

· 基础研究 ·

龙虎人丹防治过量对乙酰氨基酚诱导的
小鼠急性肝损伤的作用研究汪午屏¹ 董嘉乐¹ 丁礼琴² 金家骅² 兰 天^{1,3}

摘要 目的 观察龙虎人丹(LHRD)对过量对乙酰氨基酚(APAP)所致急性肝损伤的防治作用,探讨其防治药物性肝损伤的潜在分子机制。方法 取 30 只 C57BL/6J 小鼠随机分成正常对照组、APAP 模型组、N-乙酰-L-半胱氨酸(NAC)阳性对照组(50 mg/kg)、LHRD 低剂量(80 mg/kg)组和 LHRD 高剂量(160 mg/kg)组,固定时间灌胃给予相应药物 6 天,其中正常对照组和 APAP 模型组灌胃给予羧甲基纤维素钠(CMC-Na)。最后一次给药后所有小鼠禁食 22 h,腹腔注射 250 mg/kg APAP,其中正常对照组腹腔注射 PBS,6 h 后处死小鼠并取其血清和肝脏。采用试剂盒检测各组小鼠血清谷丙转氨酶(ALT)活性及肝脏中谷胱甘肽(GSH)含量;HE 染色观察肝脏组织形态学变化;荧光探针 DCFH-DA 法检测组织细胞内活性氧(ROS)表达;Western Blot 检测肝脏组织谷氨酸-半胱氨酸连接酶催化亚基(GCLC)和核酸内切酶 G(EndoG)表达。结果 与正常对照组比较,APAP 模型组血清 ALT 活性显著升高($P<0.01$),细胞损伤显著加重,EndoG 蛋白表达和 ROS 含量显著增加($P<0.01$),肝脏 GSH 含量及 GCLC 蛋白表达均下调($P<0.05$);与 APAP 模型组比较,NAC 阳性对照组及 LHRD 给药组血清 ALT 活性下降($P<0.05$),ROS 含量及 EndoG 蛋白表达下调($P<0.01$, $P<0.05$),肝组织形态均有改善,且肝脏 GSH 含量及 GCLC 蛋白表达量均显著上调($P<0.01$, $P<0.05$)。结论 LHRD 可改善过量对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤,其机制可能与增强肝脏抗氧化应激能力,保护肝细胞有关。

关键词 龙虎人丹;对乙酰氨基酚;急性肝损伤;氧化应激

Longhu Rendan Alleviated Overdose Acetaminophen-induced Acute Liver Injury in Mice WANG Wu-ping¹, DONG Jia-le¹, DING Li-qin², JIN Jia-hua², and LAN Tian^{1,3} 1 School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou (510006); 2 Research and Development Department, Shanghai Zhonghua Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai (201707); 3 Chinese Medicine Research Institute, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou (510006)

ABSTRACT Objective To observe the prevention and treatment of Longhu Rendan (LHRD) on acute liver injury (ALI) induced by acetaminophen (APAP) overdose, and to study potential molecular mechanisms for its prevention and treatment. **Methods** Thirty C57BL/6J mice were randomly divided into normal control group, APAP model group, N-acetyl-cysteine (NAC) positive control group (50 mg/kg), LHRD-low dose group (80 mg/kg), and LHRD-high dose group (160 mg/kg), 6 in each group. Corresponding drugs were administered to mice by gastrogavage at a fixed time for 6 successive days. Sodium carboxymethyl cellulose (CMC-Na) was administered to mice by gastrogavage to mice in the normal control group and the APAP model group. After the last administration, all mice were fasted for 22 h and APAP 250 mg/kg was intraperitoneally administered to them. PBS was intraperitoneally injected to mice in the normal control group. Mice were harvested after 6 h, serum and livers were collected for biochemical, histological, and immunological analyses. Serum alanine aminotransferase (ALT) activity and liver glutathi-

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No.81870420);广东药科大学-上海中华药业有限公司校企合作项目(No.HTDJ2017124)

作者单位:1. 广东药科大学药学院药理系(广州 510006); 2. 上海中华药业有限公司研发部(上海 201707); 3. 广东药科大学中医药研究院(广州 510006)

