

· 药理 ·

## 苗族药了哥王不同提取物对正常大鼠肝毒性的影响

冯果<sup>1,2,3</sup>, 李玮<sup>2,3</sup>, 何新<sup>1\*</sup>, 李自强<sup>1</sup>, 王建科<sup>2</sup>, 郑传奇<sup>2</sup>, 田小芳<sup>2</sup>, 冷安碧<sup>2</sup>

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 贵阳中医学院, 贵阳 550025;  
3. 国家苗药工程技术研究中心, 贵阳 550025)

**【摘要】** 目的: 考察了哥王不同提取物对正常大鼠肝毒性的影响, 并探讨其作用机制。方法: 选用 SD 大鼠 72 只, 随机分成空白组、乙醇提取物组、石油醚提取物组、乙酸乙酯提取物组、正丁醇提取物组和水部位提取物组, 每组 12 只。不同给药组连续灌胃给药 2 周, 每隔 2 日称量大鼠体重, 于第 15 天, 每组随机取 6 只, 麻醉后腹主动脉取血, 离心血液, 取血清测定丙氨酸氨基转移酶 (ALT), 天门冬氨酸氨基转移酶 (AST), 碱性磷酸酶 (ALP), 总胆红素 (T-BIL), 总蛋白 (TP), 白蛋白 (ALB), 血糖 (GLU), 总胆固醇 (CHOL), 肌酐 (Cr)。取肝组织, 称其质量, 计算脏器系数, 并留取肝组织作病理学检查。每组余下的 6 只大鼠于第 15 天停止给药, 正常供给饲料与水, 恢复 2 周, 观察大鼠恢复情况, 于第 28 天进行上述相同指标的检测。结果: 给药 2 周后, 与空白组比较, 乙醇提取物组和乙酸乙酯提取物组大鼠的肝脏系数明显增大 ( $P < 0.05$ )。乙醇提取物组血清中 ALT, AST, GLB 明显升高, 白蛋白/球蛋白 (A/G), TP 和 ALB 明显降低 ( $P < 0.05$ ); 乙酸乙酯提取物组血清中 ALP, T-BIL, GLU 明显升高, A/G, TP 和 ALB 明显降低 ( $P < 0.05$ ); 石油醚提取物组血清中 AST, AST/ALT, ALP, GLU 明显升高, T-BIL, A/G, TP 和 ALB 明显降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ); 正丁醇提取物组血清中 AST/ALT, T-BIL 明显升高, A/G 明显降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ); 水部位提取物组血清中 A/G 明显降低 ( $P < 0.05$ ); 乙醇提取物组、乙酸乙酯提取物组和石油醚提取物组大鼠肝组织能观察到不同程度的炎细胞浸润, 出现一定的肝细胞脂肪变性和局灶性肝细胞坏死, 其他组少见。停药恢复 2 周后, 各组肝脏系数均接近于空白组; 各组血清中肝功能生化指标基本恢复到空白组水平; 各组大鼠肝组织细胞结构清晰, 少见炎细胞浸润, 未见脂肪变性和肝细胞坏死。结论: 苗族药了哥王乙醇提取物组、乙酸乙酯提取物组对肝损伤较大, 具有明显的肝毒性; 石油醚提取物组对肝也有一定的损伤, 但比乙醇提取物组和乙酸乙酯提取物组损伤程度小; 正丁醇提取物组毒性较小, 水部位提取物组无毒性; 停药 2 周恢复后, 各组大鼠反映肝功能的生化指标基本恢复到空白组水平, 大鼠的肝损伤明显的减轻, 表明了哥王的肝毒性具有一定的可逆性。

**【关键词】** 了哥王; 提取物; 肝毒性; 血清相关指标

**【中图分类号】** R285.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2017)11-0096-07

**【doi】** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017110096

**【网络出版地址】** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170308.0937.018.html>

**【网络出版时间】** 2017-03-08 9:37

## Effects of Different Extracts of Miao Medicine *Wikstroemia indica* Root on Hepatotoxicity in Normal Rats

FENG Guo<sup>1,2,3</sup>, LI Wei<sup>2,3</sup>, HE Xin<sup>1\*</sup>, LI Zi-qiang<sup>1</sup>,

WANG Jian-ke<sup>2</sup>, ZHENG Chuan-qi<sup>2</sup>, TIAN Xiao-fang<sup>2</sup>, LENG An-bi<sup>2</sup>

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;

2. Guiyang University of Chinese Medicine, Guiyang 550025, China;

3. National Engineering and Technology Research Center of Miao Medicine, Guiyang 550025, China)

**【收稿日期】** 20161206(016)

**【基金项目】** 国家自然科学基金项目(81303141); 国家中医药管理局中医药部门公共卫生服务项目([2015]136); 贵州省高校工程技术研究中心建设项目(黔教合 KY 字[2012]021 号); 贵阳中医学院基金项目(贵中医科院内[2016]40 号); 贵州省发展和改革委员会投资建设项目(黔发改投资[2015]542 号)

