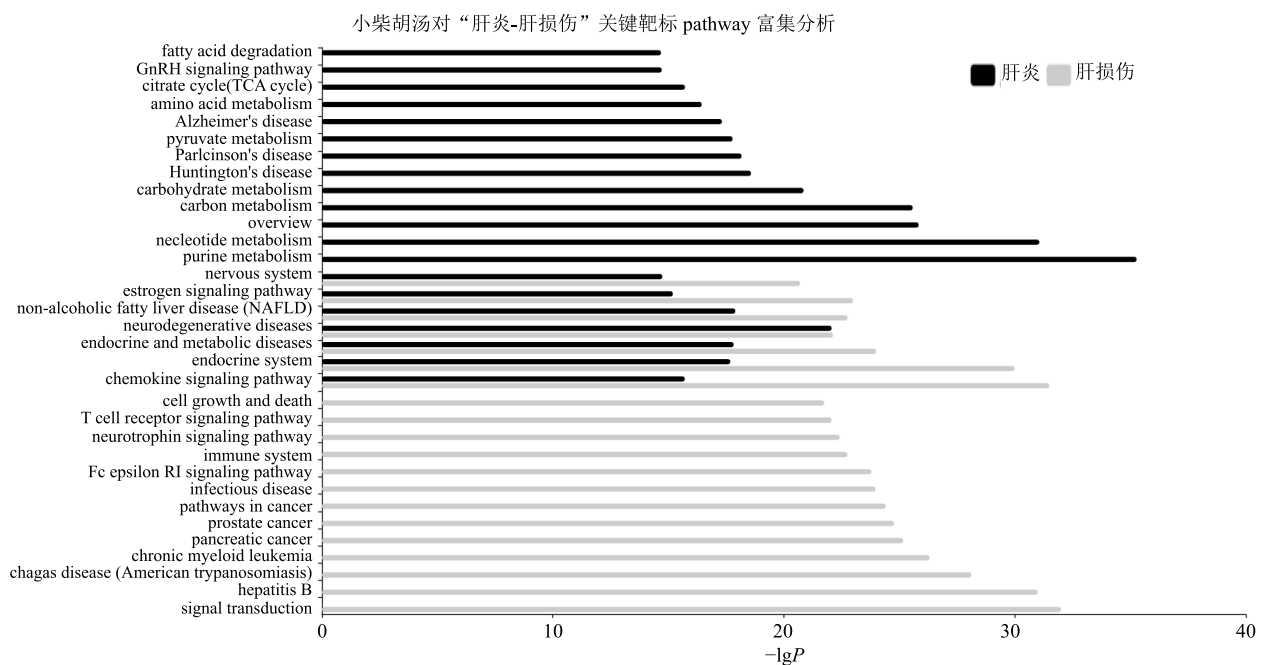


图 7 关键靶标 pathway 功能富集分析

Fig. 7 Pathway functional enrichment analysis of key targets

白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性、细胞外泌体、线粒体、髓鞘等条目。通路富集分析得“肝炎-药物性肝损伤”共有通路主要涉及趋化因子信号通路、内分泌和代谢疾病、内分泌系统、雌激素信号通路、神经系统、神经退行性疾病、非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD)。

有研究表明乙型肝炎患者的血小板活化及血小板参数均呈现异常表达情况，且不同严重程度者的表达也存在明显差异，表明“肝炎-药物性肝损伤”的作用机制与血小板活化有关<sup>[11]</sup>；NAFLD 经常在患有内分泌疾病中的患者中被检出，提示内分泌机制可能参与 NAFLD 的发病机制，为内分泌系统代谢通路在肝炎治疗中的作用做出了解释；雌激素可能通过抑制 CXCL10 趋化因子 10 (CXCL10) 的表达，继而抑制 CXCL10 诱导的肝星状细胞迁移，可延缓肝纤维化的病情进展<sup>[12]</sup>，小柴胡汤可能通过影响雌激素信号通路保护肝脏；有研究从 microRNAs 角度揭示轻度慢性乙型肝炎炎症活动的分子机制，其中涉及了趋化因子信号通路，并调控了 JAK-STAT 信号传导途径增强了 α 干扰素 (IFN-α) 作用，增强机体免疫，进一步引起肝脏炎症活动<sup>[13]</sup>。

