

甘宝胶囊对小鼠急性肝损伤的保护作用

曹国琼, 张永萍*, 隋艳华, 肖承鸿

(贵阳中医学院, 贵阳 550002)

[摘要] **目的:**研究甘宝胶囊对四氯化碳(CCl₄)、乙醇、扑热息痛所致小鼠急性肝损伤的保护作用。**方法:**取昆明种小鼠60只,随机分为6组:空白对照组,肝损伤模型对照组,甘宝胶囊0.125,0.25,0.5 g·kg⁻¹剂量组,联苯双酯阳性对照组0.2 g·kg⁻¹;ig给药,每日1次,至设定日期末分别用CCl₄、乙醇、扑热息痛造成急性肝损伤模型。比色法检测血清中的丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)和碱性磷酸酶(AKP)的水平,同时测定肝脏系数,此外CCl₄造模组测溶血素、脾脏和胸腺系数。**结果:**甘宝胶囊高、中剂量组能明显降低由CCl₄、乙醇、扑热息痛致肝损伤模型的ALT,AST,肝脏系数($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。高剂量组能显著降低扑热息痛造模小鼠AKP的活性($P < 0.05$),并显著升高CCl₄造模小鼠的溶血素含量,降低胸腺系数及脾脏系数($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论:**甘宝胶囊对四氯化碳、乙醇、扑热息痛致肝损伤具有明显的保护作用。

[关键词] 甘宝胶囊;肝损伤;四氯化碳;扑热息痛

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0264-04

Protective Effects of Ganbao Capsule on Liver Injury in Mice

CAO Guo-qiong, ZHANG Yong-ping*, SUI Yan-hua, XIAO Cheng-hong
(Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To study the protect effects of Ganbao capsule on liver-injury induced by carbon tetrachlotide (CCl₄) ethanol and acetaminophen in mice. **Method:** Sixty KM mice were divided into 6 groups randomly: blank control group, model group with liver injury, three experimental groups (Ganbao capsule 0.125, 0.25, 0.5 g·kg⁻¹ respectively), positive control group (biphenyl double ester 0.2 g·kg⁻¹). CCl₄, ethanol and acetaminophen were accordingly given to mice by oral gavage once in order to make the acute liver injury model at

[收稿日期] 20120627(008)

[基金项目] 贵州省中药现代化项目(黔科合中药字[2011]5032号)

[第一作者] 曹国琼, 硕士, 从事药物新制剂与新剂型研究, Tel:15885089935, E-mail:cgqxch1986@126.com

[通讯作者] *张永萍, 硕士, 教授, 从事药物新制剂与新剂型研究, Tel:0851-5615144, E-mail:zgygpg@126.com

[4] 赵保胜,董淑云,董淑云,等. 2型糖尿病动物模型的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(5):62.

[5] 邓航,贺敏,李江,等. 柿叶多糖对糖尿病小鼠降血糖作用及其机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4):114.

[6] 邢莎莎,陈超. 香橼子总多酚对糖尿病小鼠的降血糖作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11):169.

[7] Mahnensmith R L. Diabetic nephropathy: a comprehensive approach [J]. Hosp Pract (Off Ed), 1993, 28(3):129.

[8] Sarafidis P A, Riehle J, Bogojevic Z, et al. A comparative evaluation of various methods for microalbuminuria screening [J]. Am J Nephrol, 2008, 28(2):324.

[9] 屈智慧,杨立志,赵颖,等. 糖尿病大鼠蛋白尿与肾脏病理及 nephrin 表达的相关性研究[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(9):1441.

[10] Levin-Iaina N, Iaina A, Raz I. The emerging role of NO and IGF-1 in early renal hypertrophy in STZ-induced diabetic rats [J]. Betes Metab Res Rev, 2011, 27(3):235.

[11] Berfield A K, Chait A, Oram J F, et al. IGF-1 induces rat glomerular mesangial cells to accumulate triglyceride [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2006, 290(1):138.

[责任编辑 李玉洁]

the end of experiment. Serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (AKP) were measured, the liver index was simultaneously determined. In addition in CCl₄-induced model, hemolysin, spleen and thymus indexes were measured. **Result:** Ganbao capsule high, middle dose could obviously reduce ALT, AST, liver index for the liver injury models ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). High dose could reduce AKP's content in the mice model induced by acetaminophen ($P < 0.05$), and significantly increase hemolysin content in the CCl₄ model, and reduce the thymus index and spleen index in the same model ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** Ganbao capsule has the function of protecting the liver from liver injury induced by CCl₄, ethanol and acetaminophen.

