

异型南五味子醇提物对四氯化碳致大鼠 急性肝损伤的保护作用

沈芳仪¹,葛海英²,曾嵘^{1*}

(1. 湖南中医药大学中药现代化重点实验室,长沙 410208;

2. 内蒙古包头市解放军 291 医院病理科,内蒙古 包头 014040)

[摘要] 目的:探讨异型南五味子(血筒)醇提物对四氯化碳(CCl₄)所致大鼠急性肝损伤的保护作用。方法:SD 大鼠随机分为正常组,模型组,联苯双酯组,血筒醇提物高、中、低剂量组,用药组连续 ig 给药 7 d。第 6 天除正常组皮下注射等量生理盐水外,其他各组均皮下注射 CCl₄。24 h 后,检测血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)活性,取肝脏计算肝指数,制备肝匀浆测定还原型谷胱甘肽(GSH)含量,于光镜下观察肝组织的病理变化。结果:血筒醇提物低、中、高剂量组能不同程度地降低急性肝损伤大鼠肝脏指数及 ALT,AST 水平,升高肝组织 GSH 水平($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),减轻 CCl₄ 引起的肝组织损伤程度。结论:血筒醇提物对 CCl₄ 致大鼠急性肝损伤有明显的保护作用。

[关键词] 血筒醇提物;四氯化碳;急性肝损伤

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)16-0232-04

[doi] 10.11653/syfy2013160232

Protective Effects of Alcohol Extract of *Kadsura heteroclita* on Acute Hepatic Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Rats

SHEN Fang-yi¹, GE Hai-ying², ZENG Rong^{1*}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

2. Department of Pathology, No. 291 Hospital of People's Liberation Army, Baotou 014040, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the protective effects of alcohol extract of *Kadsura heteroclita* (Roxb) Craib on acute hepatic injury induced by carbon tetrachloride in rats. **Method:** SD rats were randomly divided into the normal group, model group, bifendate group, and alcohol extract of *K. heteroclita* low, middle, high dosage groups. In sixth day, other rats were injected subcutaneously with CCl₄ except the normal group with the same volume of saline after they were performed by gavage once a day and lasted for 7 days. After injected 24 hours, the contents of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in serum, the liver index and contents of reduced glutathione (GSH) in liver tissue were measured and the liver pathological changes were observed. **Result:** The alcohol extract of *K. heteroclita* decreased significantly the levels of serum ALT and AST and liver index, and increased the level of GSH ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The pathological changes were relieved in the treatment groups. **Conclusion:** The alcohol extract of *K. heteroclita* has protective effects on acute hepatic injury induced by carbon tetrachloride in rats.

[Key words] alcohol extract of *Kadsura heteroclita*; carbon tetrachloride; acute hepatic injury

[收稿日期] 20130223(001)

[基金项目] 湖南省教育厅重点项目资助(12A107);湖南省研究生科研创新项目(CX2012B348)

[第一作者] 沈芳仪,在读硕士研究生,从事中药药效和作用机制研究,Tel:18711004146,E-mail: 674593533@qq.com

[通讯作者] *曾嵘,教授,硕士研究生导师,从事中药药效和作用机制研究,Tel:0731-88458238,E-mail: zengrong42@126.com

异型南五味子又名“血筒”、“血通”、“血七”,民间以藤茎入药。其味甘、微辛,性温,具有行气活血,消胀止痛之功效,用于腹痛腹胀、肝炎、关节疼痛等症^[1]。已有研究证明,其主要成分为三萜、木质素类化合物^[2],而民间习用以异型南五味子藤茎治疗肝病,及其对肝脏保护作用的机制尚无相关报道。为此,本实验采用 CCl₄ 诱导大鼠急性肝损伤模型,观察异型南五味子醇提取物对肝损伤大鼠血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST),肝脏指数、肝组织中还原型谷胱甘肽(GSH)水平,及肝脏组织的病理学变化。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 雄性大鼠 48 只,SPF 级,6~8 周龄,体质量 180~220 g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,许可证号 SCXK(湘)2011-0003,合格证号 4304700933。实验前适应性喂养一周,选择状态良好的进行实验,动物自由摄食与饮水。

1.2 药物 血筒药材由湖南中医药大学王伟教授鉴定为异型南五味子 *Kadsura heteroclita* (Roxb) Craib (Schizandraceae) 的干燥茎。血筒醇提取物由湖南美可达生物资源有限公司制备,制备工艺为:以 8 倍量 95% 的乙醇回流提取 3 次,每次 2 h。浓缩干燥后,1 g 干燥粉末相当于 20 g 原药材。联苯双酯滴丸(1.5 mg/粒,浙江万邦药业股份有限公司,批号 A02120804)。