### 2.5 多维网络构建及分析

通过 TCM-IP 平台进一步构建小柴胡汤“中药-化学成分-核心靶标-关键通路”的多层次网络关联图，见图 8、9。由图可知，小柴胡汤治疗肝炎的主要化学成分为 236 个，引起药物性肝损伤的主要化学成分为 495

个，共同参与“效-毒”作用的化学成分共计 226 个，其中柴胡 27 个、人参 74 个、半夏 13 个、生姜 8 个、甘草 32 个、大枣 39 个、黄芩 33 个，主要包括柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、黄芩苷、齐墩果酸、原人参二醇等。此 226 个共有化学成分分别作用于 30 条主要作用通路，其中“效-毒”共有通路主要有内分泌系统、神经系统、趋化因子信号通路、雌激素信号通路、神经营养因子信号通路等 13 条通路，体现了中药“多成分-多靶点-多通路”的作用机制，符合中药复方协同作用的特点。

### 2.6 小柴胡汤治疗肝炎“效-毒”机制探讨

将整合药理学平台所整理出的小柴胡汤治疗肝炎及引起药物性肝损伤的“成分-靶标-通路”网络中关键靶标所参与的通路信息及相关基因通过 Cytoscape 软件进行整理分析，筛选得小柴胡汤治疗肝炎及造成药物性肝损伤涉及的 7 条主要通路及 31 个关键靶点，见图 10；KEGG Mapper 分析后得共同参与“效-毒”机制的为 MAPK signaling pathway、PI3K-Akt signaling pathway、NF-κB signaling pathway 途径，见图 11。预测小柴胡汤治疗肝炎及引起肝损伤机制与干预 Ras/Raf/MEK/ERK、NF-κB、CASP3 的信号传导通路相关。