[**Key words**] Ganbao capsule; liver injury; CCl₄; acetaminophen

甘宝胶囊由贵州特色药材金银花、刺梨、枸杞子和山楂等组成,处方中各味药均为药食同源。现代药理研究发现处方中的金银花^[1]、枸杞子^[2]和山楂^[3]均有保肝利胆的作用。近年来,由于饮酒过多、熬夜过劳、环境污染等原因,肝病的发病率也呈逐年增加趋势。研究拟采用四氯化碳、乙醇、扑热息痛致小鼠肝损伤的方法,观察甘宝胶囊对血清肝功能指标的影响,以期将甘宝胶囊开发为具有预防保健和治疗肝损伤的新药。

1 材料

1.1 动物 清洁级昆明种小鼠,雌雄各半,体重18~22 g。由贵阳医学院实验动物中心提供,动物生产许可证 SCXK(黔)2002-0001。饲养在贵阳中医药大学药理实验室,室内温度(20±2)℃,湿度(65±5)%,每日光照和黑暗时间各12 h。实验期间自由进食饮水。

1.2 药物和试剂 甘宝胶囊,贵阳医学院药物制剂实验室提供,批号20100515。联苯双酯,浙江医药股份有限公司新昌制药三厂,批号20090204。四氯化碳,成都市科尤化工试剂厂,批号20070319。扑热息痛,四川好医生制药有限公司,批号20091116。谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)和碱性磷酸酶(AKP)试剂盒,均购于上海荣盛技术有限公司,批号20101020。

1.3 仪器 Auy220-型电子天平(日本岛津);LDZ4-0.8A型离心机(北京医药离心机厂);GBC Cintra20-紫外-可见分光光度计(澳大利亚照生公司);HH-501-型恒温水浴箱(金坛市恒丰仪器厂);YKH-1-型液体快速混合器(江西医疗器械厂)。

2 方法

2.1 对CCl₄致小鼠急性肝损伤的保护作用^[4] 取小鼠60只,雌雄各半,随机分成6组,每组10只,分别为空白对照组,模型组,阳性药联苯双酯组,甘宝胶囊高、中、低剂量组。甘宝胶囊高、中、低剂量组给

药量分别为0.5,0.25,0.125 g·kg⁻¹;阳性药组给予联苯双酯0.2 g·kg⁻¹;空白对照组和模型组给予同量的蒸馏水。每天1次,连续10 d,ig 体积为20 mL·kg⁻¹。末次给药后禁食8 h后,除正常组 ip 0.9% NaCl 10 mL·kg⁻¹外,其余各组 ip 0.08% CCl₄ 花生油溶液 10 mL·kg⁻¹。12 h后眼球取血,将血液置于37℃恒温水浴箱中水浴10 min,以3 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液,用试剂盒测定血清ALT,AST。迅速取肝脏,放入冰冷的生理盐水中清洗血污,称量肝脏质量,计算肝脏系数。

2.2 对CCl₄致小鼠肝损伤免疫功能的影响^[5] 取小鼠60只,雌雄各半,分组及给药同**2.1**,每天1次,连续12 d,ig 体积为20 mL·kg⁻¹。除空白对照组 ip 0.9% NaCl 10 mL·kg⁻¹外,其他组分别于第1,4,7,11天各 ip 0.2% CCl₄ 豆油溶液 10 mL·kg⁻¹,第5天给药1 h后,各组动物每只 ip 5% 鸡红细胞混悬液 0.2 mL。末次给药1 h后,眼球取血,测定溶血素。迅速取胸腺、脾脏,放入冰冷的生理盐水中清洗血污,称量胸腺、脾脏质量,计算胸腺、脾脏系数。

2.3 对乙醇致小鼠急性肝损伤的保护作用^[6] 取小鼠60只,雌雄各半,分组及给药同**2.1**。每日1次,连续30 d,ig 体积为20 mL·kg⁻¹。末次给药后,除正常组外,其余各组 ig 给予50%乙醇20 mL·kg⁻¹;空白对照组 ig 给予等体积0.9% NaCl。禁食16 h后眼球取血,处理同**2.1**,测定血清ALT,AST。迅速取肝脏,处理同**2.1**,计算肝脏系数。

2.4 对扑热息痛致小鼠急性肝损伤的保护^[7] 取小鼠60只,雌雄各半,分组及给药同**2.1**。每日1次,连续7 d,ig 体积为20 mL·kg⁻¹。末次给药后,除空白对照组外,其余各组按150 mg·kg⁻¹ ip 扑热息痛混悬液造模;空白组 ip 同体积的0.9% NaCl。禁食后16 h眼球取血,处理同**2.1**,测定血清ALT,AST,AKP。迅速取肝脏,处理同**2.1**,计算肝脏系数。

2.5 数据处理 采用 SPSS 17.0 统计软件, 各组实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各给药组与对照组和模型组间均值比较均采用配对样本 t 检验, $P < 0.05$ 为有显著性差异, $P < 0.01$ 为有极显著性差异。