通讯作者:兰 天, Tel: 020-39352123, E-mail: lantian@gdpu.edu.cn

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20200219. 310

one (GSH) level were detected according to the manufacturer's instructions. Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to observe histomorphological changes of liver tissues. DCFH-DA, a fluorescence sensor for reactive oxygen species (ROS), was used to measure the ROS level in liver tissue. In addition, the expression of glutamate-cysteine ligase catalytic subunit (GCLC) and endonuclease G (EndoG) in liver tissues were detected by Western Blot. **Results** Compared with the normal control group, serum ALT activity in the APAP model group significantly increased ($P<0.01$). HE staining showed hepatocyte damage was significantly aggravated. Meanwhile, ROS content and EndoG protein expression ($P<0.01$) significantly increased. In addition, liver GSH level and GCLC protein expression were down-regulated ($P<0.05$). Compared with the model group, serum ALT activity was down-regulated ($P<0.01$, $P<0.05$), as well as the ROS level and EndoG protein expression were down-regulated to different degrees in NAC positive control group and LHRD treatment groups ($P<0.01$). Morphological changes of liver tissues were also alleviated. Moreover, liver GSH content ($P<0.01$, $P<0.05$) and GCLC protein expression ($P<0.01$) were significantly up-regulated. **Conclusion** LHRD had protective effect on ALI induced by excessive acetaminophen, and the mechanism was possibly related to enhancing capacities of antioxidant stress to protect liver cells.

KEYWORDS Longhu Rendan; acetaminophen; acute liver injury; oxidative stress

药物性肝损伤(drug-induced liver injury, DILI)是指由化学药物、生物制剂、抗生素、中药及中成药、膳食补充剂及其代谢产物等所诱发的肝损伤^[1]。其中对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)作为常用的非处方类解热镇痛药,它在推荐剂量下安全有效,然而过量可能导致肝毒性和急性肝衰竭,其肝毒性是美国和英国药物性肝衰竭最常见的原因^[2]。按照推荐剂量服用时,大多数 APAP 与葡萄糖醛酸或硫酸盐结合后随尿液排出体外,约 5%~9% 的 APAP 被细胞色素 P450 系统(主要是 CYP2E1)转化成有毒的活性代谢产物 N-乙酰对苯醌亚胺(N-acetyl-p-benzoquinone imine, NAPQI),NAPQI 再被谷胱甘肽(glutathione, GSH)迅速转化为无毒代谢物。然而,当 APAP 过量时,会导致 GSH 耗竭,NAPQI 的持续生成造成肝损伤^[3]。APAP 诱导的肝损伤模型中,GSH 耗尽的线粒体产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)增加,导致线粒体通透性发生改变,从而抑制线粒体的生物功能,核酸内切酶 G(endonuclease G, EndoG)和凋亡诱导因子(apoptosis-inducing factor, AIF)移位至细胞核,导致细胞核 DNA 断裂,最后导致肝细胞坏死^[4,5]。

N-乙酰-L-半胱氨酸(N-acetyl-L-cysteine, NAC)作为 APAP 中毒唯一有效的解毒剂,它必须在 APAP 消耗后尽早使用才能获得最大药效^[6],这对大多数 APAP 过量患者,尤其是那些无意过量服用 APAP 的患者来说,几乎不太可能实现。若治疗不及时导致病情发展至肝衰竭,肝衰竭唯一根治的手段是肝移植,但是由于时间紧急、供体稀缺、价格昂贵等多种因素,限制了其大范围应用。因此,需要寻找其他有

效的防治药物。

龙虎人丹是由薄荷脑、冰片、丁香、砂仁、八角茴香、肉桂、胡椒、木香、干姜、儿茶、甘草等多种药食同源的中药材及辅料制成的中成药,具开窍醒神、祛暑化浊、和中止呕的功效,主要用于中暑头晕、恶心呕吐、腹泻及晕车、晕船^[7]。既往研究表明,丁香^[8-12]、砂仁^[13]、八角茴香^[14]、肉桂^[15]、胡椒^[16]等中药的有效成分如丁香酚、砂仁多糖、肉桂总黄酮等均具有抗氧化作用,且木香^[17]和儿茶^[18]还具有保肝、利胆、解毒的药理作用。因此推测龙虎人丹也具有一定的抗氧化作用。故本实验采用过量 APAP 诱导急性肝损伤模型,探究龙虎人丹对急性肝损伤的防治作用,为其临床应用提供一定的实验依据。