### 2.7 小柴胡汤治疗肝炎的药效及造成药物性肝损伤的毒性作用机制文献验证

临床应用小柴胡汤案例<sup>[14-16]</sup>明确小柴胡汤对急

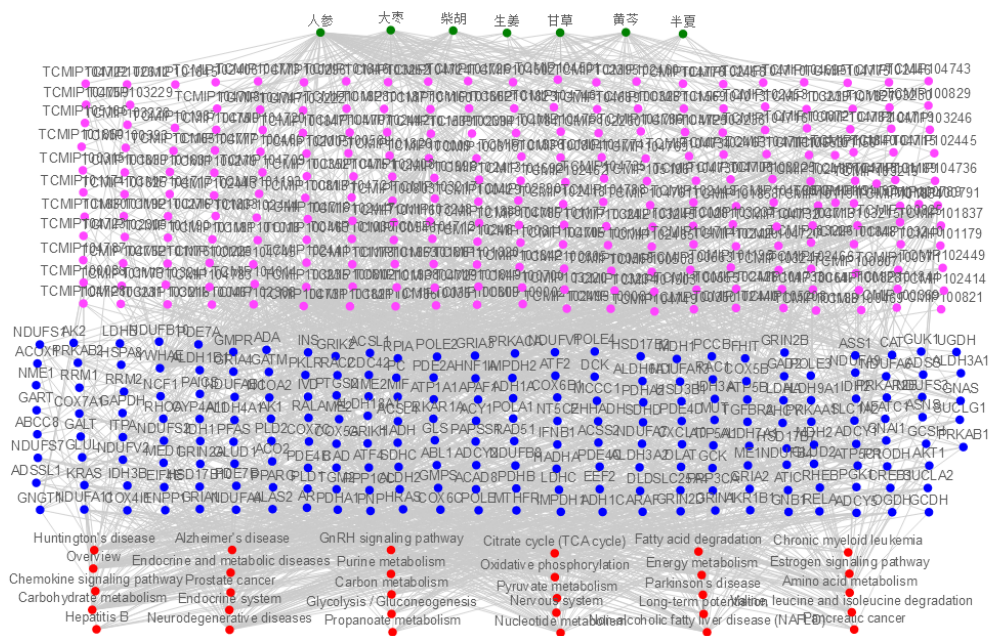


图 8 小柴胡汤治疗肝炎“核心成分-关键靶标-主要通路”多维网络关系

Fig. 8 Multi-dimensional network diagram of Xiaochaihu Decoction in treatment of hepatitis “core components-key target-major pathway”

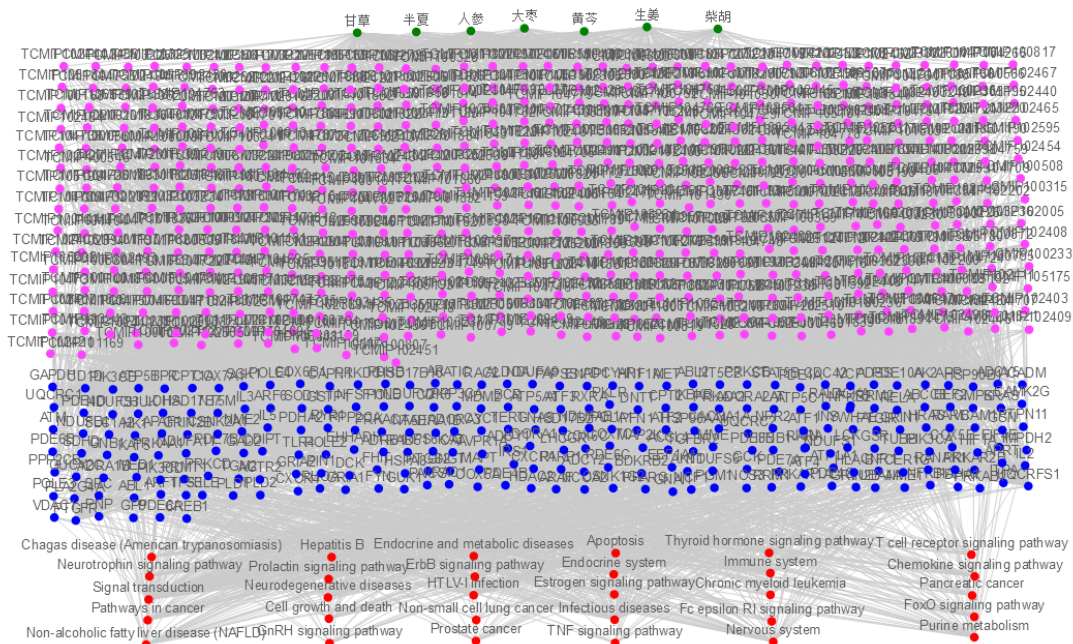


图 9 小柴胡汤造成药物性肝损伤“核心成分-关键靶标-主要通路”多维网络关系

Fig. 9 Multi-dimensional network diagram of “core components-key target-major pathway” caused by Xiaochaihu Decoction for DILI