**【第一作者】** 冯果, 在读博士, 副教授, 从事中药新制剂新技术及中药药物代谢动力学研究, Tel:13885184463, E-mail:453989352@qq.com

**【通讯作者】** \* 何新, 博士, 教授, 从事中药药理学及药物代谢动力学研究, Tel:13512275330, E-mail:hexintn@163.com

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of different extracts from *Wikstroemia indica* root on the hepatotoxicity in rats. **Method:** Seventy-two SD rats were randomly divided into blank control group, ethanol extract group, petroleum ether extract group, ethyl acetate extract group, n-butanol extract group and water extract group, with 12 rats in each group. Different drug groups were intragastrically administrated with drugs for two weeks, and the rats' body weight was measured once every two days. On the fifteenth day, six rats were randomly selected from each group, and anaesthetized with 3% pentobarbital sodium, and their blood was collected from aorta abdominalis. After blood centrifugation, the alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin (T-BIL), total protein (TP), albumin (ALB), blood glucose (GLU), total cholesterol (CHOL), and creatinine (Cr) in serum were detected. Their livers were collected and weighed, and the organ index was calculated. The hepatic histopathology was examined. Then the remaining six rats in each group were given no drug but fed with normal food and water for two weeks to observe their recovery. The above indexes were detected on the twenty-eighth day. **Result:** Compared with control group, the liver coefficients of ethanol extract group and ethyl acetate extract group increased significantly after two weeks ( $P < 0.05$ ). The serum levels of ALT, AST, GLB were increased, and A/G, TP and ALB were decreased ( $P < 0.05$ ) in ethanol extract group. The serum levels of ALP, T-BIL, GLU were increased, and A/G, TP and ALB were decreased ( $P < 0.05$ ) in ethyl acetate extract group. The serum levels of AST, AST/ALT, ALP, GLU were increased, T-BIL, ALB, TP and A/G were decreased in petroleum ether extract group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The serum levels of AST/ALT, T-BIL were increased and A/G decreased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) in extract of butanol. Only A/G decreased in the serum of water extract group ( $P < 0.05$ ). The rat liver tissues of ethanol extract group, ethyl acetate extract group and petroleum ether extract group showed different degrees of inflammatory cell infiltration, certain fatty degeneration of liver cells and focal necrosis of liver cells, which were rare in other rare group. After the drug withdrawal for two weeks, the liver coefficient of each group was close to that of blank control group. The biochemical indexes of liver function in each group were recovered to the level of blank group, and there was no significant difference. The liver tissue cells of each group showed a clear structure, with rare inflammatory cells infiltration and no fatty degeneration and necrosis of liver cells. **Conclusion:** The ethanol extract group and the ethyl acetate extracted group of Miao medicine *W. indica* root have a greater damage to the liver, with obvious hepatotoxicity. The petroleum ether extract group also shows a certain injury to liver, which however is lower than that of the ethanol extract group and the ethyl acetate extracted group. The n-butanol extract group shows a lower toxicity, and the water extract group shows no toxicity. After recovery for two weeks, the biochemical indexes of liver function of rats in each group were almost recovered to the level of the blank group, and the liver injury of rats was significantly reduced, which indicated that the hepatotoxicity of *W. indica* root had a certain reversibility.

**[Key words]** *Wikstroemia indica* root; extract; hepatotoxicity; serum related index

了哥王来源于瑞香科植物了哥王的干燥根<sup>[1]</sup>,性寒、味苦、辛、微温、有大毒,归肺、肝经。具有清热解毒、消肿散结、止痛等功效,用于治疗癆,痈肿,风湿痛,百日咳,跌打损伤等<sup>[2]</sup>,为常用的一种苗族药。现代研究表明,了哥王具有抗菌、抗炎镇痛、抗病毒、抗肿瘤、抗疟、利尿、引产、镇咳祛痰、降低心肌耗氧量和改善心肌营养性血流量等药理作用<sup>[3-5]</sup>,临床主要用于治疗呼吸系统、泌尿系统、皮肤等急性扁桃体炎、慢性支气管炎、急慢性感染性炎症、颈淋巴结肿大、乳腺炎、肝炎、肝硬化、肝腹水、肾炎、肢体疼痛、带状疱疹、皮下剥离伤等疾病。另外,了哥王对坐骨神经痛、解热、麻醉和驱虫等也有一定的疗

效,还可治疗多种癌症,如乳腺癌、恶性淋巴瘤、肺癌及各种体表癌等<sup>[6-10]</sup>。但是该药毒性较大,在历代本草中均有记载,如《生草药性备要》记载其“有毒,能杀人,不可乱服,此药毒狗,犬食必死”,在《岭南采药录》、《广西中药志》、《湖南药物志》、《福建民间草药》、《南宁市药物志》等均有“大毒”或“有毒”的类似记载。该药疗效确切,但因其毒性较大临床应用受到一定的限制。目前为止,国内外对了哥王的研究主要集中在化学成分、质量控制及药效药理方面,对其毒性研究并不多,本课题组对其不同提取物及炮制品进行了急性毒性研究<sup>[11]</sup>,吴鹏等<sup>[12]</sup>对了哥王提取物进行了细胞毒性研究,但其毒性成分、

毒性作用靶向器官及毒性作用机制仍不明确。为了进一步研究和探讨了哥王的毒性成分、毒性作用部位及毒性作用机制,本实验将了哥王提取分离成不同部位的提取物,考察其对正常大鼠肝毒性的影响,旨在研究了哥王的毒性作用部位以及对肝脏的损伤程度,为了哥王的毒性成分及其毒性作用机制的更深入研究,为其临床用药的安全性评价提供依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级 SD 大鼠,雌雄各半,体重(200 ± 20)g,购自湖南长沙市天勤生物技术有限公司,合格证号 SCXK(湘)2000-2163。大鼠于室内保持 12 h 光照,12 h 避光循环饲养,给予标准饲料和饮用水,且控制室内温度为(25 ± 1) °C,相对湿度在(50 ± 10)%。符合实验动物伦理学规定。

