

芒果叶醇提取物对小鼠急性酒精性肝损伤的影响

杜正彩¹, 邓家刚^{2*}, 黄慧学², 李学坚¹, 陈莉², 李好文²

(1. 广西中医药大学新药研究开发中心, 南宁 530001;

2. 广西中医药大学中药药效研究重点实验室, 南宁 530001)

[摘要] 目的:研究芒果叶醇提取物(MLE)对小鼠急性酒精肝损伤的影响。方法:18~22 g 昆明种小鼠,雌雄各半,随机分为正常组、模型组、阳性药(护肝片 1.5 g·kg⁻¹)组,MLE 高、中、低(15.0,5.0,2.5 g·kg⁻¹)剂量组,每组 10 只。小鼠 1 次性灌胃 50% 乙醇(12 mL·kg⁻¹)建立急性酒精性肝损伤模型,测定血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、门冬氨酸转氨酶(AST)活性及甘油三酯(TG)含量,检测肝组织中总超氧化物歧化酶(T-SOD)、谷胱甘肽(GSH)与丙二醛(MDA),并进行肝组织病理切片检查。结果:与模型组比较,MLE 高、中、低剂量组血清 TG 与肝组织 MDA 含量及肝损伤病理积分均明显降低($P < 0.05$);MLE 高、中剂量组小鼠血清 ALT 与 AST 活性明显降低($P < 0.05$),肝组织 GSH 水平明显升高($P < 0.05$);MLE 高剂量组肝组织 T-SOD 活性明显升高($P < 0.05$)。结论:MLE 对小鼠急性酒精肝损伤具有保护作用,可能与其抗脂质过氧化作用相关。

[关键词] 芒果叶; 急性酒精性肝损伤; 转氨酶; 甘油三酯; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)22-0250-04

[doi] 10.11653/syfy2013220250

[收稿日期] 20130312(008)

[基金项目] 广西科技攻关项目(桂科攻 10124008-10);广西自然科学基金项目(2010GXNSFA013194)

[第一作者] 杜正彩,硕士,主管药师,从事中药药效筛选研究工作,Tel:86-15907719818,E-mail:duzhengcai8@163.com

[通讯作者] * 邓家刚,硕士,教授,从事中药基础理论与药效筛选研究工作,E-mail:dengjg@tom.com

分别通过减食欲和促食欲作用而参与摄食的生理调控,同时在病理性摄食减少中起着重要的作用^[8]。SS 的生理作用是抑制胃肠道的运动^[9]及各种胃肠激素的释放^[10]。实验中观察到脾虚发热模型大鼠外周血 CCK-8,β-EP,SS 均明显升高,结果提示由隔日禁食和游泳疲劳诱导的脾虚发热模型伴有摄食中枢调控物质的改变及胃肠功能的抑制状态。与柴胡组单一提高外周血 β-EP 升高有所不同,芪柴各剂量组还能不同程度地降低外周血 SS,CCK-8,提示其可通过对多种脑肠肽的调节作用发挥其健脾作用。

[参考文献]

- [1] 陈敏时. 柴胡用量小议[J]. 江苏中医, 1996, 17(2):37.
- [2] 邓中甲. 方剂学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2012:150.
- [3] 刘进娜,谢鸣,高秀兰,等. 脾虚发热证大鼠模型的研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2012, 18(2):150.
- [4] 王洪海,谢鸣. 复合因素致脾虚证模型大鼠血中胃肠激素含量的变化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12

(10):31.

- [5] 张业,谢鸣. 中医方证关系研究的新思考[J]. 中医杂志, 2011, 52(3):181.
- [6] Roger D. Reidelberger. Cholecystokinin and control of food intake[J]. J Nutr, 1994, 124(8_Suppl):1327s.
- [7] Anika S M, Houtpt T R, Houtpt K A, et al. Satiety elicited by cholecystokinin in intact and vagotomized rats[J]. Physiol Behav, 1977, 19(6):761.
- [8] Faris P L, Komisaruk B R, Watkins L R, et al. Evidence for the neuropeptide cholecystokinin as an antagonist of opiate analgesia[J]. Science, 1983, 219(4582):310.
- [9] Buck Stephen H, Burcher Elizabeth, Shults Clifford W, et al. Novel pharmacology of substance K-binding sites: A third type of tachykinin receptor [J]. Science, 1984, 226(4677):987.
- [10] Per M Hellstrom, Mikael Thollander, Elvar Theodorsson. Nociceptive inhibition of migrating myoelectric complex by nitric oxide and monoaminergic pathways in the rat [J]. Am J Physio- Gastrointest Liver Physiol, 1998, 274(3):480.