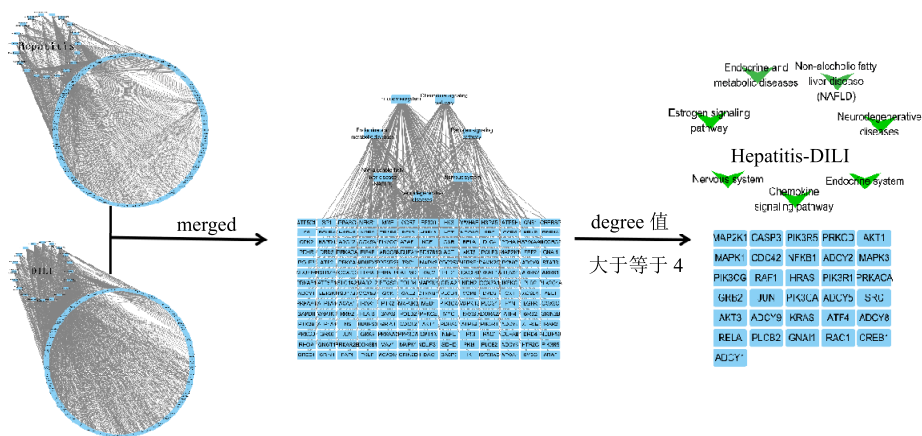


图 10 “肝炎-药物性肝损伤”共有通路-靶点分析

Fig. 10 Shared access-target analysis of “hepatitis-DILI”

性肝炎、慢性病毒性肝炎、酒精性肝炎等多种病因病机的肝炎均有明确疗效。急性肝炎临床症见恶寒发热、食欲不振、胃腹胀满等脾胃不和症状<sup>[17]</sup>，刘渡舟<sup>[18]</sup>提出“疏肝清热法、清利湿热法、疏肝利湿解毒法、清利解表双解法”等法治疗急性肝炎；病毒性肝炎病因多为“湿热毒邪侵袭入体”，邪毒不断耗伤正气，肝脾肾多脏受损<sup>[19]</sup>，而小柴胡汤具有扶正祛邪功效，方中君药柴胡透邪解郁，可引药入肝经，臣药黄芩味苦性寒，清泄邪热，与诸药配伍，共行疏肝解郁、扶正祛邪之功<sup>[20]</sup>。临床应用报道 40 例服用小柴胡汤，9 例在用药过程中出现了

转氨酶升高及黄疸，肝活检证实为急性肝损害，停药后肝功能恢复；其中 4 例再次给药后重现肝损害，此过程或与小柴胡汤中柴胡、黄芩的原浆毒相关<sup>[21]</sup>。对小柴胡汤单味药进行毒性实验，柴胡、人参、半夏均为阳性反应，甘草为假阳性反应。小柴胡汤可引起急性肝炎潜伏期约 2 个月，在治疗过程中启动氧化损伤机制，对肝细胞造成损伤，使肝组织检查出现肝小叶中央性坏死、纤维化及胆汁淤积等病理变化<sup>[6,22]</sup>。归纳文献中小柴胡汤治疗急性肝炎、病毒性肝炎等过程造成肝损伤的临床指标及机制，见图 12。

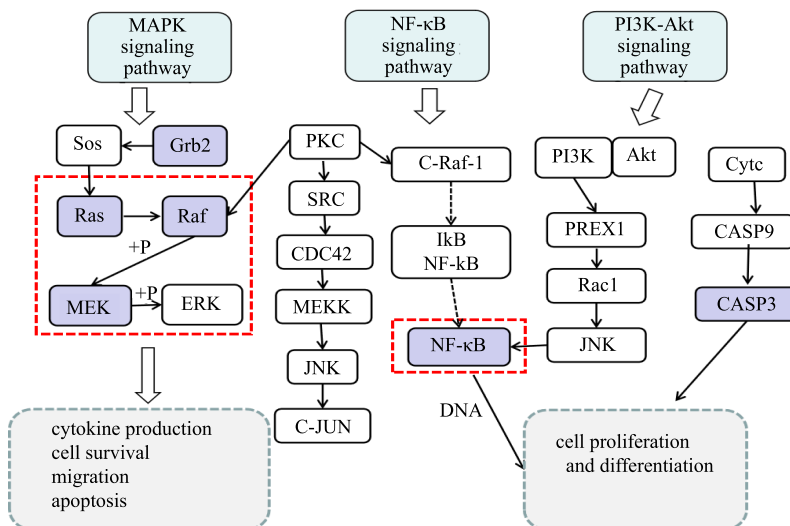


图 11 小柴胡汤治疗肝炎及引起药物性肝损伤网络机制分析

Fig. 11 Analysis of network mechanism of Xiaochaihu Decoction in treatment of hepatitis and DILI

