

# 栀子苷保肝利胆和肝毒性双重作用的研究进展

王荣慧<sup>1,2,3</sup>, 吴虹<sup>1,2,3</sup>, 王梦蝶<sup>1,2,3</sup>, 邓然<sup>1,2,3</sup>, 王言<sup>1,2,3</sup>, 戴学静<sup>1,2,3</sup>,  
占翔<sup>1,2,3</sup>, 孙明慧<sup>1,2,3</sup>, 卜妍红<sup>1,2,3</sup>, 张衡<sup>1,2,3</sup>

(1. 安徽中医药大学药学院, 安徽合肥 230012; 2. 新安医学教育部重点实验室, 安徽合肥 230012; 3. 中药复方安徽省重点实验室, 安徽合肥 230012)

**[摘要]** 栀子苷是中药栀子的主要药用活性成分, 对肝脏具有一定的保护作用。然而, 近年来不断有研究报道栀子苷具有一定的肝毒性。研究表明, 栀子苷对肝脏的保护作用是多方面的, 其能够调节肝微粒体酶的活性; 诱导信号通路的激活进而调控相关肝细胞的凋亡和炎症因子的释放; 此外, 栀子苷对氧化应激反应具有一定的抑制作用, 能够清除肝组织内的自由基, 减少自由基的生成; 促进脂肪代谢, 对代谢障碍引起的肝脏损伤具有治疗作用。栀子苷产生肝毒性作用是由患者个体的差异性、给药途径不同、给药剂量不同、肠道内 pH 差异造成的。栀子苷造成肝毒性的机制与其半缩醛结构相关。

**[关键词]** 栀子苷; 保肝利胆; 肝脏毒性

**[中图分类号]** R285.5 **[DOI]** 10.3969/j.issn.2095-7246.2020.03.022

中药栀子为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides Ellis* 的干燥成熟果实, 具有广泛的药理学作用<sup>[1]</sup>。栀子含有栀子苷、绿原酸、藏红花素等活性成分<sup>[2]</sup>, 具有保肝利胆、抗炎、抗抑郁、抗氧化、神经保护等多种药理活性, 对糖尿病肝脏损伤、抑郁症、自身免疫性疾病有一定的防治作用<sup>[3-4]</sup>。其中, 栀子苷作为中药栀子的主要活性成分在治疗肝脏疾病方面发挥了重要的作用。然而, 近年来研究表明, 栀子苷具有肝脏毒性, 这使得栀子苷的应用受到了一定的限制, 阻碍了临床处方中栀子的广泛使用。现就栀子苷对肝脏的保护与致毒作用机制作一综述, 为栀子的临床应用提供参考。

## 1 栀子苷对肝脏保护作用研究

肝脏是人体内最大的器官, 也是新陈代谢最主要的器官, 具有一定的解毒作用。一般药物主要通过该器官代谢, 药物本身或其代谢产物会对肝脏造成不同程度的损伤<sup>[5]</sup>, 常见于药源性肝损伤。此外, 一些不良的生活习惯、病原体感染、代谢障碍等, 也会对肝脏造成一定的损伤。在研究过程中, 大多数动物肝损伤性模型是由四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl<sub>4</sub>)所构建。CCl<sub>4</sub> 是一种毒性物质, 具有促进肝脏脂肪沉积以及小叶中央坏死的作用。Tian 等<sup>[6]</sup> 研究发现, 茵陈蒿汤具有肝脏保护作用, 其成分中栀子苷含量最高, 由此推断在一定剂量范围内, 栀

子苷是茵陈蒿汤的主要药效物质, 对肝损伤具有一定的保护作用。而吴欢等<sup>[7]</sup> 对正常大鼠灌胃 60 mg/kg 栀子苷后, 发现肾脏与肝脏药物浓度最高, 且栀子苷有较好的生物利用度, 在体内有较好的吸收。

栀子苷对肝脏的保护作用, 是通过不同的机制效应来实现的。其中对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)对肝细胞具有明显的毒性损伤作用, 能够造成药源性肝损伤。Yang 等<sup>[8]</sup> 观察栀子苷对 APAP 造成的急性肝损伤模型小鼠的影响, 结果显示, 栀子苷能够通过下调 CYP2E1 肝微粒体酶活性, 同时抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路的表达, 减少前炎症因子的释放, 进一步减弱免疫性肝损伤, 从而有效地保护肝细胞免受药物的毒性影响。

