

山楂叶总黄酮自乳化颗粒对大鼠非酒精性脂肪肝的防治作用

魏秀芳¹, 梁钰华², 李远瑾¹, 林丽微¹, 廖华卫¹, 崔升森^{1*}

(1. 广东药学院, 广州 510006; 2. 广州市番禺区中心医院, 广州 511400)

[摘要] 目的:研究山楂叶总黄酮自乳化颗粒(HLFSG)对非酒精性脂肪肝模型大鼠的治疗作用。方法:SD大鼠40只,随机分成4组,以高脂饲料喂养建立非酒精性脂肪肝大鼠模型,以罗格列酮 $0.36\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 作阳性对照,观察HLFSG($50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)ig后对大鼠血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C)、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)和肝组织中TC、TG、游离脂肪酸(FFA)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)的影响。结果:与模型组比较,HLFSG能显著降低非酒精性脂肪肝大鼠TC、TG、LDL-C、FFA、ALT、AST和肝MDA水平($P < 0.05$, $P < 0.01$),并能显著升高HDL-C水平和肝SOD活性($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论:HLFSG可降低脂肪肝大鼠的血脂,保护肝功能,从而起到治疗大鼠脂肪肝的作用。

[关键词] 山楂叶总黄酮自乳化颗粒; 非酒精性脂肪肝; 大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0219-03

[doi] 10.11653/syjf2013140219

Effects of Hawthorn Leaves Flavonoids Self-emulsifying Granules on Nonalcoholic Fatty Liver in Rats

WEI Xiu-fang¹, LIANG Yu-hua², LI Yuan-jin¹, LIN Li-wei¹, LIAO Hua-wei¹, CUI Sheng-miao^{1*}

(1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

2. Guangzhou Panyu Central Hospital, Guangzhou 511400, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Hawthorn leaves flavonoids self-emulsifying granules (HLFSG) on non-alcoholic fatty liver disease. **Method:** Forty rats were randomized into 4 groups and fed high fat diet to induce non-alcoholic fatty liver disease model. Rosiglitazone was as the positive control group. The influence of the HLFSG ($50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) treatments on total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein-C (LDL-C), high-density lipoprotein-C (HDL-C), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), free fatty acid (FFA), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) was investigated. **Result:** Compared with the model group, HLFSG reduced TC, TG, LDL-C, FFA, ALT, AST, MDA significantly ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and a significant increase of HDL-C and SOD was observed. **Conclusion:** HLFSG is beneficial to the treatment of fatty liver through reducing blood lipid and improving the liver functions in rats.

[Key words] Hawthorn leaves flavonoids self-emulsifying granules; nonalcoholic fatty liver; rat

非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver, NAFL)是无酗酒而出现肝实质细胞脂肪变性和脂肪贮积为特征的肝病综合征,常与高脂血症、肥胖、胰

岛素抵抗相关^[1]。近年来由于生活方式、饮食结构等的改变,NAFL亦随着血脂异常、肥胖、2型糖尿病等代谢相关疾病的增加而越来越引起人们的重视。

[收稿日期] 20130110(004)

[基金项目] 广东省高等学校科技创新项目(2012KJCX0070);2012年广东省大学生创新训练项目(1057312029);广东省科技计划项目(粤科社字[2011]106号);2010年广东药学院大学生创新实验项目

[通讯作者] * 崔升森, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事中药新剂型与新技术, Tel: 020-39352169, E-mail: cuishengmiao@yahoo.com

山楂叶系蔷薇科植物,具有降血脂、降压、增大心脏血流量等作用。山楂叶总黄酮自乳化颗粒是本课题组对山楂叶总黄酮制剂(益心酮片)的二次开发^[2],且前期研究发现山楂叶总黄酮自乳化释药系统具有明显降低大鼠高血脂的作用^[3],文献报道非酒精性脂肪肝的形成与血脂有一定的相关性^[4],因此,本实验重点在于进一步探讨 HLFSG 对非酒精性脂肪肝大鼠的治疗作用,为进一步研究开发山楂总黄酮新剂型提供药效学试验依据。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠,SPF 级,体质量 180~200 g,动物合格证号 2010A020,由广东省医学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(粤)2008-0002。

1.2 药品 山楂叶总黄酮(山西金甲药业有限公司,批号 20071025);罗格列酮片(成都恒瑞制药有限公司,批号 20100624);山楂叶总黄酮自乳化颗粒(自制)^[2]。

1.3 试剂 血清总胆固醇(TC,批号 110432.201106),甘油三酯(TG,批号 110342.201102),高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C,批号 110309.201103),游离脂肪酸(FFA,批号 110532.201105),丙氨酸转氨酶(ALT,批号 110210.201103),天冬氨酸转氨酶(AST,批号 110215.201105),均购自北京中生生物工程技术有限公司;超氧化物歧化酶(SOD,批号 20110412),丙二醛(MDA,批号 20110324),均购自南京建成生物工程研究所。

