

· 综述 ·

二至丸及其组成药味保肝药理作用研究进展

胡冬梅^{1,2}, 陈小玲³, 陆 杨¹, 房敏峰², 王婧雯¹, 文爱东¹ (1. 第四军医大学附属西京医院药剂科, 陕西 西安 710032; 2. 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069; 3. 空军 94647 部队 63 分队, 福建 福州 350026)

[摘要] 二至丸由女贞子和墨旱莲两味中药组成, 这两味药及其组方均有不同程度的保肝作用。二至丸中含有多种保肝有效成分, 主要有三萜类、环烯醚萜类、苯乙醇-苷类、香豆素醚类等, 它们能对抗多种化学性肝损伤、抗缺血再灌注性肝损伤以及抗肝纤维化等, 其保肝作用机制包括抗氧化应激、抗炎、抑制肝星状细胞增殖和活化、促进肝星状细胞凋亡以及影响肝细胞代谢过程等。总结二至丸及其组成药味女贞子和墨旱莲的保肝作用, 探讨其保肝作用机制, 以期为进一步研究二至丸药效物质基础提供参考。

[关键词] 二至丸; 女贞子; 墨旱莲; 肝损伤; 保肝作用

[中图分类号] R93; R96

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)04-0289-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.04.001

Research progress on hepatoprotective effects of Erzhiwan and its components

HU Dongmei^{1,2}, CHEN Xiaoling³, LU Yang¹, FANG Minfeng², WANG Jingwen¹, WEN Aidong¹ (1. Department of Pharmacy, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 2. College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China; 3. No. 63 Troops, The Air Force of 94647, Fuzhou 350026, China)

[Abstract] Erzhiwan includes two components of Chinese herbal medicines — *Ligustri Lucidi Fructus* and *Herba Ecliptae*. *Ligustri Lucidi Fructus*, *Herba Ecliptae* and their formulation have various hepatoprotective effects. There are many active ingredients in the formulation, such as triterpenes, iridoids, phenethyl alcohol-glucosides, coumarin ethers, etc. They can resist various chemistry-induced hepatic injury, ischemia reperfusion induced hepatic injury, and hepatic fibrosis. The mechanisms of hepatoprotective effect include anti-oxidative stress, anti-inflammatory, inhibition of hyperplasia and activation of liver stellate cell, motivating the apoptosis of liver stellate cell, influencing the metabolic processes of liver cell, ect. We reviewed and summarized the hepatoprotective effects of Erzhiwan and its components *Ligustri Lucidi Fructus* and *Herba Ecliptae* and explore the mechanisms of hepatoprotective effect in order to provide information for further research of pharmacodynamic material base.

[Key words] Erzhiwan; *Ligustri Lucidi Fructus*; *Herba Ecliptae*; hepatic injury; hepatoprotective effect

二至丸,原名“女贞丹”,出自明代吴旻辑的《扶寿精方》,由女贞子(酒蒸)和墨旱莲两味中药等量(1:1)组成。两味药合用,其性平和、偏寒,能补阴而不滋腻,为平补肝肾之良剂,广泛用于临床各种肝损伤的治疗。近年来大量基础研究表明,二至丸及其组成药味女贞子和墨旱莲对于多种动物肝损伤模型具有保肝作用,本综述归纳总结其保肝作用机制。笔者以“二至丸”、“女贞子”、“墨旱莲”、“保肝”、“Erzhiwan”、“Erzhi pill”、“*Ligustri Lucidi Fruc-*

tus”、“*Herba Ecliptae*”、“hepatoprotective effect”等为关键词,在查阅 2005—2015 年在 Pub Med、中国知网、维普和万方数据库中关于二至丸及其组成药味保肝作用的相关文献的基础上,进行归纳总结。共查阅相关文献 350 篇,其中有效文献 26 篇,通过综述其保肝药理作用,为进一步深入研究其药理作用机制和药效物质基础提供参考。

1 二至丸的保肝作用

二至丸中女贞子和墨旱莲两味药都含有丰富的黄酮类物质,该类物质富含酚羟基,具有较强的抗氧化能力,因此推测其具有保肝作用^[1,2]。

多项研究发现,二至丸及其水提取物,70%乙醇洗脱部位,乙酸乙酯、石油醚和正丁醇部分提取物等有效部位群对由四氯化碳(CCl₄)、扑热息痛、乙醇、

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81302627)