材料与方法

1 动物 健康 SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠 30 只,6~8 周龄,体重为(20±2)g,购自广州中医药大学实验动物中心,动物生产许可证号:SCXK(粤)2018-0034,实验单位使用许可证编号:SYXK(粤)2017-0125。6 只/笼,自由饮水进食,饲养环境温度 22~26℃,湿度 50%~65%。本实验通过广东药科大学实验动物伦理委员会审查(No.gdpulac2019181)。

2 药物 龙虎人丹(上海中华药业有限公司,由薄荷脑、冰片、丁香、砂仁、八角茴香、肉桂、胡椒、木香、干姜、儿茶、甘草等多味中药组成,生产批号:161006,每丸重 0.04 g,低剂量浓度:4 mg/mL,高剂量浓度:8 mg/mL),对乙酰氨基苯酚(上海麦克林生化科技有限公司,货号:A800441,制备浓度 12.5 mg/mL)、NAC(上海麦克林生化科技有限公司,货号:

N800425, 制备浓度 2.5 mg/mL), 羧甲基纤维素钠 [CMC-Na, 生工生物工程(上海)股份有限公司, 货号: A501427], PBS 粉末(北京鼎国昌盛生物技术有限公司, 货号: BF-0011]。

3 主要试剂及仪器 GCLC 抗体(Protein-Tech Group, 货号: 12601-1-AP), EndoG 抗体(Afinity Biosciences, 货号: DF8541), β -actin 抗体(北京全式金生物技术有限公司, 货号: HC201-02), ALT 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司, 货号: C009-2-1), GSH 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司, 货号: A006-2-1), HE 染色液(北京雷根生物技术有限公司, 货号: DH0006), DCFH-DA 荧光探针(Sigma 公司, 货号: D6883)。

电子天平(LE203E/02, 德国 Mettler Toledo 仪器有限公司), 高速冷冻离心机(MicRO17R, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司), 微型蛋白电泳转印系统(041BR128072, 美国 Bio-Rad 公司), 化学发光仪(3300029-7Q, 上海勤翔科学仪器有限公司), 脱水机、包埋机(BT-120, BN-518, 湖北亚光医用电子有限公司), 切片机(HistoCore MULTICUT, 德国 Leica 公司), 显微镜(BX-UCB, 日本 Olympus 公司), 酶标仪(Multiskan GO, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

4 造模及干预方法 将 30 只雄性 C57BL/6J 小鼠随机均分成 5 组: 正常对照组、APAP 模型组、NAC 阳性对照组(50 mg/kg, 相当于临床成人的维持剂量)、龙虎人丹低剂量组(80 mg/kg, 相当于临床成人剂量的 10 倍)、龙虎人丹高剂量组(160 mg/kg, 相当于临床成人剂量 20 倍)。固定时间灌胃给予相应药物 6 天, 其中正常对照组和 APAP 模型组灌胃给予 CMC-Na。最后一次给药后, 除正常对照组, 其余组别小鼠参照参考文献[19]建立过量 APAP 诱导的急性肝损伤模型: 晚上 19:00 开始禁食, 22 h 后, 于次日下午 17:00 点造模, 即腹腔注射 250 mg/kg APAP, 正常对照组则腹腔注射 PBS, 给药体积均为 20 μ L/g。6 h 后收集血清及肝脏样本。APAP 只注射 1 次。

5 检测指标及方法

5.1 血清 ALT 测定 采用微板法, 按照试剂盒说明书操作: 处理后的血清样本置于室温环境稳定后, 用酶标仪于 510 nm 波长处测定各个孔的 OD 值, 根据标准曲线计算得出血清 ALT 值。

5.2 肝脏组织 HE 染色 将小鼠肝脏组织用 10% 的中性缓冲甲醛液固定, 脱水, 石蜡包埋、切片、脱蜡, 使用苏木素和伊红对组织进行染色, 脱水, 中性树脂封片, 镜下观察其肝脏组织形态学变化。

5.3 肝脏 GSH 水平检测 准确称取组织重量, 按重量(g): 体积(mL) = 1:9 比例, 加入 9 倍的生理盐水制成组织匀浆, 2 500 r/min, 离心 10 min, 取上清液按照说明书检测 GSH 含量。