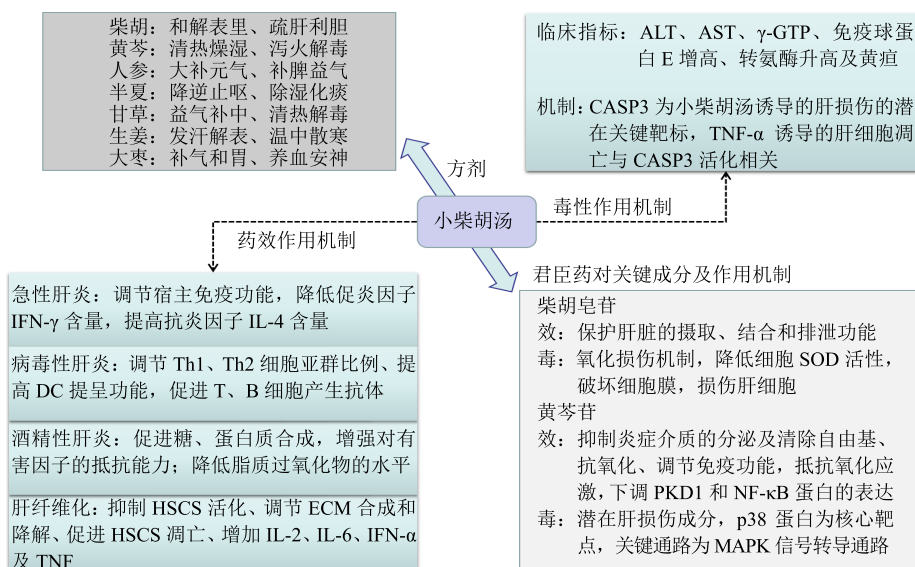


图 12 小柴胡汤“效-毒”机制文献分析

Fig. 12 Literature analysis of mechanism of “efficiency-toxicity” of Xiaochaihu Decoction

### 3 讨论

本研究借助整合药理学平台构建小柴胡汤“核心成分-关键靶标-主要通路”多维网络关系图，通过数据分析，柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、黄芩苷、齐墩果酸、原人参二醇等 226 个成分共同参与“肝炎-药物性肝损伤”作用，实验研究表明柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 能显著降低肝损伤大鼠血清中 ALT 和 AST 的水平，减轻大鼠肝组织的病理变化，明显改善肝功能，但不同浓度的柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 对于细胞毒性呈现剂量相关性，通过氧化损伤机制，

降低细胞超氧化物歧化酶（SOD）活性，破坏细胞膜，使细胞发生损伤而发挥毒性<sup>[23-26]</sup>；黄芩苷具有保护肝损伤、治疗慢性肝炎、抗肝纤维化等作用，其作用机制与其抑制炎症介质的分泌以及清除自由基、抗氧化、调节免疫功能等密切相关，黄芩苷亦对人肝细胞有一定的毒性，但其毒性贡献并不足以反映黄芩或小柴胡汤整体的肝细胞毒性<sup>[27-29]</sup>；齐墩果酸具有降低血清丙氨酸转氨酶的作用，临床治疗急慢性肝炎和肝硬化有一定效果，可通过非竞争抑制作用抑制丙型肝炎病毒复制酶 NS5B 活性，有实