[作者简介] 胡冬梅,硕士研究生.Tel:(029)84775475-8301;E-mail:15388602172@126.com

[通讯作者] 文爱东,主任药师,博士生导师.研究方向:临床药学.Tel:(029)84775475-8101;E-mail:adwen@fmmu.edu.cn

硫代乙酰胺等化学试剂所致的急性肝损伤模型具有不同程度的保肝作用,均能降低肝损伤模型动物血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)的水平,且呈现剂量依赖性;能减少模型动物肝组织匀浆中丙二醛(MDA)的含量,增强超氧化物歧化酶(SOD)的活性等;并且能改善肝组织的病理变化^[1,3-7]。体外研究发现,二至丸各部分有效提取物尚能不同程度地降低由CCl₄所致肝细胞培养上清液中ALT和AST水平,并使MDA的含量增高,提高肝细胞存活率并改善SOD、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力的降低^[8-12]。总之,二至丸保肝机制可能与其所具有的抗脂质过氧化作用有关。

姚卫峰等^[13]研究CCl₄致急性肝损伤模型大鼠血浆内源性代谢物质的变化特点和二至丸对异常代谢的调节作用,运用快速分离液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱技术(HPLC/QTOF-MS)鉴定出9种潜在的代谢标志物;并且通过独特通路分析(IPA),找到2条肝损伤代谢通路:甘油磷脂代谢通路和甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸代谢通路。之后,Yao等^[14]又用同样方法鉴定出6种潜在的代谢生物标志物:色氨酸、二氢(神经)鞘氨醇、四氢皮质酮、哌可酸、L-2-氨基-3-氧代丁酸、磷酸核糖焦磷酸。通路分析显示,这些代谢产物的变化与色氨酸代谢、鞘脂代谢、类固醇激素合成、赖氨酸降解、甘氨酸/丝氨酸及苏氨酸代谢以及戊糖磷酸代谢相关联。提示二至丸的保肝作用机制可能与调节多个紊乱代谢途径至正常状态有关。

2 女贞子的保肝作用

女贞子是木樨科植物女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 的成熟的干燥果实,是一味传统的扶正固本的药物,药用历史悠久。性味甘、苦、凉,归肝、肾经,能滋补肝肾、明目乌发,用于肝肾阴虚、眩晕耳鸣、腰膝酸软、须发早白、目暗不明、内热消渴、骨蒸潮热等病症^[15]。现代研究表明,女贞子中含有多种保肝活性成分:三萜类成分如齐墩果酸、乙酰齐墩果酸、熊果酸等;环烯醚萜类化合物如女贞苷、特女贞苷、10-羟基女贞苷、新女贞子苷等;苯乙醇-苷类化合物如对羟基苯乙醇-β-D 葡萄糖苷(红景天苷);女贞子多糖等。这些有效物质对肝脏的保护作用可能是通过清除氧自由基和抗肝纤维化实现的。

2.1 女贞子粗提物的保肝作用 Lin等^[16]研究女贞子醇提物(20%)抗氧化活性及其对丁羟甲苯诱导的大鼠氧化应激作用,结果表明其具有抗氧化应激作用,250、500及1 000 mg/kg的女贞子醇提物能显

著降低大鼠血清尿素氮(BUN)、ALT、AST、碱性磷酸酶(sALP)、乳酸脱氢酶(LDH)、三酰甘油(TG)和肌酐(Cr)水平,它也显著降低了肝脏脂质过氧化水平;提高了过氧化氢酶(CAT)、SOD和GSH-Px的水平。总之,女贞子醇提物对丁羟甲苯诱导的大鼠氧化应激的保护作用可能是通过上调抗氧化酶实现的。

苏慧等^[17]观察女贞子对抗氧化损伤通路相关基因mRNA表达的影响,发现连续给予小鼠1.2 g/kg女贞子水提浸膏8 d,能够显著增加小鼠肝脏中金属硫蛋白(MT-1)及核因子相关因子2(Nrf2)mRNA的表达,且Nrf2调控的下游脱氢酶辅酶NAD(P)H:醌氧化还原酶1(NQO1)及血红素氧合酶(HO-1)mRNA的表达均表现为增高趋势。因此,女贞子保肝作用机制可能与上调Nrf2 mRNA的表达有关,另外,也与促进NQO1和HO-1的表达有关。

2.2 女贞子多糖的保肝作用 吕娟涛^[18]发现对CCl₄诱导的肝损伤模型小鼠灌胃50~200 mg/(kg·d)的女贞子多糖(由鼠李糖、阿拉伯糖、葡萄糖及岩藻糖组成),能不同程度地对抗ALT及AST的升高,说明女贞子多糖可对抗肝细胞膜通透性病变;对抗γ-谷氨酰转氨酶(γ-GT)的升高,提示女贞子多糖可对抗肝损伤;对抗碱性磷酸酶(AP)的升高及肝脏指数的升高,提示女贞子多糖可对抗肝内、外胆道阻塞;病理切片显示,受损肝组织病理学变化得到明显改善,提示女贞子多糖可对抗小鼠肝组织充血、水肿及脂肪变性,及肝细胞变性或坏死。