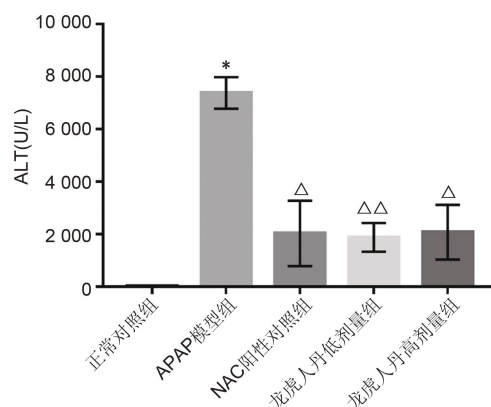
5.4 荧光探针 DCFH-DA 法检测组织细胞内的 ROS 表达 各组小鼠肝脏组织石蜡切片充分脱蜡后, 经荧光探针 DCFH-DA 孵育、PBS 漂洗、封片后于荧光显微镜下观察 ROS 的表达情况, ROS 表达与荧光强度成正比。采用 Image J 软件统计阳性染色面积。

5.5 Western Blot 检测肝脏组织 GCLC 和 EndoG 蛋白表达 各组小鼠肝脏组织经匀浆、离心后收集上清液, 采用 BCA 法测定蛋白浓度, 按照说明书配制分离胶及浓缩胶, 进行蛋白电泳后采用半干转印法将蛋白转至 PVDF 膜, 经 5% 脱脂牛奶封闭, GCLC (1:1 000) 及 EndoG (1:1 000) 一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 二抗 (1:5 000) 室温孵育 1 h, TBST 漂洗后显影及曝光。采用 Image J 软件进行灰度统计, 与 β -actin 对比得到目的蛋白的相对表达量。

6 统计学方法 采用 GraphPad Prism 7 软件进行分析, 成组设计的资料采用单因素方差分析, 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。P<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组小鼠血清 ALT 值比较(图 1) 与正常对照组比较, APAP 模型组血清 ALT 水平显著升高(P<0.01); 与 APAP 模型组比较, 龙虎人丹低、高剂量组及 NAC 阳性对照组血清 ALT 水平均显著降低(P<0.05, P<0.01)。

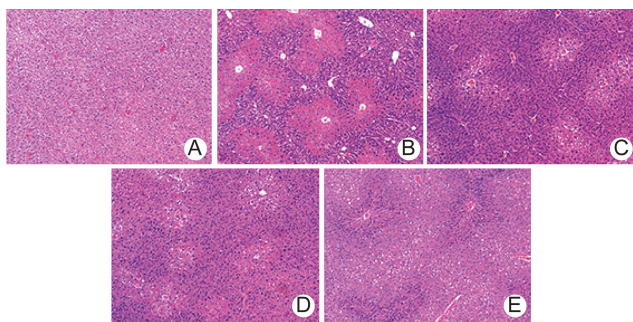


注: 与正常对照组比较, * P<0.01; 与 APAP 模型组比较, Δ P<0.05, $\Delta\Delta$ P<0.01

图 1 各组血清 ALT 活性比较

2 各组小鼠肝脏组织 HE 染色结果比较(图 2)

正常对照组肝小叶结构清晰,肝索围绕在中央静脉周围呈放射状排列,肝细胞核规则,肝细胞无变性或坏死,无明显炎性细胞浸润。APAP 模型组肝小叶结构模糊,出现大面积的肝细胞变性和坏死,损伤严重。NAC 阳性对照组及龙虎人丹低、高剂量组较 APAP 模型组均有不同程度的改善,表现为肝细胞变性和坏死面积减少。

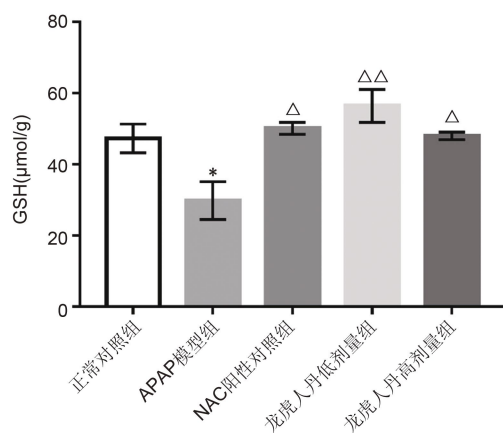


注:A 为正常对照组;B 为 APAP 模型组;C 为 NAC 阳性对照组;D 为龙虎人丹低剂量组;E 为龙虎人丹高剂量组

图 2 各组肝脏病理形态学观察结果 (HE 染色, ×100)