**1.2 药物及试剂** 了哥王药材,2016 年 1 月 10 日采购于广西壮族自治区玉林市玉州区玉林银丰国际中药港,批号 20160115,经贵阳中医学院李玮副教授鉴定为瑞香科茛花属植物了哥王 *Wikstroemia indica* 的干燥根;了哥王乙醇总提取物、石油醚提取物、乙酸乙酯提取物、正丁醇提取物、水部位提取物均由贵阳中医学院药物制剂实验室自制,批号分别为 YC20160410,SY20160420,YS20160420,ZD20160420,S20160420。丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST),碱性磷酸酶(ALP),总胆红素(T-BIL),总蛋白(TP),白蛋白(ALB),血糖(GLU),总胆固醇(CHOL),肌酐(Cr)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20160505,20160502,20160510, 20160510, 20160515, 20160510,20160510,20160515,20160510);甲醛(重庆茂业化学试剂有限公司,批号 20151216);二甲苯(重庆川东化工有限公司,批号 020425);苏木素(北京索莱宝科技有限公司,批号 G1140);伊红(北京索莱宝科技有限公司,批号 G1120);戊巴比妥钠(美国 Sigma 公司,批号 922L0310)。其他试剂均为分析纯。

**1.3 仪器** FA2004 型电子分析天平(上海衡平仪器仪表厂),Targin VX-02 型多管涡旋振荡器(北京踏锦科技有限公司),MIKRO 220R 型低温高速离心机(德国 Hettich 公司),Sorvall RC 6<sup>+</sup> 型离心机(美国 Thermo Scientific 公司),ADVIA 1800 型全自动生化分析仪(德国 Siemens Healthcare Diagnostics 公司),KD-3368 型旋转型组织切片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司);202-3AB 型电热恒温干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司),BX53F 型光学显

微镜(日本奥林巴斯公司)。

## 2 方法

**2.1 了哥王不同溶剂提取物的制备** 取了哥王药材饮片 7.9 kg,用 70% 乙醇渗漉提取,回收乙醇至无醇味,浓缩、真空干燥、粉碎成细粉,得了哥王乙醇提取物 796.32 g,(提取率 10.08%,1 g 相当于生药 9.92 g)。取乙醇提取物药粉 408.0 g 用蒸馏水分散溶解,再分别依次用 1:1 石油醚、乙酸乙酯、正丁醇各萃取 3 次,每次萃取 1 h,分别合并石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取液,挥干溶剂,干燥、粉碎成细粉,即分别得石油醚提取物 14.491 g(1 g 相当于生药 408.87 g),乙酸乙酯提取物 147.7 g(1 g 相当于生药 40.12 g),正丁醇提取物 101.2 g(1 g 相当于生药 58.55 g),剩余部分浓缩、干燥、粉碎成细粉得水部位提取物 144.0 g(1 g 相当于原生药 41.15 g)。

**2.2 分组与给药** 取 SD 大鼠 72 只,雌雄各半,常规饲养适应 1 周后,随机分为 6 组:乙醇提取物组(317.52 mg · kg<sup>-1</sup>),石油醚提取物组(7.875 mg · kg<sup>-1</sup>),乙酸乙酯提取物组(78.435 mg · kg<sup>-1</sup>),正丁醇提取物组(53.865 mg · kg<sup>-1</sup>),水部位提取物组(76.545 mg · kg<sup>-1</sup>)和空白组,每组 12 只。将各提取物用 1.0% 羧甲基纤维素钠(CMC)配制混悬液,每日灌胃(ig)1 次,连续给药 2 周。空白组 ig 等体积 1.0% CMC 的蒸馏水混悬液。大鼠灌胃体积为 20 mL · kg<sup>-1</sup>。给药期间,正常供给饲料与水。

**2.3 药物配制** 分别精密称取乙醇提取物 0.794 g,乙酸乙酯提取物 0.196 g,正丁醇提取物 0.135 g,水部位提取物 0.191 g,石油醚提取物 0.020 g,分别加入 1.0% CMC 50 mL 配制样品混悬液备用。

**2.4 大鼠一般状态及相关指标检测** 实验期间,观察大鼠的一般状况,包括精神状态、活动情况、毛色变化、饮食量、饮水量等,每隔 2 日称量大鼠体重,量其肛温。于第 14 天给药后,每组随机取 6 只,禁食,自由饮水,于第 15 天腹腔注射 3.0% 戊巴比妥钠(每 100 g 体重注射 0.2 mL),麻醉后腹主动脉取血,解剖大鼠,取肝组织,称其质量,计算脏器系数,并留取肝组织作病理学检查。每组余下 6 只大鼠,于第 15 天停止给药,正常供给饲料与水,于第 28 天腹主动脉取血、取肝脏,计算各脏器系数,留取肝组织,制作组织切片。

**2.5 大鼠血清相关指标检测** 血液静置 40 min 后,12 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 15 min,分离血清,-20 °C 保存,分别用于测定肝功能生化指标 ALT,AST,

ALP, T-BIL, TP, ALB, GLU, CHOL 水平。

**2.6 大鼠脏器指数及病理学检测** 取肝(无胆囊)组织称重,计算脏器指数(脏器指数 = 脏器质量/体重 × 100%)后,以 10% 中性甲醛固定、脱水、石蜡包埋、苏木素-伊红(HE)染色,光学显微镜下观察病理变化。

**2.7 统计学方法** 使用 SPSS 11.5 统计软件处理分析数据。实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,方差齐性者采用 Student-Newman-Keuls 法检验,方差不齐者采用 Dunnett  $T_3$  法检验。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 了哥王不同提取物对大鼠一般状况的影响** 给药期间,空白组大鼠精神活跃,活动正常,饮食量大,毛发光滑,体重增长快;与空白组比较,乙醇提取物组、乙酸乙酯提取物组大鼠的精神萎靡,活动少,蜷缩成团,饮食量减少,体重下降,大便稀薄,停药后以上症状逐渐好转,精神状态明显改变,活动量、饮食量增加,体重逐渐增加,大便趋于正常;正丁醇