栀子苷在临床相关肝脏疾病的治疗中发挥重要作用。肝纤维化是肝细胞外间隙 I 型胶原蛋白沉积增多的结果, 会导致肝实质和肝结构的破坏。转化生长因子  $\beta$ 1(transforming growth factor  $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)在肝纤维化的发病机制中起着至关重要的作用, 是胶原蛋白生成的有力诱导剂。小鼠体外研究结果表明, 栀子苷对 TGF- $\beta$ 1 诱导的 I 型胶原表达有明显的抑制作用, 且信号转导蛋白 Smad 2/3、细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK)和蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB)即 AKT 的磷酸化几乎完全阻断。Smad 2/3 已被证明是 TGF- $\beta$ 1 诱导上皮间充质转化的关键效应因子。由此可以推测, 栀子苷能抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的肝纤维化, 这种效应可能与抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad 及 ERK/MAPK 信号通路有关<sup>[9]</sup>。

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(81874360, 81473400)

**作者简介:** 王荣慧(1997-), 女, 硕士研究生

**通信作者:** 吴虹(1967-), 女, 博士, 教授, 博士研究生导师,

[hongw@aliyun.com](mailto:hongw@aliyun.com)

Rong 等<sup>[10]</sup>对缺血性再灌注模型造成的肝脏损伤进行研究,结果表明栀子苷能够诱导 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的激活,其中 mTOR 能够进一步抑制炎症和细胞凋亡,对肝脏损伤具有一定的保护作用。此外,有研究显示栀子苷对该类肝脏损伤的保护作用与其减少氧化应激,抑制相关细胞凋亡相关<sup>[11]</sup>。

李原明<sup>[12]</sup>观察栀子提取物对酒精性肝脏损伤模型大鼠的影响,结果显示栀子提取物可能通过下调炎症因子水平,如肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素 6(interleukin 6, IL-6),同时促进脂肪代谢,清除肝组织内自由基等,发挥保肝作用。

## 2 栀子苷的肝毒性研究

动物实验表明,栀子苷致大鼠出现明显肝损伤的剂量为 300 mg/kg,换算为 60 kg 人体用量约为 16.48 mg/kg,而临床中推荐栀子苷治疗剂量约为 10 mg/kg(依据栀子苷在栀子中含量为 1.8%~6% 换算得到),推测栀子苷造成的肝毒性与临床治疗剂量相关<sup>[13]</sup>。

**2.1 肝毒性表现** 动物实验中具有明显肝毒性的大鼠,通常表现为精神萎靡不振,皮毛不净,垫料蓝染等<sup>[14]</sup>。病理学分析发现,肝毒性表现为肝脏质量增加,局灶性坏死和肝细胞的明显炎症浸润等<sup>[15]</sup>。此外,由于肝细胞受损,细胞膜通透性增加,天冬氨酸氨基转移酶(aspartic aminotransferase, AST),谷氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)由细胞内逸出导致血清中响应值增高。由于检测结果较为灵敏,甘氨酸 N-甲基转移酶(glycine N-methyl transferase, GNMT)和糖原磷酸化酶(glycogen phosphorylase, PYGL)可作为早期出现肝毒性生物标志物<sup>[16]</sup>。

**2.2 肝毒性原因** 栀子苷已被证实具有保肝利胆的作用,但在某些条件下,栀子苷对肝脏的作用,可转变为完全相反的致毒作用。

不同种属动物对栀子苷肝毒性的表现存在差异。刘琦等<sup>[17]</sup>给予小鼠栀子苷灌胃处理后,发现小鼠在 430 mg/kg 剂量下肝毒性不明显,在 860 mg/kg 剂量下才出现明显的中毒表现。而 Tian 等<sup>[13]</sup>研究显示,当栀子苷剂量大于 280 mg/kg 时,肝毒性表现已经较为明显。

不同给药途径造成肝脏损伤的程度存在差异。杨明等<sup>[18]</sup>比较栀子苷 3 种不同给药方式对肝脏造成毒性损伤的影响,发现肌肉注射的栀子苷生物利用度最高,滴鼻的栀子苷生物利用度次之,灌胃的栀

子苷生物利用度最低。王智勇等<sup>[19]</sup>实验研究显示,栀子苷灌胃、口服的给药方式相比较滴鼻、肌肉注射的给药方式对肝脏指数影响较大,显著增加肝脏质量,由此认为栀子苷口服、灌胃对肝脏的毒性较大。