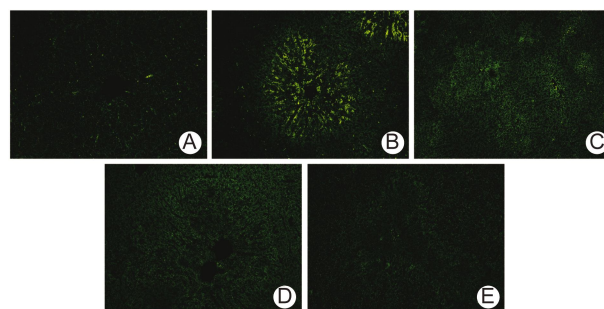
3 各组小鼠肝脏 GSH 水平比较(图 3) 与正常对照组比较,APAP 模型组肝脏 GSH 水平显著降低 ($P<0.05$);与模型组比较,龙虎人丹低、高剂量组及 NAC 阳性对照组肝脏 GSH 水平显著升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

4 各组小鼠肝脏 ROS 表达情况比较(图 4) 与正常对照组比较,APAP 模型组 ROS 含量显著上调 ($P<0.01$);与 APAP 模型组比较,龙虎人丹低、高剂量组及 NAC 阳性对照组 ROS 均有显著性下调 ($P<0.01$)。



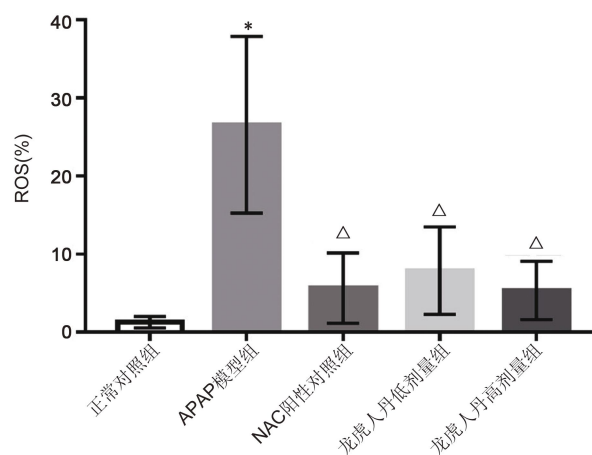
注:与正常对照组比较, * $P<0.05$;与 APAP 模型组比较, Δ $P<0.05$, ΔΔ $P<0.01$

图 3 各组肝脏组织 GSH 含量比较



注:A 为正常对照组;B 为 APAP 模型组;C 为 NAC 阳性对照组;D 为龙虎人丹低剂量组;E 为龙虎人丹高剂量组

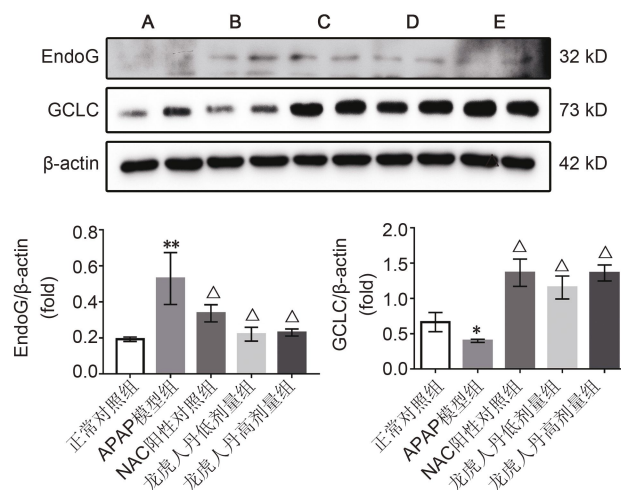
图 4 各组肝脏 ROS 表达 (DCFH-DA 染色, ×200)



注:与 APAP 模型组比较, Δ $P<0.01$

图 5 各组肝脏 ROS 表达比较

5 各组小鼠肝脏组织 GCLC 和 EndoG 蛋白表达比较(图 6) 与正常对照组比较,APAP 模型组肝脏



注:A 为正常对照组;B 为 APAP 模型组;C 为 NAC 阳性对照组;D 为龙虎人丹低剂量组;E 为龙虎人丹低剂量组;与正常对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与 APAP 模型组比较, Δ $P<0.01$