验研究发现长期给予小鼠小剂量齐墩果酸会导致肝纤维化的发生,肝纤维化的程度与血药浓度成正比,产生肝纤维化的原因与 Nr2 有关<sup>[30-32]</sup>;人参二醇组皂苷可生成稀有皂苷 Rg<sub>3</sub> 和 Rg<sub>5</sub>,其通过修复受损的线粒体细胞膜降低通透性增加血液中转氨酶的活性并抑制了氧化应激反应,增加了谷胱甘肽(GSH)的含量,从而对肝脏起到了保护作用,但原人参二醇高浓度时对肝细胞的毒性较大<sup>[33-34]</sup>。研究报道所得化学成分共同参与了“效-毒”作用,后期可对复方小柴胡汤进行单味药毒性及配伍后毒性变化研究,明确产生肝毒性的化学成分。

本研究通过预测其发挥治疗机制的关键靶点及通路得出小柴胡汤主要化学成分通过 HADHA、HADH、NSDHL、ADH1A 等靶标作用于内分泌系统、趋化因子信号通路、雌激素信号通路、非酒精性脂肪性肝病等通路发挥“效-毒”作用,并对其靶点及通路进行分析,明确“效-毒”作用是通过作用于 MAPK signaling pathway、PI3K-Akt signaling pathway、NF- $\kappa$ B signaling pathway 途径,干预 Ras/Raf/MEK/ERK、NF- $\kappa$ B、PI3K/AKT 信号传导途径发挥作用。MAPK 信号通路是细胞内重要的信号转导系统,肝细胞内 MAPK 可参与脂肪代谢调控<sup>[35-37]</sup>。在肝脂肪变早期 MAPK 活性受到抑制,过氧化物酶体增殖物激活受体- $\alpha$ (PPAR- $\alpha$ )、固醇调节元件结合蛋白 1(SREBP-1)及二酰基甘油酰基转移酶 2(DGAT2)等因子活性发生改变导致肝细胞内脂肪合成增加、分解代谢减少,可促进脂肪肝的形成,后期 MAPK 被激活可能参与肝细胞凋亡等过程<sup>[38]</sup>。Ras/Raf/Mek/Erk 信号通路持续激活,会抑制细胞凋亡、促进细胞存活及促进耐药基因的表达,可导致肝炎细胞异常增殖。核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)是一种核蛋白因子,可以参与多种蛋白基因调控<sup>[39]</sup>。NF- $\kappa$ B 的活化与肝脏炎症、纤维化等过程密切相关,其活性增加可使环氧合酶 2(COX-2)、白细胞介素-6(IL-6)及 IL-8 等基因表达相应的产物,加剧肝脏炎症,并通过炎症介质进一步激活 NF- $\kappa$ B,造成肝脏纤维化的发生。实验研究,通过抑制其活性后可降低 AT1R mRNA 表达,减轻炎症及纤维化的程度<sup>[40]</sup>。PI3K/Akt 通路可调控多种细胞生理信息传导,参与机体内各细胞周期运转<sup>[41-42]</sup>,启动细胞凋亡机制,并激活细胞侵袭特性。研究表明丝裂霉素(MMC)能够刺激肝干细胞发生凋亡,其诱导凋亡的作用便是通过激活

PI3K/Akt 信号通路实现的<sup>[43-44]</sup>。

综上,通过对小柴胡汤治疗肝炎的“效-毒”关联的机制通路进行分析预测,获知小柴胡汤可能由 MAPK、PI3K-Akt、NF- $\kappa$ B 多条信号传导通路通过调控细胞增殖、细胞凋亡、调控炎症因子的表达等产生“效-毒”作用,为小柴胡汤的精准化、安全应用和现代研究提供依据,但对应靶点上的“效-毒”作用的调控机制及明确的“量-效-毒”关系、临床安全用量等还需进一步的药理实验验证,尤其是病证背景下的“量-效-毒”关系和作用网络靶点的验证,以确保小柴胡汤在临床合理辨证用药的安全性。