不同剂量栀子苷对肝脏的作用存在明显差异性。栀子苷体内代谢分析研究显示,28~100 mg/kg 栀子苷对肝脏具有保护作用;对比不同给药剂量后发现,栀子苷对大鼠半数致死剂量为 1 431.1 mg/kg,且肝毒性呈剂量依赖性,剂量越大,毒性越大<sup>[20]</sup>,即过量栀子苷能够产生肝毒性。Wei 等<sup>[21]</sup>从基因水平上探究过量剂量栀子苷产生毒性反应的机制,发现栀子苷在治疗剂量与过量剂量中具有不同的靶转录因子,治疗剂量下的栀子苷能够抑制 HNF-1 $\alpha$ 、HNF-4 $\alpha$  及 PPAR- $\alpha$  靶转录因子;过量剂量下的栀子苷与能够引起肝脏损伤靶转录因子 Atf、Jun、Hmga、Irf 及 Etv 的激活相关,深入阐明栀子苷产生肝毒性的原因与其给药剂量相关。

另有研究提出,栀子苷出现肝毒性主要是由其代谢产物京尼平二醛中间体造成的,而肠道中 pH 值能够决定这一产物合成,推测肝毒性呈 pH 依赖性<sup>[22]</sup>。

**2.3 肝毒性机制** 栀子苷肝毒性机制可能与其半缩醛结构相关,Che 等<sup>[15]</sup>对其结构进行改造,通过甲基化栀子苷的 C-1 位,得到栀子苷衍生物甲基京尼平,实验中大剂量使用该新合成的产物,毒性作用明显减弱且药效不变。另外,在肠道菌群的作用下,栀子苷能够水解为京尼平(genipin, GP),GP 又可再与一些亲核分子结合,造成肝脏毒性。水解后的 GP 又可自发地转变为二醛中间体,共价结合肝蛋白游离赖氨酸残基的伯胺基团,在栀子苷肝毒性中起关键作用,且毒性与结合赖氨酸后的 GP 含量相关<sup>[22]</sup>。

中药对肝细胞的氧化损伤主要检测指标有活性氧(reactive oxygen species, ROS)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、总超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)等,其中 MDA 与 SOD 在肝细胞损伤协调机制中起着关键作用。通过对栀子苷在体内代谢初步分析发现,栀子苷在肠道菌群下水解得到的 GP 可引起 ROS 含量增加,进一步导致缺血再灌注肝损伤<sup>[11,24]</sup>。也有研究表明,栀子苷所致肝毒性可能与氧化应激有关,栀子苷以 861 mg/kg 剂量给大鼠灌胃,肝组织中 MDA 水平上升,SOD 水平下降,而小剂量组未有明显差异<sup>[20]</sup>。然而,另有研究发现,栀子苷以 840 mg/kg 剂量给小鼠灌胃,MDA 水平较

正常组并未有明显差异<sup>[25]</sup>。这也提示栀子苷造成氧化应激反应引起的肝脏毒性可能与受试对象不同相关,且与剂量呈正相关,仅大剂量的栀子苷可能会出现肝毒性,而一般临床用药剂量不会出现氧化应激反应造成的肝损伤。

肝脏中含有药物代谢所需的许多酶类,其中CYP3A2是一类重要的CYP酶亚型,参与多种内源性、外源性物质的代谢,其活性高低与药物的疗效或毒性反应密切相关。周淑娟等<sup>[26]</sup>对栀子苷造成肝毒性的大鼠进行毒理学研究分析,发现在62.5 mg/kg栀子苷干预下,肝微粒体酶CYP3A2活性较高,而在250 mg/kg栀子苷干预下,CYP3A2酶活力反而降低。同时,300 mg/kg栀子苷能够使肝微粒体酶CYP7A1失调,提示栀子苷造成肝毒性的机制与药物代谢酶的失调相关。此外,300 mg/kg剂量的栀子苷会导致胆汁酸合成增加,而胆汁酸的淤积会进一步导致线粒体损伤,激发ROS和活性氮物质诱导的病理效应,引起肝脏损伤<sup>[13]</sup>。

综上所述,栀子苷造成肝毒性的机制与其半缩醛结构相关。在人体肠道菌群的作用下,栀子苷能够水解为GP,GP的结构特点也可进一步造成肝脏损伤。由此推测,栀子苷代谢物GP可能为肝毒性的物质基础。大剂量栀子苷给药,会引起氧化应激反应,导致肝脏损伤。药物代谢酶活性异常可能是栀子苷引起肝毒性的机制之一。同时,胆汁酸的淤积、线粒体损伤,可进一步引起一系列的病理效应,加剧肝脏的损伤。