[责任编辑 李玉洁]

Effect of Mango Leaf Extract on Acute Alcoholic Liver Injury in Mice

DU Zheng-cai¹, DENG Jia-gang^{2*}, HUANG Hui-xue², LI Xue-jian¹, CHEN Li², LI Hao-wen²

(1. Centre for Drug Research and Development, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Efficacy Study on Chinese Materia Medica, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

[Abstract] Objective: To observe the effect of mango leaf extract (MLE) on acute alcoholic liver injury in mice. **Method:** Sixty mice were randomly divided into control group, model group, positive drug group (Hugan tablet 1.5 g·kg⁻¹), MLE high, middle and low-dose (15.0, 5.0, 2.5 g·kg⁻¹) group, 10 each group. Acute liver injury model was induced by 50% alcohol given by gavage. The levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), triglycerides (TG) in the serum and malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), total superoxide dismutase (T-SOD) in the liver tissue were measured. Liver index was calculated and pathological changes of the liver tissue were observed under optical microscope. **Result:** Compared with model group, the serum TG in MLE high, middle and low dose group significantly lowered ($P < 0.05$); the serum ALT, AST in MLE high, middle dose group significantly lowered ($P < 0.05$); T-SOD activity in MLE high dose group rose obviously ($P < 0.05$); GSH levels of liver tissue in MLE high and middle dose group rose obviously ($P < 0.05$); MDA content in liver tissue in MLE high, middle and low dose group lowered obviously ($P < 0.05$); the liver pathological score of MLE high, middle and low dose group lowered significantly ($P < 0.05$). **Conclusion:** MLE has a protective effect on acute liver injury induced by alcohol in mice, which may be related to its anti-lipid peroxidation.

[Key words] mango leaf; mouse; acute alcoholic liver injury; transaminase; triglycerides; superoxide dismutase; malondialdehyde

由酒精引起的肝脏损伤,统称为酒精性肝病(ALD)。据统计,我国酒民中酒精性肝损伤(酒精肝、脂肪肝、肝硬化等)的发病率20%左右,资料报道食道癌、肝癌发病率的升高似乎也与饮酒有直接相关性^[1]。因此寻找新的治疗酒精性肝病的药物或产品受到许多学者的关注。

芒果叶是广西地方习用药材,收载于《广西中药材标准》1990年版^[2],具行气疏滞、去痧积的功效,民间也常用芒果叶泡茶解酒。芒果在广西已有400多年的栽培历史,目前广西芒果主要产于百色市右江河谷的右江区、田东县和田阳县^[3]。2006年仅百色市芒果栽培面积达2.63万公顷,产量7.6万吨,芒果产业已在百色市、县(区)农业生产中占有相当大的比重^[4]。然而,每年芒果树修剪掉的近100万吨的芒果叶未得到利用,造成了资源的极大浪费。因此,研究芒果叶是否对急性酒精性肝损伤具有保护作用,对开发解酒保肝新产品及芒果叶药用资源的充分利用都具有重要意义。本文研究芒果叶80%乙醇提取物对小鼠急性酒精性肝损伤的影响,为开发解酒保肝新产品提供前期研究基础。

1 材料

1.1 样品 芒果叶采自广西南宁市郊区,由广西中医药大学药用植物学教研室韦松基教授鉴定为芒果 *Mangifera indica* L. 的叶。芒果叶醇提取物(MLE)制备:将芒果叶阴干,称取1.0 kg,剪碎,以1:12料液比浸入80%乙醇,于60℃回流提取2 h,同法提取2次。合并提取液,减压回收乙醇,浓缩得到醇浸膏,70℃烘干,检测水分<5%,提取率约11.2%;护肝片(黑龙江葵花药业股份有限公司,批号201007070)。

1.2 动物 昆明种小鼠60只,雌雄各半,体重18~22 g,SPF级,湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,许可证号SCXK(湘)2009-0004。