2.3 女贞苷的保肝作用 李阳等^[19]从女贞子中分离得到了2种裂环环烯醚萜苷类成分:女贞苷(nuezhenoside)和女贞苷G13,并且研究了两者对于二苯基苦基苯肼(DPPH)自由基的清除作用,结果表明,两者均有显著的抗氧化活性且呈剂量依赖性,其中,女贞苷G13清除DPPH自由基的作用比女贞苷强,说明裂环环烯醚萜苷类结构对清除自由基具有重要作用。

3 墨旱莲的保肝作用

墨旱莲为菊科植物鳢肠 *Eclipta prostrata* L. 的干燥的地上部分,具有滋补肝肾、凉血止血的功效。现代研究发现墨旱莲保肝有效成分主要为香豆素醚类成分螾螬菊内酯和三萜皂苷类。

3.1 墨旱莲粗提物的保肝作用 石变华等^[20]研究墨旱莲水煎剂的延缓单纯D-半乳糖损伤小鼠肝脏衰老作用时发现,与模型组小鼠相比,墨旱莲水煎剂

组的 SOD 和 GSH-Px 活性显著升高且 MDA 含量显著降低,并呈剂量依赖性;与模型组小鼠相比,墨旱莲水煎剂组肝细胞病理学形态明显改善。提示墨旱莲水煎剂具有延缓肝脏衰老的作用,其作用机制可能是通过增强肝细胞活力、改善肝细胞功能来增加肝组织中 SOD 和 GSH-Px 的合成,并提高 SOD 和 GSH-Px 的活性,从而延缓肝脏衰老。

3.2 螞蟥菊内酯的保肝作用 多项研究^[21,22]认为墨旱莲所含有的香豆素醚成分螞蟥菊内酯和去甲螞蟥菊内酯可能是保肝的有效成分,这两种成分对 CCl₄、醋氨酚等所致大鼠肝损伤均有明显的肝保护作用,且以螞蟥菊内酯的作用更强。

许静等^[23]研究螞蟥菊内酯对大鼠肝缺血再灌注损伤作用,发现螞蟥菊内酯作为 5-脂肪氧化酶抑制剂,可加速清除氧自由基,减少脂质过氧化物的发生,从而稳定肝细胞膜结构,减轻自由基对肝细胞的损害作用,对抗肝缺血再灌注损伤。

徐汝明等^[24]研究中药墨旱莲活性成分对刀豆蛋白 A (ConA) 诱导的小鼠肝损伤模型的影响,发现墨旱莲提取物能降低肝损伤小鼠的血清 ALT 水平,对抗 ConA 诱导的小鼠肝细胞凋亡。体外活性成分筛选出的螞蟥菊内酯,能选择性地抑制 ConA 诱导的 T 淋巴细胞的活化,从而减轻 T 细胞介导的炎症反应对肝细胞的损伤作用,10 μg/ml 的螞蟥菊内酯能完全拮抗 ConA 诱导的小鼠肝损伤作用。

Xia 等^[25]研究螞蟥菊内酯抗肝星状细胞 LX-2 纤维化的作用,发现螞蟥菊内酯能够抑制肝星状细胞 LX-2 的活性,且呈时间-剂量依赖性。潜在机制可能包括诱导 B 细胞淋巴瘤 (Bcl-2) 相关细胞凋亡,上调细胞外信号调节激酶 (ERK) 和 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 表达的磷酸化水平,抑制细胞核因子-κB (NF-κB) 介导的细胞活性。

3.3 三萜皂苷类成分的保肝作用 墨旱莲含有的三萜皂苷类有效成分主要为齐墩果烷型,如齐墩果酸、熊果酸等。Lee 等^[26]研究墨旱莲中的三萜类成分对抗肝星状细胞增殖作用,发现其甲醇提取物能显著抑制肝星状细胞增殖活性,而肝星状细胞在肝纤维化的发病进程中发挥着重要作用。

4 结语

二至丸记载于明代医家王三才所著的《医便》:“清上补下第一方,价廉而功极大”,是治疗肝肾阴虚的要药。本文综述了近 10 年来国内外相关研究成果,二至丸及其组成药味女贞子和墨旱莲具有保肝的药理作用已经得到证实,女贞子及墨旱莲中均含