提取物组、石油醚提取物组和水部位提取物组大鼠精神状态较空白组差,较乙醇提取物组和乙酸乙酯提取物组好,活动量、饮食量减少,体重增长缓慢,停药后以上症状好转较快,精神状态明显改变,活动量、饮食量增加,体重增加较快,大便正常。大鼠死亡情况,空白组和水部位提取物组及正丁醇提取物组无死亡;乙醇提取物组和乙酸乙酯提取物组各有 3 只大鼠死亡,石油醚提取物组有 1 只大鼠死亡;实验过程中各组大鼠间的肛温无明显差异。

**3.2 了哥王不同提取物对大鼠体重的影响** 给药期间,空白组大鼠体重增长快,与空白组比较,从第 7 天开始,乙醇提取物组、乙酸乙酯提取物组大鼠体重下降明显( $P < 0.05, P < 0.01$ ),停药恢复期大鼠体重停止下降,逐渐增加,但仍明显低于空白组( $P < 0.05, P < 0.01$ );第 13 天时,石油醚提取物组、正丁醇提取物组在给药期间大鼠体重增长缓慢( $P < 0.05$ ),停药恢复期,体重增长迅速,与空白组比较无明显差异;水部位提取物组与空白组比较无明显差异。见表 1。

表 1 了哥王不同提取物对大鼠体重的影响( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

| 组别      | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | 第 1 天                      | 第 3 天                      | 第 5 天                      | 第 7 天                      | 第 9 天                      | 第 11 天                     | 第 13 天                     |
|---------|------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 空白      | -                      | 190.1 ± 15.2               | 201.5 ± 17.5               | 221.7 ± 14.6               | 233.2 ± 18.3               | 247.1 ± 20.4               | 257.3 ± 21.7               | 275.4 ± 19.2               |
| 乙醇提取物   | 317.52                 | 193.5 ± 16.4               | 183.9 ± 19.1               | 182.7 ± 23.0               | 174.8 ± 21.8 <sup>1)</sup> | 171.3 ± 17.9 <sup>1)</sup> | 163.7 ± 22.4 <sup>2)</sup> | 161.6 ± 18.8 <sup>2)</sup> |
| 石油醚提取物  | 7.875                  | 183.4 ± 21.6               | 188.4 ± 24.9               | 199.6 ± 30.3               | 206.7 ± 25.5               | 213.8 ± 29.4               | 216.8 ± 30.1               | 218.1 ± 28.2 <sup>1)</sup> |
| 乙酸乙酯提取物 | 78.435                 | 198.3 ± 20.5               | 190.2 ± 24.7               | 183.3 ± 21.4               | 179.9 ± 24.3 <sup>1)</sup> | 175.5 ± 18.7 <sup>1)</sup> | 173.2 ± 19.2 <sup>1)</sup> | 170.6 ± 19.5 <sup>2)</sup> |
| 正丁醇提取物  | 53.865                 | 189.1 ± 16.6               | 187.2 ± 18.3               | 185.7 ± 19.4               | 186.7 ± 17.5               | 194.8 ± 23.6               | 202.9 ± 28.1               | 198.5 ± 29.5 <sup>1)</sup> |
| 水部位提取物  | 76.545                 | 186.2 ± 20.5               | 196.7 ± 23.2               | 202.9 ± 25.8               | 209.5 ± 27.6               | 213.6 ± 30.4               | 216.8 ± 32.9               | 222.9 ± 33.1               |
| 组别      | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | 第 15 天                     | 第 17 天                     | 第 19 天                     | 第 21 天                     | 第 23 天                     | 第 25 天                     | 第 27 天                     |
| 空白      | -                      | 289.6 ± 22.3               | 307.5 ± 24.5               | 319.7 ± 27.8               | 338.4 ± 26.9               | 353.6 ± 30.5               | 364.3 ± 29.7               | 375.2 ± 33.6               |
| 乙醇提取物   | 317.52                 | 184.5 ± 23.5 <sup>2)</sup> | 205.7 ± 27.6 <sup>2)</sup> | 226.9 ± 28.0 <sup>1)</sup> | 248.6 ± 28.3 <sup>1)</sup> | 259.4 ± 29.6 <sup>1)</sup> | 277.8 ± 32.4 <sup>1)</sup> | 298.5 ± 31.7 <sup>1)</sup> |
| 石油醚提取物  | 7.875                  | 237.4 ± 27.5 <sup>1)</sup> | 255.6 ± 29.0               | 272.3 ± 31.3               | 291.6 ± 32.6               | 308.2 ± 30.4               | 312.4 ± 33.8               | 335.7 ± 31.5               |
| 乙酸乙酯提取物 | 78.435                 | 185.2 ± 23.6 <sup>2)</sup> | 210.5 ± 27.3 <sup>1)</sup> | 228.9 ± 30.7 <sup>1)</sup> | 255.8 ± 31.3 <sup>1)</sup> | 275.3 ± 29.2 <sup>1)</sup> | 288.1 ± 32.5 <sup>1)</sup> | 303.7 ± 34.1 <sup>1)</sup> |
| 正丁醇提取物  | 53.865                 | 210.5 ± 26.4 <sup>1)</sup> | 234.1 ± 27.1 <sup>1)</sup> | 258.6 ± 30.6               | 286.1 ± 31.7               | 311.9 ± 27.6               | 330.6 ± 33.5               | 345.2 ± 32.2               |
| 水部位提取物  | 76.545                 | 242.8 ± 29.3               | 264.5 ± 28.5               | 280.3 ± 34.4               | 304.3 ± 37.5               | 326.4 ± 36.4               | 341.8 ± 30.3               | 360.8 ± 32.7               |