1.4 仪器 AMS-18 型全自动生化仪(北京奥普森科技发展有限公司);TGL-16G 型低温高速离心机(上海安亭科学仪器厂);UV-1800 紫外-可见光光度计(北京瑞利分析有限公司)。

2 方法

2.1 分组、造模与给药 SD 大鼠 40 只,实验开始

前禁食不禁水 12 h。将大鼠随机分成 4 组:对照组、模型组、罗格列酮(0.36 mg·kg⁻¹)阳性对照组、HLFSG(山楂叶总黄酮 50 mg·kg⁻¹)组,每组 10 只。除对照组给予普通饲料外,其他组 ig 给予高脂饲料(基础饲料 88% + 胆固醇 1.5% + 胆盐 0.5% + 猪油 10%)制备大鼠非酒精性脂肪肝模型且自由饮水,造模同时给药组 ig 给予相应药物,对照组及模型组给予等量生理盐水,连续 8 周。

2.2 标本采集 实验第 8 周结束时,于最后 1 次给药后禁食 12 h 麻醉状态下股动脉取血,将血样低温离心,分离血清待检。取适量肝组织置于冰箱内 -4℃ 迅速冷冻。

2.3 指标检测 用相应试剂盒检测血清 TC, TG, HDL-C, FFA, AST, ALT 水平。取肝组织自然解冻,冰生理盐水冲洗、滤纸吸湿后,称取湿重 400 mg 左右,加入预冷的生理盐水,冰水中制成匀浆,4℃,3 500 r·min⁻¹离心 10 min,提取上清液,制成 10% 组织匀浆,测定 TC, TG 含量。SOD 采用黄嘌呤氧化酶法,MDA 采用硫代巴比妥酸(TBA)比色分析法。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计软件对数据进行分析,数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用方差分析。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对非酒精性脂肪肝大鼠血脂水平和 FFA 的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清 TC, TG, LHL-C, FFA 显著升高($P < 0.01$),HDL-C 显著降低($P < 0.01$),表明造模成功。给药 8 周后,罗格列酮、HLFSG 均能显著降低血清 TC, TG, LDL-C, FFA 水平($P < 0.05, P < 0.01$),显著升高 HDL-C 水平($P < 0.05, P < 0.01$),见表 1。

表 1 HLFSG 对非酒精性脂肪肝大鼠血脂和 FFA 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	TC/mmol·L ⁻¹	TG/mmol·L ⁻¹	HDL-C/mmol·L ⁻¹	LDL-C/mmol·L ⁻¹	FFA/mol·L ⁻¹
正常	-	1.83 ± 0.14	0.89 ± 0.14	0.91 ± 0.11	0.65 ± 0.21	203.47 ± 40.32
模型	-	4.56 ± 1.54 ¹⁾	2.08 ± 0.40 ¹⁾	0.48 ± 0.07 ¹⁾	3.74 ± 1.24 ¹⁾	527.55 ± 123.92 ¹⁾
罗格列酮	0.36	3.25 ± 0.87 ²⁾	1.32 ± 0.27 ²⁾	0.74 ± 0.10 ³⁾	1.47 ± 0.39 ³⁾	238.40 ± 45.93 ³⁾
HLFSG	50	3.12 ± 0.76 ³⁾	1.45 ± 0.31 ²⁾	0.72 ± 0.09 ³⁾	1.64 ± 0.46 ³⁾	218.75 ± 38.41 ³⁾

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

3.2 各组大鼠肝组织中 TG, TC, MDA 含量和 SOD 活性的变化 与正常组比较,模型组大鼠肝组织中 TC, TG 的水平明显升高($P < 0.01$),SOD 活性明显降低($P < 0.01$),显示 NAFL 大鼠存在着明显的

肝内脂质代谢紊乱和脂质过氧化损伤。与模型组比较,罗格列酮和 HLFSG 能显著降低肝脏 TC, TG, MDA 水平($P < 0.01$),表明 HLFSG 能够显著减少脂质在肝脏中的积聚,从而减轻肝脂质变化程度。

与正常组比较,模型组 SOD 活性显著下降,MDA 含量明显增加 ($P < 0.01$)。与模型组比较,罗格列酮组和 HLFSG 组 SOD 活性显著增强 ($P < 0.01$),