图 6 各组肝脏 GCLC、EndoG 蛋白表达比较

GCLC 蛋白表达显著下调 ($P < 0.05$), EndoG 蛋白表达显著上调 ($P < 0.01$); 与 APAP 模型组比较, 龙虎人丹低、高剂量组及 NAC 阳性对照组肝脏 GCLC 蛋白表达显著增加 ($P < 0.01$), EndoG 蛋白表达显著下调 ($P < 0.01$)。

讨 论

氧化应激是药物引起肝毒性的最常见原因^[20,21]。APAP 是目前应用最广泛的解热镇痛药物, 长期或过量服用会引起严重的肝损伤, 主要表现为肝坏死, 以肝脏小叶中央型坏死最为常见^[22]。

ALT 作为肝脏主要的功能酶之一, 会从坏死或变性的肝细胞释放到血液中, 因此血清 ALT 活性增高是急性肝细胞损伤的敏感标志。本研究中 APAP 模型组血清 ALT 活性较正常对照组显著增高, HE 染色结果及 ROS 含量辅助证明造模成功, 而龙虎人丹干预后肝细胞损伤情况得到较好改善, 说明龙虎人丹具有一定的保护作用。

GSH 是由谷氨酸、甘氨酸和半胱氨酸组成的三肽, 是体内的一种低分子清除剂, 可清除 H_2O_2 等, GSH 量的多少是衡量机体抗氧化能力的重要指标。本实验中 APAP 模型组 GSH 显著降低, 龙虎人丹干预后则显著上调, 证明龙虎人丹可通过上调 GSH 含量来改善肝损伤。

ROS 是引起氧化应激的主要活性分子, 主要由线粒体产生。ROS 可直接破坏线粒体膜, 使线粒体膜通透性增加, 出现水肿, 直接导致 EndoG 易位至细胞核从而发生 DNA 断裂, 最终导致细胞坏死^[5]。本实验中 APAP 造模后, 肝脏 ROS 含量及 EndoG 蛋白表达量均显著增加, 而龙虎人丹干预后, 出现明显下调, 证明龙虎人丹可能是通过抑制 ROS 的产生及 EndoG 的表达来改善 APAP 诱导的肝损伤。

在真核细胞中, 核因子 E2 相关因子 2 (nuclear-factor-E2-related factor 2, Nrf2) 信号通路是主要的抗氧化机制。一旦被激活 (如通过 Nrf2 转录后修饰), Nrf2 就会转位到细胞核中, 并与抗氧化反应元件 (antioxidant responsive element, ARE) 结合, 促进多种抗氧化基因和解毒酶的转录, 包括血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1)、GCLC 等^[23-25]。药物干预的小鼠肝脏 GSH 含量和 GCLC 蛋白表达量显著升高, 则表明小鼠肝脏抗氧化应激能力增强, 证实了龙虎人丹的调节作用。

普遍认为, 黄酮类成分具有较好的抗氧化作用。龙虎人丹由多味中药组成, 其中丁香、砂仁、八角茴香、

肉桂、胡椒和木香中均含有黄酮类成分。如丁香总黄酮清除 DPPH 自由基能力随浓度增大明显增强, 具有良好的抗氧化能力^[12]。体外抗氧化实验表明, 八角茴香中的黄酮类成分对 DPPH 自由基具有较好的清除效果, 抗氧化活性较强, 且八角茴香油对多种自由基均有明显的清除作用, 表明八角茴香油具有较强的抗氧化活性^[14]。此外, 砂仁多糖等活性成分也具有一定的抗氧化作用^[13], 且木香^[17]和儿茶^[18]具有保肝、利胆、解毒的药理作用。

综合本研究结果, APAP 造模小鼠存在肝功能的受损, 经龙虎人丹干预后, ALT 活性、ROS 含量和 EndoG 蛋白表达显著降低, 肝损伤程度显著减轻, 同时 GSH 含量和抗氧化蛋白 GCLC 表达显著增加, 治疗效果甚至优于阳性药 NAC, 推测可能是龙虎人丹中的黄酮类物质起主要作用, 通过抑制 ROS 的释放、EndoG 蛋白表达和提高 GSH 含量及抗氧化蛋白 GCLC 表达, 提高肝脏的抗氧化能力从而改善肝损伤。