1.3 仪器与试剂 Thermo SCIENTIFI 1500型MULTISKAN SPECTRUM酶标仪(美国),JY92型II DN超声细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司),Thermo-22190型石蜡病理切片机(美国Thermo公司)。丙氨酸转氨酶(ALT,批号20110426)、门冬氨酸转氨酶(AST,批号20110426)、总超氧化物歧化酶(T-SOD,批号

20110426)、丙二醛(MDA,批号 20110420)、谷胱甘肽(GSH,批号 20110426)、考马斯亮蓝蛋白(TP,批号 20110426)试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供;甘油三酯(TG)试剂盒,批号 20110401,由北京北化康泰临床试剂有限公司提供。

2 方法^[5-6]

2.1 分组、给药与造模 小鼠 60 只,雌雄各半,随机分为 6 组,每组 10 只。分为正常组、模型组、阳性药护肝片(1.5 g·kg⁻¹)组,MLE 高、中、低剂量组。ig 给药,正常组、模型组给予等体积蒸馏水,容量均为 20 mL·kg⁻¹,1 次/d,连续 7 d。第 7 天除正常组外,其余各组小鼠 1 次性 50% 乙醇 12 mL·kg⁻¹ ig 造成急性肝损伤模型,正常组 ig 等体积蒸馏水。禁食 16 h 后,眼球取血,随后脱颈椎处死动物,剖取肝组织,并进行各项指标检测及病理组织学检查。

造模成功标志:出现明显醉酒状态,但醉酒死亡动物数一般应 < 10%;血清 ALT, TG 明显升高(与正常组比较应有统计学差异);肝脏应出现比较明显的病理损伤(如肝细胞出现肿胀,脂肪变性等)。

2.2 生化指标检测 取小鼠血清,按试剂盒说明用酶标仪测定 ALT, AST, TG;取肝脏用生理盐水制成 10% 肝匀浆,按试剂盒说明用酶标仪测定肝组织 MDA, T-SOD, GSH 活性或含量。

2.3 肝病理学检查 眼球取血后脱颈椎处死小鼠,迅速剖取肝脏,从小鼠肝左叶中部做横切面取材,用 10% 甲醛固定,常规制片,HE 染色。用 40 倍物镜连续观察整个组织切片,观察脂滴在肝脏的分布、范围和面积,并按以下标准进行评分:0 分,肝细胞内脂滴散在、稀少;1 分,含脂滴的肝细胞不超过 1/4;2 分,含脂滴的肝细胞不超过 1/2;3 分,含脂滴的肝细胞不超过 3/4;4 分,肝组织几乎被脂滴代替。

2.4 数据统计 采用 SPSS 16.0 软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 *t* 检验, *P* < 0.05 为有统计意义。

3 结果

3.1 动物的一般表现 造模前,各剂量组小鼠一般情况正常,饮食,体重逐日增长。造模后,空白对照组小鼠动作自如,反应灵敏,毛发光泽;模型组、护肝片组和 MLE 各给药组小鼠步态不稳,活动减少,出现翻正反射消失,嗜睡等醉酒状态。

3.2 对生化指标的影响

3.2.1 对急性酒精肝损伤小鼠血清 ALT, AST, TG 的影响 与正常组比较,模型组小鼠血清 ALT, AST, TG 水平明显升高(*P* < 0.01),说明造模成功。与模型组相比,MLE 高、中剂量组与护肝片组小鼠

血清 ALT, AST 水平均明显降低(*P* < 0.05);MLE 高、中、低剂量组小鼠血清 TG 水平均明显降低(*P* < 0.05);护肝片组小鼠血清 TG 水平降低不明显。表明 MLE 能不同程度抑制急性酒精性肝损伤的转氨酶及血清 TG 升高的作用,优于护肝片。见表 1。

表 1 MLE 对小鼠血清 ALT, AST, TG 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	ALT /U·L ⁻¹	AST /U·L ⁻¹	TG /mmol·L ⁻¹
正常	-	27.24 ± 6.69 ²⁾	49.02 ± 11.95 ²⁾	1.07 ± 0.28 ²⁾
模型	-	48.06 ± 7.89	74.39 ± 6.81	2.48 ± 0.97
护肝片	1.5	32.73 ± 14.68 ¹⁾	55.90 ± 21.09 ¹⁾	2.05 ± 0.58
MLE	15.0	37.05 ± 10.53 ¹⁾	54.51 ± 24.43 ¹⁾	1.54 ± 0.28 ¹⁾
	5.0	39.11 ± 9.39 ¹⁾	61.12 ± 12.82 ¹⁾	1.63 ± 0.31 ¹⁾
	2.5	40.26 ± 14.09	65.71 ± 15.82	1.67 ± 0.38 ¹⁾