目前,已有学者对栀子苷致肝毒性进行分子水平上的研究,利用毒理基因组学对与肝毒性相关基因进行筛选,确立了5个可能与肝毒性相关的靶基因,分别为Bcl2、Aldob、Norb2、Cyp2C23、Coll $\alpha$ 1,这5个标志基因的确证,为日后深入研究栀子苷肝毒性机制奠定了基础<sup>[27]</sup>。

### 3 结语

栀子作为传统中药广泛应用于临床,其活性成分栀子苷已被证实可用于多种疾病的治疗,包括自身免疫性疾病、心血管疾病等。目前,临床中尚未出现有关栀子苷不良反应的报道,但在动物实验显示其具有肝毒性。栀子苷具有保肝利胆的药理活性,对多种原因的肝脏损伤有良好的防治作用,而其肝毒性则限制栀子的临床应用。栀子苷对肝脏的毒性作用与其用药剂量、受试对象、给药途径以及肠道的pH值的差异相关。这也提示,栀子的临床用药需要制定合理的用药剂量、用药周期,切勿过量。因患者个体具有差异性,在临床用药过程中,需进行血药

浓度监测,制定个体化给药方案,在发挥栀子治疗作用的同时,避免不良反应的发生。相关研究表明,口服给药对于肝脏毒性的影响较大,由此,可以借助药物辅料的方式,开发更为安全的药物剂型。

国内外对栀子苷保肝利胆的作用研究较多,而对栀子苷代谢产物的研究较少,其代谢产物的结构、代谢途径、药理作用等有待进一步评价。栀子苷具体的保护作用机制尚未明确,需进行更加全面的评价与研究,以阐明其药理作用的真正分子基础。目前,有关栀子苷肝毒性作用研究较少,基本停留于动物或者细胞实验中。前期研究提示,栀子苷肝毒性种属差异性较为明显,对人出现肝毒性的剂量还未明确。此外,一些研究认为栀子苷在肠道菌群作用下水解得到的GP为肝毒性物质基础。栀子苷进入体内后受 $\beta$ -葡萄糖苷酶作用转化为GP的量是否会影响肝脏毒性?栀子苷与其代谢产物GP对肝脏具有双重作用,其作用途径与其在体内血药浓度是否相关?其作用机制及其分子基础是什么?这些都有待于进一步研究。

### 参考文献:

- [1] SHAN M, YU S, YAN H, et al. A review on the phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and toxicology of geniposide, a natural product [J]. *Molecules*, 2017,22(10):13.
- [2] HU Y, LIU X, XIA Q, et al. Comparative anti-arthritis investigation of iridoid glycosides and crocetin derivatives from *Gardenia jasminoides Ellis* in Freund's complete adjuvant-induced arthritis in rats [J]. *Phytomedicine*, 2019,53:223.
- [3] ZHAO Y, LI H, FANG F, et al. Geniposide improves repeated restraint stress-induced depression-like behavior in mice by ameliorating neuronal apoptosis via regulating GLP-1R/AKT signaling pathway [J]. *Neurosci Lett*, 2018,676:19-26.
- [4] SHAN M, YU S, YAN H, et al. A review on the phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and toxicology of geniposide, a natural product [J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2017,22(10):1689-1718.
- [5] YANG H, GUO D, XU Y, et al. Comparison of different liver test thresholds for drug-induced liver injury; updated RUCAM versus other methods [J/OL]. *Front pharmacol*, 2019, 10: 816 [2019-12-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6658872>. DOI: 10.3389/fphar.2019.00816.
- [6] TIAN X, LIU H, QIAO S, et al. Exploration of the hepatoprotective chemical base of an orally administered herbal formulation (YCHT) in normal and CCl<sub>4</sub>-intoxicated liver