有多种有效成分,它们能对抗多种化学性肝损伤、抗缺血再灌注性肝损伤以及抗肝纤维化等,其保肝作用机制包括抗氧化应激、抗炎、抑制肝星状细胞增殖和活化、促进肝星状细胞凋亡以及影响肝细胞代谢过程等。二至丸保肝作用的疗效确切,然而,目前对二至丸的药理作用机制研究尚不够深入,体内效应成分目前尚未完全明确,当前研究主要集中在体外提取的活性成分组群上,没有对有效成分的体内代谢过程及其协同关系进行深入研究。在保肝作用机制研究方面,只是分散地研究了二至丸对肝细胞损伤的形态学变化以及调节免疫功能和抗炎作用机制,没有进一步深入研究二至丸保肝降酶的多靶点整合协同作用机制。下一步应当对二至丸及其有效成分的多靶点整合协同作用机制进行研究,阐释其科学配伍内涵,以更好地开发和利用二至丸。

【参考文献】

- [1] 闫冰,丁安伟,张丽.二至丸水提物对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(14):131-134.
- [2] 袁继承,蒋永和,沈志滨.旱莲草化学成份的研究进展[J].亚太传统医药,2009,5(1):125-128.
- [3] 聂映,姚卫峰.二至丸不同极性部位对抗大鼠酒精性肝损伤的作用及机制[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(20):145-149.
- [4] 蔡秀江,丁安伟,闫冰,等.二至丸保肝活性成分群对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(20):145-148.
- [5] 闫冰,丁安伟,张丽.二至丸提取物对小鼠四氯化碳急性肝损伤的保护作用[J].中国中药杂志,2010,35(22):3080-3083.
- [6] 闫冰,李黎,陈星,等.二至丸的保肝活性部位群对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(1):216-219.
- [7] 聂映,姚卫峰.二至丸对乙醇诱导的大鼠急性肝损伤的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(12):153-156.
- [8] 闫冰,丁安伟,张丽.二至丸对氧化性肝细胞损伤的保护作用研究[J].中国药房,2010,21(31):2886-2887.
- [9] 闫冰,丁安伟,张丽.二至丸水提物对体外肝细胞损伤的保护作用[J].药学实践杂志,2010,28(6):433-436.
- [10] 蔡秀江,闫冰,姚卫峰,等.二至丸保肝活性成分群对体外肝细胞损伤的保护作用[J].辽宁中医杂志,2012,39(2):212-215.
- [11] 闫冰,丁安伟,张丽.二至丸提取物对体外肝细胞损伤的保护作用[J].中国新药杂志,2010,19(21):1976-1979.
- [12] 蔡秀江,闫冰,姚卫峰,等.二至丸保肝活性成分群对体外肝细胞损伤的保护作用[J].中国药理学通报,2011,27(12):1774-1775.
- [13] 姚卫峰,蒋叶娟,蔡秀江,等.二至丸对四氯化碳致大鼠急性肝损伤血浆代谢组学研究[J].中国药理学杂志,2013,48(10):808-813.