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

3.2.2 对急性酒精肝损伤小鼠肝匀浆 MDA, T-SOD, GSH 的影响 与正常组比较,模型组急性酒精肝损伤小鼠肝匀浆 T-SOD 与 GSH 活性或含量明显降低(*P* < 0.01),MDA 水平明显升高(*P* < 0.01)。与模型组相比,MLE 高剂量组与护肝片组小鼠肝匀浆中 T-SOD 活性明显升高(*P* < 0.05),MLE 高、中剂量组与护肝片组小鼠肝匀浆 GSH 水平明显升高(*P* < 0.05),MLE 高、中、低剂量组与护肝片组小鼠肝匀浆 MDA 含量明显降低(*P* < 0.05),这表明 MLE 与护肝片对酒精引起的 GSH 水平与 T-SOD 活力下降及 MDA 升高具有不同程度的抑制作用,从而保护酒精导致的肝细胞氧化损伤。见表 2。

表 2 MLE 对小鼠肝组织 MDA, T-SOD, GSH 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	T-SOD /U·mg ⁻¹	GSH /mg·g ⁻¹	MDA /nmol·mg ⁻¹
正常	-	328.32 ± 168.42 ²⁾	4.57 ± 2.24 ²⁾	8.59 ± 4.08 ²⁾
模型	-	125.63 ± 48.64	1.86 ± 0.62	35.06 ± 18.91
护肝片	1.5	180.42 ± 42.23 ¹⁾	2.89 ± 1.16 ¹⁾	15.72 ± 11.41 ¹⁾
MLE	15.0	169.07 ± 24.86 ¹⁾	2.91 ± 0.90 ¹⁾	17.76 ± 6.06 ¹⁾
	5.0	161.85 ± 32.25	2.76 ± 0.88 ¹⁾	18.34 ± 8.55 ¹⁾
	2.5	153.62 ± 51.53	2.44 ± 0.81	19.39 ± 11.19 ¹⁾

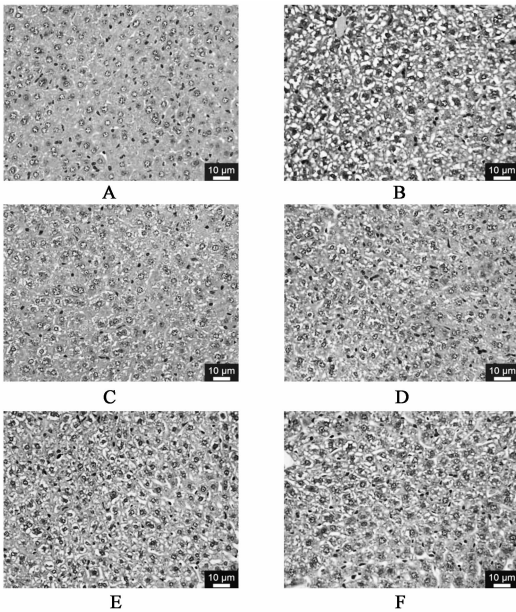
3.3 对肝组织病变的影响

3.3.1 对肝损伤小鼠脂肪变性病理积分的影响 与正常组比较,模型组肝损伤病理积分明显升高(*P* < 0.01),说明造模成功;与模型组比较,各给药组肝损伤积分明显降低(*P* < 0.05),表明 MLE 对小鼠急性酒精性肝损伤具有保护作用。见表 3。

表3 MLE对肝损伤小鼠肝脂肪变性积分的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	脂肪变性/分
正常	-	$0.30 \pm 0.46^{(2)}$
模型	-	3.50 ± 0.50
护肝片	1.5	$2.60 \pm 1.02^{(1)}$
MLE	15.0	$2.40 \pm 1.28^{(1)}$
	5.0	$2.50 \pm 0.92^{(1)}$
	2.5	$2.70 \pm 0.90^{(1)}$