- injury rats. part 2: hepatic disposition *in vivo* and hepatoprotective activity *in vitro* [J]. J Ethnopharmacol, 2019, 236:161-172.
- [7] 吴欢, 吴虹, 袁美燕, 等. 栀子苷在正常大鼠体内的药物代谢动力学和组织分布 [J]. 安徽中医学院学报, 2011, 30(2):57-60.
- [8] YANG S, KUANG G, JIANG R, et al. Geniposide protected hepatocytes from acetaminophen hepatotoxicity by down-regulating CYP2E1 expression and inhibiting TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway [J/OL]. Int Immunopharmacol, 2019, 74: 105625 [2019-12-12]. <https://sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576919308367>. DOI: 10.1016/j.intimp.2019.05.010.
- [9] PARK J H, YOON J, LEE K Y. Effects of geniposide on hepatocytes undergoing epithelial-mesenchymal transition in hepatic fibrosis by targeting TGF $\beta$ /Smad and ERK-MAPK signaling pathways [J]. Biochimie, 2015, 113:26-34.
- [10] RONG Y P, HUANG H T, LIU J S, et al. Protective effects of geniposide on hepatic ischemia/reperfusion injury [J]. Transplant Proc, 2017, 49(6):1455-1460.
- [11] KIM J, KIM H Y, LEE S M. Protective effects of geniposide and genipin against hepatic ischemia/reperfusion injury in mice [J]. Biomol Ther, 2013, 21(2):132-137.
- [12] 李原明. 初步探研栀子提取物对大鼠酒精性肝病血脂和 TNF- $\alpha$ 、IL-6 变化的影响 [D]. 贵州: 遵义医学院, 2014.
- [13] TIAN J, ZHU J, YI Y, et al. Dose-related liver injury of geniposide associated with the alteration in bile acid synthesis and transportation [J/OL]. Scientific reports, 2017, 7(1): 8938 [2019-12-12]. <https://www.nature.com/articles/s41598-017-09131-2>. DOI: 10.1038/s41598-017-09131-2.
- [14] 张海虹, 卫璐戈, 李会芳. 栀子苷对正常和黄疸模型大鼠的亚急性肝、肾毒性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(20):140-144.
- [15] CHE X, WANG M, WANG T, et al. Evaluation of the antidepressant activity, hepatotoxicity and blood brain barrier permeability of methyl genipin [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2016, 21(7):923.
- [16] WEI J, ZHANG F, ZHANG Y, et al. Proteomic investigation of signatures for geniposide-induced hepatotoxicity [J]. J Proteome Res, 2014, 13(12):5724-5733.
- [17] 刘琦, 禄保平, 贾睿. 应用栀子苷灌胃建立小鼠肝损伤模型的实验研究 [J]. 中医学报, 2013, 28(7):994-996.
- [18] 杨明, 陈晓燕, 张海燕, 等. 栀子苷 4 种不同给药途径的药动学研究 [J]. 中国新药杂志, 2010, 19(9):746-754.
- [19] 王智勇, 张海燕, 杨明, 等. 京尼平苷四种不同给药途径的肝毒性初步研究 [J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(5):824-827.
- [20] DING Y, ZHANG T, TAO J S, et al. Potential hepatotoxicity of geniposide, the major iridoid glycoside in dried ripe fruits of Gardenia jasminoides (Zhi-zi) [J]. Nat Prod Res, 2013, 27(10):929-933.
- [21] WEI J, MAN Q, DING C, et al. Proteomic investigations of transcription factors critical in geniposide-mediated suppression of alcoholic steatosis and in overdose-induced hepatotoxicity on liver in rats [J]. J Proteome Res, 2019, 18(11):3821-3830.
- [22] LI Y, PAN H, LI X, et al. Role of intestinal microbiota-mediated genipin dialdehyde intermediate formation in geniposide-induced hepatotoxicity in rats [J/OL]. Toxicol Appl Pharmacol, 2019, 377: 114624 [2019-12-12]. <https://sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X19302327>. DOI: 10.1016/j.taap.2019.114624.
- [23] SHI F, PAN H, LI Y, et al. A sensitive LC-MS/MS method for simultaneous quantification of geniposide and its active metabolite genipin in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study [J/OL]. Biomed Chromatogr, 2018, 32(3): e4126 [2019-12-12]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bmc.4126>. DOI: 10.1002/bmc.4126.
- [24] KHANAL T, KIM H G, CHOI J H, et al. Biotransformation of geniposide by human intestinal microflora on cytotoxicity against HepG2 cells [J]. Toxicol Lett, 2012, 209(3):246-254.
- [25] 贾睿. 应用栀子苷灌胃建立小鼠肝损伤模型的初步研究 [D]. 郑州: 河南中医学院, 2011.
- [26] 周淑娟, 李强, 刘卫红, 等. 栀子苷对大鼠肝指数、肝功能及肝脏微粒体中 CYP3A2 的影响 [J]. 中医研究, 2010, 23(3):20-22.
- [27] 胡燕珍, 李德凤, 张毅, 等. 基于基因组学策略的京尼平苷肝毒性标志基因研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(19):4234-4240.

(收稿日期:2019-10-21;编辑:张倩)