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05, ^{2)}$  $P < 0.01$ (表 2, 3 同)。

**3.3 了哥王不同提取物对大鼠肝脏系数的影响** 给药 2 周后,与空白组比较,乙醇提取物组和乙酸乙酯提取物组大鼠的脏器系数明显增加( $P < 0.05$ );石油醚提取物组、水部位提取物组及正丁醇提取物组的脏器系数无统计学差异。停药恢复 2 周后,各组肝脏系数无统计学意义。见表 2。

**3.4 了哥王不同提取物对大鼠血清肝功能生化指标的影响** 给药 2 周后,与空白组比较,乙醇提取物

组血清中 ALT, AST, GLB 生化指标明显升高,血清中 A/G, TP 和 ALB 明显降低( $P < 0.05$ );乙酸乙酯提取物组血清中 ALP, T-BIL, GLU 生化指标明显升高,血清中 A/G, TP 和 ALB 明显降低( $P < 0.05$ );石油醚提取物组血清中 AST, AST/ALT, ALP, GLU 生化指标明显升高,血清中 T-BIL, A/G, TP 和 ALB 明显降低( $P < 0.05, P < 0.01$ );正丁醇提取物组血清中 AST/ALT, T-BIL 明显升高,血清中 A/G 明显降

表 2 了哥王不同提取物对 SD 大鼠肝脏系数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

| 组别      | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | 给药后肝指数                      | 停药恢复期后肝指数     | % |
|---------|------------------------|-----------------------------|---------------|---|
| 空白      | -                      | 3.009 ± 0.024               | 3.634 ± 0.298 |   |
| 乙醇提取物   | 317.52                 | 3.602 ± 0.711 <sup>1)</sup> | 3.502 ± 0.152 |   |
| 石油醚提取物  | 7.875                  | 2.997 ± 0.155               | 3.501 ± 0.275 |   |
| 乙酸乙酯提取物 | 78.435                 | 3.514 ± 0.390 <sup>1)</sup> | 3.487 ± 0.138 |   |
| 正丁醇提取物  | 53.865                 | 3.087 ± 0.408               | 3.560 ± 0.256 |   |
| 水部位提取物  | 76.545                 | 2.997 ± 0.321               | 3.594 ± 0.193 |   |

低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ); 水部位提取物组血清中仅有 A/G 显著降低 ( $P < 0.01$ )。见表 3。停药恢复

2 周后, 各组血清中生化指标基本恢复到空白组水平, 且无统计学差异。见表 4。

表 3 了哥王不同提取物对大鼠血清生化指标的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

| 组别      | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | ALT/U·L <sup>-1</sup>       | AST/U·L <sup>-1</sup>        | AST/ALT                   | ALP/U·L <sup>-1</sup>        | T-BIL/μmol·L <sup>-1</sup> | GLB/g·L <sup>-1</sup>      |
|---------|------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 空白      | -                      | 38.63 ± 7.33                | 133.67 ± 22.32               | 3.46 ± 0.84               | 148.12 ± 49.68               | 0.45 ± 0.24                | 33.70 ± 1.99               |
| 乙醇提取物   | 317.52                 | 70.15 ± 28.47 <sup>1)</sup> | 170.00 ± 29.65 <sup>1)</sup> | 2.58 ± 0.47 <sup>1)</sup> | 226.12 ± 52.56 <sup>1)</sup> | 0.37 ± 0.19                | 37.55 ± 3.41 <sup>1)</sup> |
| 石油醚提取物  | 7.875                  | 39.57 ± 7.05                | 175.25 ± 24.70 <sup>1)</sup> | 4.56 ± 0.91 <sup>1)</sup> | 210.02 ± 36.54 <sup>1)</sup> | 0.13 ± 0.08 <sup>2)</sup>  | 31.32 ± 4.46               |
| 乙酸乙酯提取物 | 78.435                 | 33.78 ± 5.49                | 122.50 ± 16.73               | 3.73 ± 0.92               | 223.68 ± 31.53 <sup>1)</sup> | 0.79 ± 0.09 <sup>1)</sup>  | 31.45 ± 2.05               |
| 正丁醇提取物  | 53.865                 | 34.20 ± 8.68                | 137.68 ± 37.01               | 4.13 ± 0.37 <sup>1)</sup> | 158.18 ± 57.69               | 0.75 ± 0.12 <sup>1)</sup>  | 32.67 ± 1.75               |
| 水部位提取物  | 76.545                 | 45.12 ± 24.46               | 132.75 ± 33.77               | 3.30 ± 1.00               | 172.73 ± 77.17               | 0.40 ± 0.34                | 33.22 ± 2.49               |