1.3 试剂 ALT,AST(北京利德曼生化股份有限公司,批号分别为 1101811,1102411),GSH 试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 20121020),四氯化碳(CCl₄)分析纯购自成都市科龙化工试剂厂,批号 20101015)。

1.4 仪器 AF-100 制冰机(意大利斯科茨曼公司),Allegra 25R 台式高速冷冻离心机(美国贝克曼库尔特公司),AY-120 电子分析天平(日本岛津),罗氏全自动生化分析仪(北京利德曼生化股份有限公司),UV-1800 紫外分光光度计(日本岛津)。

2 方法

2.1 分组及给药 雄性大鼠 48 只,按体质量随机分为 6 组,即正常组、模型组、联苯双酯组(2.1 mg·kg⁻¹)、异型南五味子醇提取物低、中、高剂量组(92,184,368 mg·kg⁻¹),每组 8 只大鼠。各给药组均 ig 给药,模型组与正常组给予等体积的生理盐水 ig,各组均 1 次/d,连续 7 d。

2.2 模型制备 第 6 天给药 1 h 后,除空白组外,其余各组单次背部 sc 50% CCl₄ 油溶剂 4 mL·kg⁻¹,

制备急性肝损伤模型,空白组 sc 等体积生理盐水。大鼠造模后禁食不禁水 24 h,于第 7 天给药 1 h 后测定结果。

2.3 取材及指标检测 大鼠经 ip 10% 水合氯醛,麻醉后腹主动脉取血,分取血清,按试剂盒要求测定 ALT,AST 活性。取血后及时分离肝脏,生理盐水冲洗瘀血,滤纸吸干水分后称重,按公式计算肝脏系数:肝脏质量/体重×100%。取肝右叶同一部位肝组织制备肝匀浆,按试剂盒要求测定 GSH 含量。另取部分肝脏,固定,脱水,透明,石蜡包埋,切片,HE 染色,光镜下观察病理变化。

2.4 统计学处理 实验所得数据用 SPSS 16.0 软件进行统计学处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异用 *t* 检验。以 *P* < 0.05 为有统计学差异。

3 结果

3.1 对急性肝损伤大鼠血清中 ALT,AST 活性的影响 与正常组比较,模型组血清中 ALT,AST 的水平明显升高(*P* < 0.01),说明大鼠急性肝损伤模型复制成功。与模型组比较,联苯双酯组血清中 ALT,AST 的水平明显降低(*P* < 0.01);异型南五味子低、中、高剂量组能明显抑制 CCl₄ 所致肝损伤大鼠 ALT,AST 水平的升高(*P* < 0.05 或 *P* < 0.01)。见表 1。

表 1 异型南五味子醇提取物对急性肝损伤大鼠血清

ALT,AST 的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

U·L⁻¹

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	ALT,AST 的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)	
		ALT	AST
正常	-	70.6 ± 11.9	143.0 ± 17.9
模型	-	321.3 ± 148.1 ¹⁾	561.6 ± 207.2 ¹⁾
联苯双酯	2.1	119.6 ± 28.6 ²⁾	253.9 ± 36.3 ²⁾
异型南五味子	92	160.4 ± 82.7 ³⁾	379.9 ± 129.9 ³⁾
醇提取物	184	95.5 ± 23.8 ²⁾	177.4 ± 19.2 ²⁾
	368	134.7 ± 96.6 ²⁾	158.6 ± 25.8 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ *P* < 0.01;与模型组比较²⁾ *P* < 0.01,³⁾ *P* < 0.05(表 2 同)。

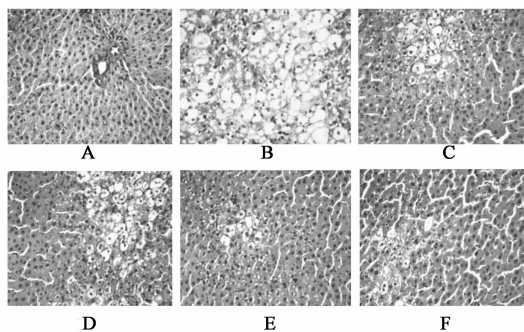
3.2 对急性肝损伤大鼠肝脏指数及肝组织中 GSH 含量的影响 与正常组比较,模型组大鼠肝脏系数明显增加(*P* < 0.01),肝组织中 GSH 水平明显降低(*P* < 0.01)。与模型组比较,联苯双酯组大鼠肝脏系数明显降低(*P* < 0.01),肝组织中 GSH 水平明显升高(*P* < 0.01);异型南五味子低、中、高剂量组大鼠肝脏系数明显降低(*P* < 0.01),肝组织中 GSH 水平明显升高(*P* < 0.01)。见表 2。