#### 参考文献

- [1] 彭怀仁. 中医方剂大辞典 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998.
- [2] 谭志勇, 刘云云, 朱迪. 小柴胡汤治疗肝脏疾病的临床应用及实验研究 [J]. 亚太传统医药, 2014, 10(6): 44-45.
- [3] 陈靖, 谢鑫, 吴成举, 等. 经方小柴胡汤对小鼠肝纤维化的改善作用及其机制的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(5): 1271-1274.
- [4] 岩崎学, 傅延龄. 用中医理论分析日本运用小柴胡汤导致的间质性肺炎 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2010, 16(12): 1149-1151.
- [5] Hsu L M, Huang Y S, Tsay S H, et al. Acute hepatitis induced by Chinese hepatoprotective herb, Xiao-Chai-Hu-Tang [J]. *J Chin Med Assoc*, 2006, 69(2): 86-88.
- [6] 李秀玉, 李超群, 张志敏, 等. 中药相关性肝损害研究——从理论到临床 [J]. 转化医学杂志, 2015, 4(4): 244-249.
- [7] 戈萌, 柴逸峰, 季红光, 等. 不同配伍组方小柴胡汤的人肝细胞毒性体外检测 [J]. 第二军医大学学报, 2007(11): 1266-1268.
- [8] 许海玉, 刘振明, 付岩, 等. 中药整合药理学计算平台的开发与应用 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(18): 3633-3638.
- [9] Liu H, Zhang H, Cui R, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  ameliorates perfluorododecanoic acid-induced production of reactive oxygen species in rat liver [J]. *Arch Toxicol*, 2016, 90(6): 1383-1397.
- [10] De Biase I, Viau K S, Liu A, et al. Diagnosis, treatment, and clinical outcome of patients with mitochondrial trifunctional pro-tein/long-chain 3-hydroxy acyl-CoA dehydrogenase deficiency [J]. *JIMD Rep*, 2017, doi: 10.1007/8904\_2016\_558.