- inhibits angiotensin II-induced vascular remodeling via down-regulation of β -catenin [J]. *Hypertension*, 2016, 67(1): 153-162.
- [15] Yu Y, Cai Z, Cui M, *et al.* The orphan nuclear receptor Nur77 inhibits low shear stress-induced carotid artery remodeling in mice[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36(6): 1547-1555.
- [16] Bonta PI, van Tiel CM, Vos M, *et al.* Nuclear orphan receptors Nur77, Nurr1 and NOR-1 expressed in atherosclerotic lesion macrophages reduce lipid loading and inflammatory responses[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(10): 2288-2294.
- [17] Pei L, Castrillo A, Chen M, *et al.* Induction of NR4A orphan nuclear receptor expression in macrophages in response to inflammatory stimuli[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(32): 29256-29262.
- [18] Pei L, Castrillo A, Tontonoz P. Regulation of macrophage inflammatory gene expression by the orphan nuclear receptor Nur77[J]. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(4): 786-794.
- [19] Shao Q, Shen LH, Hu LH, *et al.* Nuclear receptor Nur77 suppresses inflammatory response dependent on COX-2 in macrophages induced by oxLDL [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2010, 49(2): 304-311.
- [20] Hanna RN, Shaked I, Hubbeling HG, *et al.* NR4A1 (Nur77) deletion polarizes macrophages toward an inflammatory phenotype and increases atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2012, 110(3): 416-427.
- [21] Hu YW, Zhang P, Yang JY, *et al.* Nur77 decreases atherosclerosis progression in apoE (-/-) mice fed a high-fat/high-cholesterol diet [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(1): e87313.
- [22] Gruber F, Hufnagl P, Hofer-Warbinek R, *et al.* Direct binding of Nur77/NAK-1 to the plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) promoter regulates TNF alpha -induced PAI-1 expression[J]. *Blood*, 2003, 101(8): 3042-3048.
- [23] You B, Jiang YY, Chen S, *et al.* The orphan nuclear receptor Nur77 suppresses endothelial cell activation through induction of Ikappa Balpha expression[J]. *Circ Res*, 2009, 104(6): 742-749.
- [24] Zeng H, Qin L, Zhao D, *et al.* Orphan nuclear receptor TR3/Nur77 regulates VEGF-A-induced angiogenesis through its transcriptional activity [J]. *J Exp Med*, 2006, 203(3): 719-729.
- [25] Yang P, Wei X, Zhang J, *et al.* Antithrombotic effects of Nur77 and Nor1 are mediated through upregulating thrombomodulin expression in endothelial cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 36(2): 361-369.
- [26] Qin Q, Chen M, Yi B, *et al.* Orphan nuclear receptor Nur77 is a novel negative regulator of endothelin-1 expression in vascular endothelial cells[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 77: 20-28.
- [27] Zhan Y, Du X, Chen H, *et al.* Cyclosporine B is an agonist for nuclear orphan receptor Nur77 [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(9): 548-556.
- [28] Huo Y, Yi B, Chen M, *et al.* Induction of Nur77 by hyperoside inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal formation[J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 92(4): 590-598.
- [29] Pekarsky Y, Hallas C, Palamarchuk A, *et al.* Akt phosphorylates and regulates the orphan nuclear receptor Nur77[J]. *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 2001, 98(7): 3690-3694.
- [30] Lee SO, Li X, Hedrick E, *et al.* Diindolylmethane analogs bind NR4A1 and are NR4A1 antagonists in colon cancer cells [J]. *Mol Endocrinol*, 2014, 28(10): 1729-1739.
- [收稿日期] 2016-01-28 [修回日期] 2016-04-22
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 291 页)

- [14] Yao WF, Gu HW, Zhu JJ, *et al.* Integrated plasma and urine metabolomics coupled with HPLC/QTOF-MS and chemometric analysis on potential biomarkers in liver injury and hepatoprotective effects of Er-Zhi-Wan [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406(28): 7367-7378.
- [15] 陆小鸿, 女贞子, 肝肾卫士[J]. *森林医学*, 2015, 5: 22-23.
- [16] Lin HM, Yen FL, Ng LT, *et al.* Protective effects of Ligustrum lucidum fruit extract on acute butylated hydroxytoluene-induced oxidative stress in rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 111(1): 129-136.
- [17] 苏慧, 李翔, 李志毅, 等. 女贞子保肝作用机制的研究[J]. *华西药学杂志*, 2014, 29(4): 380-382.
- [18] 吕娟涛, 汤浩. 女贞子多糖对肝损伤保护作用的实验研究[J]. *中国医院药学杂志*, 2010, 30(12): 1024-1025.
- [19] 李阳, 左燕, 孙文基. 女贞子中 2 种主要裂环环醚萜苷成分分离鉴定及其抗氧化活性研究[J]. *中药材*, 2007, 30(5): 543-546.
- [20] 石变华, 庄晓燕, 白秀珍. 墨旱莲水煎剂延缓肝脏衰老作用的研究[J]. *数理医药学杂志*, 2010, 23(3): 336-339.
- [21] 李春洋, 白秀珍, 程静, 等. 墨旱莲全草、茎、叶提取液对肝保护作用的研究[J]. *数理医药学杂志*, 2005, 18(6): 586-588.
- [22] 李春洋, 白秀珍, 杨学东. 墨旱莲提取物对肝保护作用的影响[J]. *数理医药学杂志*, 2004, 17(3): 249-250.
- [23] 许静, 陈杰, 孙萍萍, 等. 蟛蜞菊内酯抗大鼠肝缺血再灌注损伤作用的研究[J]. *时珍国医国药*, 2014, 25(9): 2058-2059.
- [24] 徐汝明, 邓克敏, 陆阳. 墨旱莲活性成分对刀豆蛋白 A 诱导的小鼠肝损伤的作用[J]. *上海交通大学学报*, 2010, 30(1): 50-54.
- [25] Xia YZ, 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.
- [26] Lee MK, Ha NR, Yang H, *et al.* Antiproliferative activity of triterpenoids from *Eclipta prostrata* on hepatic stellate cells [J]. *Phytomedicine*, 2008, 15(9): 775-780.
- [收稿日期] 2015-08-28 [修回日期] 2015-10-19
[本文编辑] 李睿旻