利益冲突: 无。

参 考 文 献

- [1] Andrade RJ, Chalasani N, Björnsson ES, et al. Drug-induced liver injury[J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5(1): 1-22.
- [2] Lee WM. Acetaminophen and the U. S. acute liver failure study group: Lowering the risks of hepatic failure[J]. Hepatology, 2004, 40(1): 6-9.
- [3] Lancaster EM, Hiatt JR, Zarrinpar A. Acetaminophen hepatotoxicity: an updated review[J]. Arch Toxicol, 2015, 89(2): 193-199.
- [4] Hanawa N, Shinohara M, Saberi B, et al. Role of JNK translocation to mitochondria leading to inhibition of mitochondria bioenergetics in acetaminophen-induced liver injury[J]. J Biol Chem, 2008, 283(20): 13565-13577.
- [5] Bajt ML, Cover C, Lemasters JJ, et al. Nuclear translocation of endonuclease G and apoptosis-inducing factor during acetaminophen-induced liver cell injury[J]. Toxicol Sci, 2006, 94(1): 217-225.
- [6] Ramachandran A, Jaeschke H. Mechanisms of acetaminophen hepatotoxicity and their translation to the human pathophysiology[J]. J Clin Transl Res, 2017, 3(1): 157-169.
- [7] 李显华, 潘伟, 金佳骅, 等. 龙虎人丹抗晕动、抗中暑、镇呕作用研究[J]. 中药药理与临床, 2009, 25(1): 61-62.
- [8] 朱金段, 袁德俊, 林新颖. 丁香的药理研究现状及临床

- 应用[J]. 中国药物经济学, 2013, 8(1): 32-35.
- [9] 张慧芸, 申云翔, 任国艳. 丁香多酚细胞抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(19): 147-149.
- [10] 方雪祥, 袁慧慧, 单艳超, 等. 丁香酚与丁香醛缩二甲醇联合抗氧化作用研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(2): 21-26.
- [11] 美丽, 朱懿敏, 罗晶, 等. 丁香化学成分、药效及临床应用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(15): 222-227.
- [12] 黄晶玲, 江汉美, 屠寒, 等. 丁香总黄酮抗氧化活性研究[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(9): 117-119.
- [13] 陆山红, 赵荣华, 么晨, 等. 砂仁的化学及药理研究进展[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(1): 227-230.
- [14] 赵二芳, 徐未芳, 刘乐. 八角茴香抗氧化活性研究进展[J]. 中国调味品, 2019, 44(5): 194-196.
- [15] 侯小涛, 郝二伟, 秦健峰, 等. 肉桂的化学成分、药理作用及质量标志物(Q-marker)的预测分析[J]. 中草药, 2018, 49(1): 20-34.
- [16] 于岚, 郝正一, 胡晓璐, 等. 胡椒的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.20192149.
- [17] 毛景欣, 王国伟, 易漫, 等. 川木香化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2017, 48(22): 4797-4803.
- [18] 井玥, 赵余庆, 倪春雷. 儿茶的化学、药理与临床研究[J]. 中草药, 2005, 36(5): 790-792.
- [19] Furuta K, Yoshida Y, Ogura S, et al. Gab1 adaptor protein acts as a gatekeeper to balance hepatocyte death and proliferation during acetaminophen-induced liver injury in mice[J]. Hepatology, 2016, 63(4): 1340-1355.
- [20] Aycan IÖ, Tüfek A, Tokgöz O, et al. Thymoquinone treatment against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats[J]. Int J Surg, 2014, 12(3): 213-218.
- [21] Wang AY. *Gentiana manshurica* Kitagawa prevents acetaminophen-induced acute hepatic injury in mice via inhibiting JNK/ERK MAPK pathway[J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(3): 384-391.
- [22] Jaeschke H, Williams CD, Ramachandran A, et al. Acetaminophen hepatotoxicity and repair: the role of sterile inflammation and innate immunity[J]. Liver Int, 2012, 32(1): 8-20.
- [23] Suzuki T, Yamamoto M. Molecular basis of the Keap1-Nrf2 system[J]. Free Radic Biol Med, 2015, 88(Pt B): 93-100.
- [24] Li W, Kong AN. Molecular mechanisms of Nrf2-mediated antioxidant response[J]. Mol Carcinogenesis, 2009, 48(2): 91-104.
- [25] Itoh K, Tong KI, Yamamoto M. Molecular mechanism activating nrf2-keap1 pathway in regulation of adaptive response to electrophiles[J]. Free Radical Biol Med, 2004, 36(10): 1208-1213.
- (收稿: 2019-10-09 在线: 2020-04-09)
责任编辑: 李焕荣
英文责编: 张晶晶