MDA 水平明显下降 ($P < 0.01$),结果表明 HLFSG 具有增强 SOD 活力,抗脂质过氧化的作用。见表 2。

表 2 芪蚣抗纤方拆方对大鼠肝组织中 TG,TC,MDA 含量和 SOD 活性的组间比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	TC/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	TG/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	MDA/ $\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$	SOD/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$
正常	-	0.53 ± 0.06	0.82 ± 0.10	1.30 ± 0.21	507.36 ± 107.24
模型	-	3.58 ± 0.75 ¹⁾	2.43 ± 0.42 ¹⁾	2.55 ± 0.49 ¹⁾	252.77 ± 84.43 ¹⁾
罗格列酮	0.36	1.25 ± 0.87 ³⁾	1.13 ± 0.22 ³⁾	1.41 ± 0.37 ³⁾	482.36 ± 113.68 ³⁾
HLFSG	50	1.38 ± 0.27 ³⁾	1.24 ± 0.28 ³⁾	1.36 ± 0.35 ³⁾	458.62 ± 95.70 ³⁾

3.3 对非酒精性脂肪肝大鼠血清中肝功能指标的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清 AST,ALT 活性明显升高 ($P < 0.01$),显示 NAFL 大鼠存在着明显的肝功能损伤。与模型组比较,罗格列酮和 HLFSG 均能显著降低 AST,ALT 水平 ($P < 0.05, P < 0.01$),表明 HLFSG 对非酒精性脂肪肝大鼠具有明显的保肝作用。见表 3。

表 3 HLFSG 对非酒精性脂肪肝大鼠肝功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
U·L⁻¹

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	ALT	AST
正常	-	39.52 ± 4.55	156.35 ± 15.30
模型	-	70.60 ± 10.59 ¹⁾	220.62 ± 18.74 ¹⁾
罗格列酮	0.36	48.63 ± 7.51 ³⁾	170.36 ± 10.86 ²⁾
HLFSG	50	50.36 ± 6.99 ²⁾	167.95 ± 15.62 ²⁾

4 讨论

近年来,降血脂、防治脂肪肝的中草药因其疗效肯定,毒副作用小而广受重视,多项研究报道了中草药调节血脂和防治脂肪肝的机制^[5-7],显示了调节血脂和预防脂肪肝具有一定的相关性。

脂肪肝的形成与体内氧化应激和脂质过氧化物的形成有关。脂质过氧化反应干扰了肝内脂类代谢,而脂质沉积的增多又加重了过氧化反应,肝内 TG、FFA 的增加为脂质过氧化反应提供了足够的反应基质,使肝组织抗氧化能力减弱,导致肝脏 SOD 的活力降低,最终导致肝细胞的损伤,引起脂肪肝^[8]。山楂叶总黄酮被证明是目前最具抗氧化潜力的一类化合物,具有抑制或清除氧自由基、抗脂质过氧化、调节血脂、改善肝微循环及抗炎症损伤等作用^[9-10]。近年来,研究发现山楂叶总黄酮能减少非酒精性脂肪肝大鼠脂质过氧化反应^[10]。

本研究结果显示,HLFSG 可显著降低血清 TC, TG, ALT, AST 和肝组织 TC, TG, FFA, MDA 的含量

或活性,增加肝组织 SOD 的活性,减轻肝功能的损伤程度。由此揭示了增加 SOD 活性,降低 MDA 含量,改善肝内脂质代谢,是山楂叶总黄酮抗脂肪肝的主要机制。该研究的进行为进一步研究开发治疗脂肪肝的新药提供药效学试验依据。

[参考文献]

- [1] 翁小刚,朱晓新,杨庆. 非酒精性脂肪肝的实验研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(11):104.
- [2] 张建,叶珍珍,崔升森. 山楂叶总黄酮固体自乳化颗粒的处方优化和评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(4):13.
- [3] 崔升森,赵春顺. 山楂叶提取物自微乳化释药系统的降血脂作用[J]. 时珍国医国药,2009,20(12):2989.
- [4] 任国庆,牛海玲. 脂肪肝与血脂、肝功能指标的相关性分析[J]. 临床合理用药,2009,21(2):51.
- [5] 康学东,余臣祖,朱瑾,等. 化浊颗粒治疗大鼠非酒精性脂肪肝的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(18):200.
- [6] 姚红霞,郭姣,唐春萍,等. 复方贞术调脂胶囊对大鼠非酒精性脂肪肝调脂保肝作用及机制研究[J]. 中草药,2011,42(10):2074.
- [7] 沈鸿,李惠,金亚宏,等. 舒肝降脂胶囊对急性脂肪肝大鼠的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(9):186.
- [8] 董菁,成军. 脂肪肝形成分子机制的研究[J]. 世界华人消化杂志,2002,10(9):1035.
- [9] 叶希韵,徐敏华,李晓峰,等. 山楂叶总黄酮降血脂防治鹤鹑脂肪肝形成的实验研究[J]. 复旦学报:医学版,2009,36(2):142.
- [10] 陈芝芸,严茂祥,何蓓晖. 大鼠非酒精性脂肪性肝炎形成中氧化应激水平的变化及山楂叶总黄酮对其的影响[J]. 医学研究杂志,2007,36(12):33.

[责任编辑 聂淑琴]