3.3.2 对肝损伤小鼠肝组织病变的影响 正常组小鼠肝脏结构清楚完整,肝细胞呈多边形,肝细胞内脂滴散在、稀少;模型组肝细胞气球样肿胀,可见肝细胞脂肪变性,肝细胞周围出现大小不一的圆形脂滴空泡,含脂滴的肝细胞明显增加,肝组织几乎被脂滴代替,说明造模成功;护肝片组和MLE组与模型组比较:肝细胞结构较清晰,肝细胞浊肿与脂滴明显减少,脂肪变性减轻。见图1。



A. 对照组;B. 模型组;C. 护肝片 $1.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;

D. MLE $15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;E. MLE $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;F. MLE $2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组

图1 MLE对小鼠肝脏病变的影响(HE, $\times 400$)

4 讨论

芒果叶中含有芒果苷、槲皮素、没食子酸等活性成分^[7-8],其中芒果苷具有抗炎、抗氧化作用,对大鼠急、慢性实验性肝损伤有明显的保护作用,能减轻肝损伤导致的肝细胞混浊肿胀、脂肪样变、炎症浸润及坏死等病变程度^[9-10]。芒果苷也能降低酒精性肝损伤小鼠血清中ALT,AST和肝脏的MDA,TG水平,提高血清SOD水平^[11]。此外,芒果叶中的活性成分槲皮素、没食子酸等也具有抗炎作用,且与芒果

苷的抗炎作用存在交互影响的关系^[12]。上述研究结果提示芒果叶中的活性成分具有抗氧化、抗炎与保肝作用。

本研究结果表明,MLE可明显降低急性酒精性肝损伤小鼠血清ALT,AST与TG水平及肝脏MDA水平,可不同程度提高肝脏SOD活性与GSH含量。病理结果显示,MLE可明显减轻酒精引起的脂肪沉积等肝脏病理损伤。可见,芒果叶具有抗脂质过氧化及保肝降酶作用,表现出良好的抗炎保肝效果,因此,研究芒果叶抗酒精性肝损伤作用并将其直接开发成解酒保肝产品,不仅可以解决临床上用药缺乏、用药成本高等问题,还可以解决广西大宗农作物废弃物——芒果叶利用率低的问题,延长农业产业链,提高农民的收入,以减轻患者的生活和经济负担。

[参考文献]

- [1] Chedid A, Mendenhall C L, Gardside P, et al. Prognostic factors in alcoholic liver disease[J]. Am J Gastroenterol, 1991, 82(3):210.
- [2] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准[S]. 南宁:广西科学出版社,1992:54.
- [3] 刘荣光,欧古经,谢燕萍,等. 广西芒果生产与科研考察[J]. 广西农业科学,1993,32(5):213.
- [4] 韦芳. 试论百色市芒果品牌战略[J]. 广西热带农业,2008,116(3):50.
- [5] 黄雨三. 保健食品检验与评价技术规范实施手册[S]. 第四卷. 北京:中科多媒体电子出版社,2003:711.
- [6] 白霜,金玲. 护肝片预防小鼠酒精性肝损伤作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(6):64.
- [7] 邓家刚,冯旭,王勤,等. 不同产地及不同品种芒果叶中芒果苷的含量对比研究[J]. 中成药,2006,28(12):1755.
- [8] 冯旭,王胜波,邓家刚,等. HPLC法测定芒果叶中没食子酸的含量[J]. 山西中医学院学报,2008,9(1):45.
- [9] 成海龙,李玉华,卞庆亚. 芒果甙对实验性肝损伤大鼠酶及形态变化影响的研究[J]. 中国实验动物学杂志,1999,9(1):24.
- [10] 黄小鸥,邓家刚,陈壮. 芒果苷滴丸对大鼠慢性肝损伤的保护作用[J]. 中国药师,2009,12(6):701.
- [11] 韦健全,郑子敏,潘勇,等. 芒果苷对乙醇引起肝损伤的保护作用[J]. 广西医科大学学报,2008,25(5):732.
- [12] 李学坚,胡文姬,邓家刚,等. 析因分析法研究槲皮素对芒果苷抗炎祛痰作用的影响[J]. 时珍国医国药,2012,23(1):27.

[责任编辑 李玉洁]