| 组别      | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | A/G                       | GLU/mmol·L <sup>-1</sup>  | CHOL/mmol·L <sup>-1</sup> | TP/g·L <sup>-1</sup>       | ALB/g·L <sup>-1</sup>      |
|---------|------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 空白      | -                      | 1.29 ± 0.12               | 7.28 ± 1.46               | 1.40 ± 0.19               | 66.30 ± 1.73               | 33.05 ± 2.20               |
| 乙醇提取物   | 317.52                 | 0.95 ± 0.16 <sup>2)</sup> | 7.27 ± 1.88               | 1.44 ± 0.28               | 60.75 ± 4.65 <sup>1)</sup> | 30.53 ± 0.84 <sup>1)</sup> |
| 石油醚提取物  | 7.875                  | 1.00 ± 0.07 <sup>2)</sup> | 9.48 ± 1.48 <sup>1)</sup> | 1.37 ± 0.32               | 60.77 ± 2.96 <sup>2)</sup> | 30.13 ± 0.79 <sup>1)</sup> |
| 乙酸乙酯提取物 | 78.435                 | 1.02 ± 0.05 <sup>2)</sup> | 9.50 ± 0.94 <sup>1)</sup> | 1.29 ± 0.27               | 60.95 ± 4.67 <sup>1)</sup> | 30.25 ± 0.34 <sup>1)</sup> |
| 正丁醇提取物  | 53.865                 | 1.00 ± 0.06 <sup>2)</sup> | 7.50 ± 1.01               | 1.46 ± 0.34               | 65.20 ± 2.53               | 32.53 ± 1.47               |
| 水部位提取物  | 76.545                 | 1.03 ± 0.08 <sup>2)</sup> | 7.58 ± 1.73               | 1.49 ± 0.29               | 67.40 ± 2.95               | 34.18 ± 1.26               |

表 4 了哥王不同提取物对恢复 2 周大鼠血清生化指标的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

| 组别      | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | ALT/U·L <sup>-1</sup> | AST/U·L <sup>-1</sup> | AST/ALT     | ALP/U·L <sup>-1</sup> | T-BIL/μmol·L <sup>-1</sup> |
|---------|------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------|-----------------------|----------------------------|
| 空白      | -                      | 46.22 ± 0.48          | 120.60 ± 3.31         | 2.61 ± 0.10 | 222.46 ± 63.35        | 2.63 ± 0.23                |
| 乙醇提取物   | 317.52                 | 52.09 ± 0.71          | 102.06 ± 2.12         | 2.00 ± 0.07 | 263.20 ± 18.10        | 2.58 ± 0.02                |
| 石油醚提取物  | 7.875                  | 53.94 ± 3.39          | 144.67 ± 30.21        | 2.67 ± 0.43 | 278.76 ± 89.60        | 2.72 ± 0.15                |
| 乙酸乙酯提取物 | 78.435                 | 49.25 ± 0.33          | 128.64 ± 3.84         | 2.70 ± 0.15 | 257.59 ± 60.32        | 2.77 ± 0.44                |
| 正丁醇提取物  | 53.865                 | 52.65 ± 8.33          | 119.04 ± 27.99        | 2.28 ± 0.46 | 265.57 ± 92.4         | 2.67 ± 0.14                |
| 水部位提取物  | 76.545                 | 57.43 ± 1.89          | 102.02 ± 15.46        | 1.78 ± 0.33 | 201.79 ± 100.23       | 2.71 ± 0.04                |

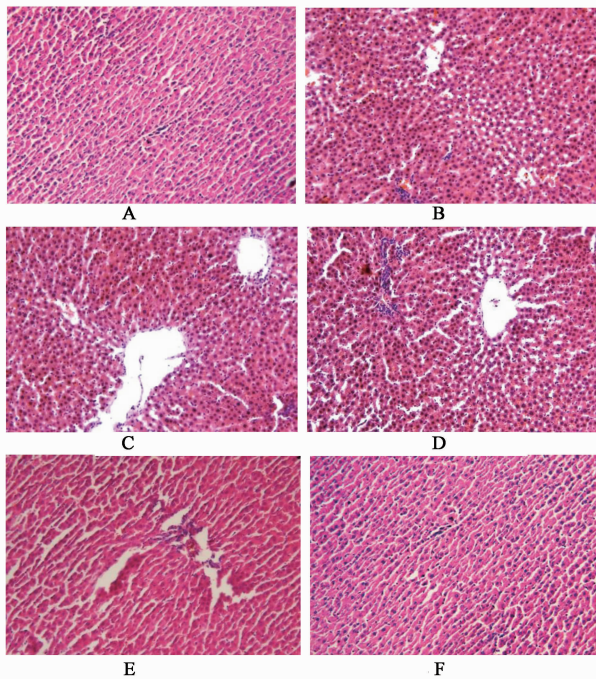
  

| 组别      | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | GLB/g·L <sup>-1</sup> | A/G         | GLU/mmol·L <sup>-1</sup> | CHOL/mmol·L <sup>-1</sup> | TP/g·L <sup>-1</sup> | ALB/g·L <sup>-1</sup> |
|---------|------------------------|-----------------------|-------------|--------------------------|---------------------------|----------------------|-----------------------|
| 空白      | -                      | 27.95 ± 2.04          | 1.10 ± 0.04 | 11.45 ± 1.20             | 1.48 ± 0.39               | 58.59 ± 5.24         | 30.64 ± 3.20          |
| 乙醇提取物   | 317.52                 | 28.37 ± 1.44          | 1.15 ± 0.07 | 11.50 ± 0.84             | 1.47 ± 0.11               | 59.06 ± 2.11         | 30.79 ± 0.81          |
| 石油醚提取物  | 7.875                  | 31.12 ± 2.48          | 0.96 ± 0.08 | 10.72 ± 1.51             | 1.42 ± 0.15               | 60.77 ± 3.97         | 29.65 ± 2.37          |
| 乙酸乙酯提取物 | 78.435                 | 30.91 ± 2.36          | 1.14 ± 0.05 | 11.66 ± 1.18             | 1.51 ± 0.35               | 60.54 ± 5.09         | 31.06 ± 2.82          |
| 正丁醇提取物  | 53.865                 | 29.21 ± 1.22          | 1.00 ± 0.07 | 11.79 ± 1.78             | 1.59 ± 0.23               | 58.42 ± 2.15         | 29.21 ± 1.72          |
| 水部位提取物  | 76.545                 | 31.03 ± 2.75          | 0.99 ± 0.01 | 10.27 ± 0.18             | 1.41 ± 0.47               | 63.56 ± 5.25         | 31.53 ± 2.50          |