3.3 对急性肝损伤大鼠肝脏组织病理学变化的影响 光镜下可见正常组大鼠肝小叶结构清楚,肝细

表 2 异型南五味子醇提取物对急性肝损伤
大鼠肝脏系数、肝匀浆 GSH 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	肝脏系数 /%	GSH /mg·g ⁻¹
正常	-	3.41 ± 0.14	13.48 ± 1.46
模型	-	5.61 ± 0.34 ¹⁾	1.69 ± 0.61 ¹⁾
联苯双酯	2.1	4.20 ± 0.16 ²⁾	10.23 ± 1.38 ²⁾
异型南五味子醇提取物	92	3.90 ± 0.14 ²⁾	7.71 ± 0.59 ²⁾
	184	3.79 ± 0.11 ²⁾	8.86 ± 1.02 ²⁾
	368	3.66 ± 0.16 ²⁾	9.29 ± 0.87 ²⁾

胞索排列规则,肝细胞无变性、无坏死,肺管区无炎细胞浸润。模型组动物肝脏高度水肿,脂肪变性明显,可见灶性坏死。联苯双酯组肝细胞病变不明显,有少量炎细胞浸润,部分肝细胞脂肪变性。异型南五味子醇提取物中、高剂量组肝细胞病变程度减轻,部分呈点状坏死,肝细胞索排列较规则。异型南五味子醇提取物低剂量组肝细胞部分坏死,脂肪变性明显,有少量炎细胞浸润。说明异型南五味子醇提取物对 CCl₄ 所致的急性肝损伤有一定保护作用。见图 1。



A. 正常组; B. 模型组; C. 联苯双酯 2.1 mg·kg⁻¹组;
D. 异型南五味子醇提取物 92 mg·kg⁻¹组; E. 异型南五味子醇
提取物 184 mg·kg⁻¹组; F. 异型南五味子醇提取物 368 mg·kg⁻¹组

图 1 异型南五味子醇提取物对 CCl₄ 所致急性肝损伤
大鼠肝组织病理形态的影响 (HE 染色, ×100)

4 讨论

肝损伤是一种多因素参与的复杂病理过程^[3],肝组织细胞的损伤与多种酶、自由基以及脂质过氧化反应密切相关^[4-5]。CCl₄ 所致的急性肝损伤模型是最常用的经典模型之一,CCl₄ 在肝细胞中通过细胞色素 P450 的作用分解为三氯甲烷自由基 (CCl₃·),引起氧化应激及脂质过氧化连锁反应^[6-7],破坏细胞膜结构,使肝细胞变性、坏死,细胞内转氨酶、自由基渗入血液使其活性升高^[8]。血清转氨酶是肝细胞损伤的敏感指标,其中最常用的是

ALT 与 AST^[9]。血清 ALT 水平的高低可灵敏反映肝细胞破坏的程度。肝脏轻度受损时,细胞膜通透性增加,胞浆内 ALT,AST 释放入血;肝细胞受损严重时,线粒体内 AST 释放入血,从而引起血清 ALT 和 AST 升高^[10]。GSH 是一种内源性还原剂,它能直接清除体内自由基,保护细胞免受活性氧簇及自由基的氧化损伤,在机体抗氧化防御中发挥多方面作用^[11]。肝损伤时氧化应激过程,使 GSH 的合成减少而降解增多最终导致 GSH 水平的降低^[12-13]。

本研究结果显示,给予异型南五味子醇提取物的各剂量组大鼠血清中 ALT,AST 活性降低,肝组织病理变化减轻,肝脏系数的降低,肝匀浆中 GSH 含量均显著高于模型组,表明异型南五味子醇提取物对 CCl₄ 诱导的大鼠急性肝损伤模型具有一定的保护作用,其抗肝损伤机制可能与增强大鼠清除自由基的能力有关^[12]。笔者前期实验结果表明,异型南五味子醇提取物具显著抗炎、镇痛作用;而三萜类化合物为其主要药效物质基础。因此,异型南五味子醇提取物保肝降酶作用可能与其增加肝细胞抗自由基攻击能力,从而保护肝脏的作用密切相关,其具体的作用机制及其有效成分仍需进一步深入研究。

[参考文献]