- [11] 赵 鹏. 乙型肝炎患者血小板活化及血小板参数的变化观察 [J]. 中国医药指南, 2016, 14(35): 71.
- [12] 程天英. 雌激素对肝星状细胞 LX-2 趋化因子 CXCL10 表达及迁移的影响 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2013.
- [13] 张传涛, 黄 群, 刘业方, 等. 基于 microRNAs 调控的轻度慢性乙型肝炎炎症活动的分子机制研究 [J]. 重庆医学, 2016, 45(32): 4527-4530.
- [14] 刘海艳. 小柴胡汤治疗慢性乙型肝炎的临床研究 [J]. 光明中医, 2018, 33(19): 2844-2845.
- [15] 胡玉锋, 黄松华. 小柴胡汤联合肝病治疗仪治疗酒精性肝炎患者的临床效果 [J]. 医疗装备, 2018, 31(15): 21-22.
- [16] 曹 辉, 张 玮. 经方在治疗病毒性肝炎中的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(6): 1426-1429.
- [17] 马一铭, 张 盈. 小柴胡汤内科临床应用 [J]. 天津中医药大学学报, 2016, 35(3): 207-210.
- [18] 闫军堂, 孙良明, 刘晓倩, 等. 刘渡舟治疗黄疸八法 [J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(1): 28-31.
- [19] 房爱芹. 小柴胡汤加减对慢性乙型肝炎肝功能异常的疗效观察 [J]. 内蒙古中医药, 2017, 36(14): 48.
- [20] 乔喜婷, 王克穷, 代引海, 等. 小柴胡汤联合肝动脉化疗栓塞术治疗原发性肝癌的临床观察 [J]. 陕西中医, 2014, 35(7): 835-836.
- [21] 陈达民. 草药小柴胡汤引起的肝损害 [J]. 国外医学: 消化系疾病分册, 1996, 26(1): 61.
- [22] 曹 琼. 柴胡及其复方对肝毒性影响的研究进展 [A] // 2011 年全国医药学术论坛交流会暨临床药学与药学服务研究进展培训班论文集 [C]. 太原: 中国药理学会, 2011.
- [23] 温 静. 四逆散抗肝损伤药效物质基础与配伍机理研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2012.
- [24] 何 燕, 胡志峰, 李 平, 等. 柴胡皂苷 d 抗肝纤维化大鼠脂质过氧化作用的研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(8): 915-919.
- [25] 李晓宇, 李晓骄阳, 孙 蓉. 柴胡皂苷 d 对人肝细胞 L-02 “量-时-毒” 关系及机制研究 [J]. 中药药理与临床, 2016, 32(2): 87-90.
- [26] 黄 伟, 赵 燕, 孙 蓉. 基于柴胡皂苷类成分的保肝作用与肝毒性研究进展 [J]. 中国药物警戒, 2011, 8(1): 38-41.
- [27] 郑勇凤, 王佳婧, 傅超美, 等. 黄芩的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2016, 38(1): 141-147.
- [28] 李晓华, 黄顺德, 杨 洁. 黄芩苷联合拉米夫定治疗慢性乙型肝炎对细胞免疫的影响 [J]. 中药药理与临床, 2015, 31(4): 218-220.
- [29] 戈 萌. 小柴胡汤及其成分的肝毒性体外研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2008.
- [30] 王 威, 张秀珍. 枣树化学成分及其作用 [J]. 经济林研究, 1992, 10(2): 70-72.
- [31] 孙瑞娜, 张艳妮, 汪 俊, 等. 女贞子抗丙型肝炎病毒复制酶活性成分研究 [J]. 药学学报, 2013, 48(9): 1390-1396.
- [32] 徐亚沙. 长期给予齐墩果酸对小鼠的肝毒性研究 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2016.
- [33] 谢文学. 他克林的肝损伤机制及人参皂苷对不同肝细胞活力影响 [D]. 延吉: 延边大学, 2011.
- [34] 焉梦寒. 人参二醇组皂苷及 Rgs 对乙酰氨基酚诱导的肝损伤小鼠的保护作用及机制 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2017.
- [35] Wu J J, Roth R J, Anderson E J, *et al.* Mice lacking MAP kinase phosphatase-1 have enhanced MAP kinase activity and resistance to diet-induced obesity [J]. *Cell Metabol*, 2006, 4(1): 61-73.
- [36] Sabio G, Cavanagh-Kyros J, Ko H J, *et al.* Prevention of steatosis by hepatic JNK1 [J]. *Cell Metabol*, 2009, 10(6): 491-498.
- [37] Yan X, Qu Fan C, Jie A, *et al.* p38 Mitogen-activated protein kinase plays an inhibitory role in hepatic lipogenesis [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(7): 4975-4982.
- [38] 肖 默, 曾 涛. MAPK 信号通路在酒精性肝病发病中作用研究进展 [J]. 毒理学杂志, 2017, 31(6): 478-482.
- [39] 刘秉文, 陈俊杰. 医学分子生物学 [M]. 第 2 版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2006.
- [40] 石海燕, 李珏宏, 李昌平, 等. NF- $\kappa$ B、血管紧张素 II-1 型受体在大鼠非酒精性脂肪肝病中的作用及其机制 [J]. 实用医学杂志, 2015, 31(2): 197-200.
- [41] 严 威, 文 霆, 林素琼, 等. S1S3 逆转多药耐药肝癌细胞的干性作用 [J]. 中华肿瘤杂志, 2015, 37(10): 731-735.
- [42] 韦柳婷, 冯 洁, 莫书荣. PI3K-Akt 信号通路及肿瘤相关性的研究进展 [J]. 肿瘤学杂志, 2014, 20(4): 331-336.
- [43] 潘 澎, 刘绍能. PI3K/Akt 信号通路及肝纤维化 [J]. 临床肝胆病杂志, 2013, 29(5): 389-392.
- [44] 刘晖杰, 许 丹, 彭 荣. PI3K/Akt 途径在 MMC 诱导的肝干细胞凋亡中的作用 [J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2017, 46(1): 68-71.