3.5 了哥王不同提取物对大鼠肝组织形态学的影响 空白组大鼠肝小叶结构清晰, 未见肝细胞萎缩及肝窦扩张, 肝细胞未见变性、坏死, 汇管区未见炎

细胞浸润, 也未见增生; 石油醚提取物组给药 2 周后大鼠肝组织可观察到汇管区炎细胞浸润, 出现一定的肝细胞脂肪变性, 停药恢复 2 周后, 细胞结构恢复

清晰,少见炎细胞浸润,也未见脂肪变性;乙醇提取物组和乙酸乙酯提取物组给药 2 周后大鼠肝组织能观察到汇管区炎细胞浸润,所有大鼠肝细胞脂肪变性,并出现局灶性肝细胞坏死或大片肝细胞坏死,停药恢复 2 周后,细胞结构恢复清晰,可见少量炎细胞浸润;正丁醇提取物组给药 2 周后大鼠肝组织可观察到汇管区少量炎细胞浸润,少见肝细胞脂肪变性,停药恢复 2 周后,细胞结构清晰,少见炎细胞浸润,未见脂肪变性;水部位提取物组大鼠肝小叶结构清晰,未见肝细胞萎缩及肝窦扩张,肝细胞未见变性、坏死,汇管区未见炎细胞浸润。见图 1,2。



A. 空白组; B. 石油醚提取物组; C. 乙醇提取物组; D. 乙酸乙酯提取物组; E. 正丁醇提取物组; F. 水部位提取物组(图 2 同)

图 1 了哥王不同提取物给药 2 周对大鼠肝脏组织形态学的影响(HE, ×200)

Fig. 1 Effect of different extracts from *Wikstroemia indica* root on liver tissue of rats at 2 weeks of administration(HE, ×200)

### 3 讨论

肝脏是药物代谢的主要器官,药物进入体内,大多数会经肝脏代谢后被机体吸收和代谢,肝脏成为了体内由药源性导致损伤的主要靶器官之一,容易受到药物的损害。同时,药物肝毒性也一直是药物安全性评价的重点之一,因此中药的肝毒性及其毒性成分的研究成为了中药研究的基础领域。在对药物肝损伤的评价过程中,血清中与肝功能密切相关的生化指标水平往往是评价肝损伤的重要指标,ALT,AST,AST/ALT,ALP 是反映肝细胞损伤的指标,这些指标的水平上升,反映肝损伤越大;T-BIL

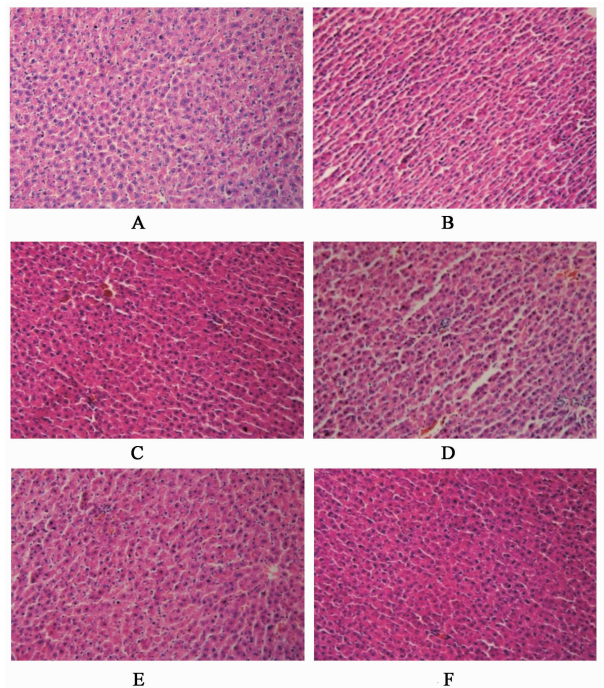


图 2 了哥王不同提取物停药恢复 2 周后对大鼠肝脏组织形态学的影响(HE, ×200)

Fig. 2 Effect of different extracts from *Wikstroemia indica* root on liver tissue of rats after drug withdrawal for 2 weeks(HE, ×200)

是反映肝脏排泄、解毒和分泌功能的指标,其水平上升,则反映肝损伤严重;TP,ALB 是反映肝细胞合成功能的指标,肝功能下降,TP,ALB 就会降低;GLU 水平增高,肝肾功能下降;CHOL 偏高说明人体的肝和肺开始发生实质性的病变;GLB 反映肝脏合成蛋白质功能;A/G 是诊断肝脏疾病时的参考指标,水平降低,常见于慢性活动性肝炎、肝硬化、慢性肾炎、肾病综合征、类脂性肾病、低蛋白血症、巨球蛋白血症等,肝病患者的 A/G 几乎都可降低,尤以有黄疸的肝硬化为甚<sup>[13-16]</sup>。另外,对肝脏的病理学检查是一种能直接了解肝组织的病理变化和损伤程度,对药物安全性评价的价值比较高。

本实验将了哥王提取分离成不同部位的提取物,着重考察了了哥王的不同提取物对正常大鼠肝的亚急性毒性,前期预实验过程中发现给药剂量在临床常用量时,其急性毒性和亚急性毒性不是很明显,但当剂量增加到成人临床常用剂量的 3~5 倍时,其毒性增大,动物死亡率高,不利于血液生化指标的检测和停药后恢复情况的考察,因此在做亚急性毒性时选择剂量为了哥王临床常用量(15 g·d<sup>-1</sup>)的 2 倍(相当于生药 30 g)时较合适。结果显示,给药 2 周后,苗族药了哥王乙醇提取物和乙酸乙酯提取物可使大鼠精神萎靡,活动量和饮食量减少,体重降低,