[1] 熊鹏辉. 土家族“七”类药物考[J]. 中国民族医药杂志, 2007, 13(2):40.
[2] 王伟. 异型南五味子藤茎的化学成分与质量控制的研究[D]. 北京:北京大学, 2005.
[3] 金燕, 吴皓, 王令充, 等. 海洋物质的保肝活性研究概况[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(5):978.
[4] 许金鹏, 张慧慧, 李朝品, 等. 原卟啉钠对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用及其机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):168.
[5] 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.
[6] Somasundaram A, Karthikeyan R, Velmurugan V, et al. Evaluation of hepatoprotective activity of *Kyllinga nemoralis* (Hutch & Dalz) rhizomes [J]. J Ethnopharmacology, 2010, 127(2):555.
[7] Mantawy E M, Tadros M G, Awad A S, et al. Insights antifibrotic mechanism of methyl palmitate: impact on nuclear factor kappa B and proinflammatory cytokines [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2012, 258(1):134.
[8] 吴诚, 吕著海, 沈存思, 等. 养元饮对酒精性肝损伤大鼠解酒和保肝作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14):150.

北柴胡不同炮制品疏肝利胆药效作用初探

赵晶丽^{1*}, 高红梅²

(1. 吉林工业职业技术学院, 吉林 吉林 132013; 2. 长春中医药大学, 长春 130117)

[摘要] **目的:**探讨不同炮制方法对北柴胡疏肝利胆药效作用的影响。**方法:**选取 Wistar 大鼠, 随机分为正常、模型、生用、醋炙、酒炙、蜜炙及阳性对照组, 采用 40% CCl₄ 制备大鼠慢性肝损伤模型, 同时 ig 北柴胡不同炮制品(均为 5 g·kg⁻¹) 进行干预, 连续 8 周。测定大鼠血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、总胆红素(TBiL)、白蛋白(Alb)、总蛋白(TP)水平, 并计算白蛋白与球蛋白比值(A/G)。采用胆总管插管术, 观察北柴胡不同炮制品对大鼠胆汁流量的影响。**结果:**北柴胡醋炙组 ALT, AST, ALP, TBiL 含量降低最为显著($P < 0.01$); 蜜炙组次之($P < 0.05$); 生用组和酒炙组对 ALT, AST, ALP 含量有降低作用($P < 0.05$); 醋炙组 TP, Alb, A/G 含量升高最为显著($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 蜜炙组能使 TP, Alb 含量升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 生用组和酒炙组仅能使 TP 含量升高($P < 0.05$)。北柴胡醋炙组胆汁流出量增加最为显著($P < 0.05$)。**结论:**北柴胡醋炙品疏肝利胆作用最强, 蜜炙品次之, 酒炙品与生柴胡作用相当。

[关键词] 北柴胡; 炮制; 疏肝; 利胆

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0235-04

[doi] 10.11653/syjf2013160235

Preliminary Study on Soothing Liver and Choleric Effects of *Bupleurum chinense* and its Processed Products

ZHAO Jing-li^{1*}, GAO Hong-mei²

(1. Jilin Vocational College of Industry and Technology, Jilin 132013, China;

2. Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the impact of different processing methods on soothing liver and choleric effects of *Bupleurum chinense*. **Method:** Wistar rats were randomly divided into normal, model, health products, vinegar products, wine products, honey products and positive control group. Chronic hepatic injury model of rat was induced by 40% CCl₄. Then rats were treated with *B. chinense* and its processed products (both for 5 g·kg⁻¹) for 8 weeks. Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline

[收稿日期] 20121203(003)

[基金项目] 吉林省教育厅课题项目(2010-75)

[通讯作者] * 赵晶丽, 硕士, 讲师, 从事中药相关教学与研究工作, Tel: 0432-64644341, E-mail: jinglizhao2005@126.com

[9] 李峰杰, 姚广涛, 金若敏, 等. 山豆根致大鼠肝毒性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 190.

[10] Zeashan H, Amresh G, Singh S, et al. Hepatoprotective and antioxidant activity of *Amaranthus spinosus* against CCl₄ induced toxicity [J]. J Ethnopharmacology, 2009, 125(2): 364.

[11] Gabele E, Fron M, Aeteel G E, et al. TNF-alpha is required for cholestasis-induced liver fibrosis in the mouse [J]. Biochem Bioph Res Co, 2009, 378(3): 348.

[12] 王君明, 崔瑛, 申玲玲. 中药致药源性肝损伤的氧化应激机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 247.

[13] 冯泽岸, 马海忠, 李玲, 等. 南沙参多糖分散片急性毒性试验及对小鼠试验性肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(18): 247.

[责任编辑] 聂淑琴