大便稀薄,并出现一定的死亡情况,大鼠的肝脏系数显著增加,血清中 ALT, AST, GLB 肝功能指标水平明显升高,血清中 A/G, TP 和 ALB 水平明显降低,影响肝功能,并使大鼠肝组织产生病理损伤,病理损伤主要表现为细胞少量炎性细胞浸润,肝细胞脂肪变性,并出现局灶性肝细胞坏死或大片肝细胞坏死等;石油醚提取物和正丁醇提取物对大鼠体重和肝脏系数影响较小,但石油醚提取物和正丁醇提取物能使血清中 AST, AST/ALT, ALP, GLU 部分肝功能生化指标明显升高,使血清中 A/G, TP 和 ALB 部分指标明显的降低,两者对肝功能也具有一定的影响,对肝组织也有轻微的损伤;水部位提取物对大鼠体重、肝脏系数、肝功生化指标以及对肝组织产生的病理损伤几乎没有影响。停药恢复 2 周后,各组大鼠的体重、肝脏系数、反映肝功能的生化指标等基本恢复到空白组的水平,对肝组织产生的病理损伤也明显减轻。研究表明,了哥王乙醇提取物、乙酸乙酯提取物对大鼠肝损伤较大,具有明显的肝毒性;石油醚提取物对大鼠肝脏也有一定的损伤,但较乙醇提取物和乙酸乙酯提取物对大鼠肝损伤程度小;正丁醇提取物毒性较小,水部位提取物组无毒性;与给药 2 周比较,停药 2 周恢复后各组大鼠肝功能生化指标基本恢复到空白组水平,大鼠肝损伤明显减轻,表明了哥王的肝毒性具有一定的可逆性。

本实验表明,了哥王具有肝毒性,其毒性成分主要存在于乙酸乙酯及石油醚提取部位中,其中乙酸乙酯提取物对肝损伤更强。提示在了哥王毒性成分及其毒性机制的研究时可考虑对乙酸乙酯及石油醚提取物进行系统深入的研究,以阐明其产生毒性的物质基础及其作用机制。同时课题组在前期对了哥王的炮制方法研究表明<sup>[17]</sup>,"汗渍法"能使其毒性大大降低<sup>[5]</sup>,今后对其炮制"存效减毒"机制方面可进行更深入的研究。

[参考文献]

[1] 张庆荣,夏光成.有毒中草药彩色图鉴[M].天津:天津科技翻译出版公司,2006:131.  
[2] 浙江植物志编委.浙江植物志.第四卷[M].杭州:浙江科学技术出版社,1999:255-256.  
[3] SHAO M, HUANG X J, LIU J S, et al. A new cytotoxic biflavonoid from the rhizome of *Wikstroemia indica*[J].

Nat Prod Res, 2016, 30(12):1417-1422.

[4] HUANG W H, ZHOU G X, WANG G C, et al. A new biflavonoid with antiviral activity from the roots of *Wikstroemia indica*[J]. J Asian Nat Prod Res, 2012, 14(4):401-406.  
[5] 张金娟,熊英,李玮,等.了哥王炮制前后的药效比较研究[J].时珍国医国药,2015,26(5):1118-1120.  
[6] 邵萌,黄晓君,孙学刚,等.了哥王根茎中的酚性成分及其抗肿瘤活性研究[J].天然产物研究与开发,2014,26(6):851-855,875.  
[7] 颜红,夏新华,王挥,等.西瑞香素对人肝癌 HepG2 细胞增殖、凋亡及细胞周期的影响[J].湖南中医药大学学报,2013,33(9):41-43.  
[8] LU C L, ZHU L, PIAO J H, et al. Chemical compositions extracted from *Wikstroemia indica* and their multiple activities[J]. Pharm Biol, 2012, 50(2):225-231.  
[9] 姜洪芳,白雪,牛慧彦,等.西瑞香素对肺癌 A549 细胞侵袭及迁移能力的影响[J].实用药物与临床,2016,19(2):131-134.  
[10] WANG L Y, Unehara T, Kitanaka S. Anti-inflammatory activity of new guaiane type sesquiterpene from *Wikstroemia indica* [J]. Chem Pharm Bull, 2005, 53(1):137-139.  
[11] 张金娟,熊英,张贵林,等.了哥王提取物及其不同提取部位的急性毒性研究[J].时珍国医国药,2011,18(11):2829-2830.  
[12] 吴鹏,黄伟欢,王辉,等.了哥王细胞毒性和细胞毒性成分研究[J].中药材,2010,33(4):590-592.  
[13] 张金娟,熊英,李玮,等.了哥王生品及 2 种炮制品的急性毒性比较研究[J].中国中药杂志,2011,36(9):1172-1174.  
[14] 冯英杰.对肝脏疾病患者进行生化检验的临床价值[J].当代医药论丛,2014,12(14):192-193.  
[15] 涂灿,蒋冰倩,赵艳玲,等.何首乌炮制前后对大鼠肝脏的损伤比较及敏感指标筛选[J].中国中药杂志,2015,40(4):654-660.  
[16] 李飞,陆伦根.肝功能异常的评估及临床意义[J].临床肝胆病杂志,2015,31(9):1543-1546.  
[17] 王建科,李玮,郭建民,等.不同炮制方法对了哥王中总黄酮含量的影响[J].贵阳中医学院学报,2011,33(1):17-19.

[责任编辑 张丰丰]