3 结果

3.1 对 CCl₄ 致小鼠急性肝损伤的保护作用 与空白对照组比较, CCl₄ 模型组小鼠血清中 ALT 和 AST 活性显著升高 ($P < 0.01$), 说明造模成功。甘宝胶囊高、中剂量组与联苯双酯对照组均对 ALT, AST 的异常升高有显著的抑制作用, 与模型组比较均有显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与空白对照组比较, 模型组小鼠肝质量明显增加, 肝脏系数显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 甘宝胶囊各剂量组小鼠肝脏系数显著降低 ($P < 0.05$)。结果见表 1。

3.2 对 CCl₄ 致小鼠肝损伤免疫功能影响 与空白对照组比较, 模型组溶血素吸光度明显减小 ($P <$

0.01)。甘宝胶囊高、中剂量组和阳性药组与模型组比较均有明显升高 ($P < 0.01$)。与空白对照组比较, 模型组胸腺、脾脏系数明显升高 ($P < 0.01$), 甘宝胶囊高、中剂量组和阳性药组与模型组比较均有显著降低。结果见表 2。

3.3 对乙醇致小鼠急性肝损伤的保护作用 与空白对照组比较, 模型组小鼠血清中 ALT, AST 活性明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 说明肝细胞受损, 造模成功。与模型组比较, 甘宝胶囊高剂量组和阳性药组能明显降低小鼠血清中 ALT, AST 活性 ($P < 0.05$), 甘宝胶囊中、低剂量组对小鼠血清中 ALT, AST 活性降低也有一定作用。模型组肝系数与空白对照组比较明显升高 ($P < 0.01$), 与模型组比较甘宝胶囊高、中剂量及阳性药组均有降低。结果见表 3。

3.4 对扑热息痛致小鼠急性肝损伤的保护作用

表 1 甘宝胶囊对 CCl₄ 致小鼠急性肝损伤血清 ALT, AST 及肝系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	肝脏系数/g·10 g ⁻¹
空白对照	-	55.2 ± 10.4	148 ± 79.6	0.470 ± 0.067
模型	-	137.1 ± 40.6 ²⁾	260 ± 125.8 ²⁾	0.634 ± 0.082 ²⁾
甘宝胶囊	0.500	79.5 ± 19.9 ^{1,4)}	126.8 ± 91.6 ⁴⁾	0.554 ± 0.061 ^{1,3)}
	0.250	109.6 ± 34.4 ^{2,3)}	159.7 ± 99.2 ⁴⁾	0.580 ± 0.059 ^{1,3)}
	0.125	130.1 ± 32.0 ²⁾	158 ± 54.0 ⁴⁾	0.574 ± 0.075 ^{1,3)}
联苯双酯	0.200	94.7 ± 20.4 ^{2,3)}	176.8 ± 69.5 ⁴⁾	0.540 ± 0.055 ^{1,4)}

注: 与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

表 2 甘宝胶囊对 CCl₄ 致小鼠肝损伤免疫功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	A	胸腺系数/mg·g ⁻¹	脾脏系数/mg·g ⁻¹
空白对照	-	0.406 ± 0.130	36.4 ± 5.78	43.9 ± 8.47
模型	-	0.249 ± 0.154 ²⁾	54.4 ± 12.64 ²⁾	78.7 ± 11.32 ²⁾
甘宝胶囊	0.500	0.406 ± 0.131 ⁴⁾	40.3 ± 4.73 ³⁾	51.5 ± 13.67 ⁴⁾
	0.250	0.401 ± 0.149 ⁴⁾	40.4 ± 4.32 ³⁾	52.1 ± 11.45 ⁴⁾
	0.125	0.388 ± 0.138 ³⁾	43.9 ± 8.47 ³⁾	55.0 ± 9.35 ^{1,3)}
联苯双酯	0.200	0.398 ± 0.138 ⁴⁾	38.8 ± 6.82 ³⁾	53.2 ± 10.94 ^{1,4)}

表 3 甘宝胶囊对乙醇致小鼠急性肝损伤血清 ALT, AST 及肝系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	肝脏系数/g·10 g ⁻¹
空白对照	-	41.36 ± 7.02	156.75 ± 22.95	0.486 ± 0.050
模型	-	57.38 ± 11.53 ¹⁾	225.90 ± 71.95 ²⁾	0.594 ± 0.063 ²⁾
甘宝胶囊	0.500	42.96 ± 8.90 ³⁾	154.51 ± 39.47 ⁴⁾	0.478 ± 0.061 ⁴⁾
	0.250	52.44 ± 11.89 ¹⁾	193.38 ± 43.82 ¹⁾	0.532 ± 0.038 ^{1,3)}
	0.125	51.39 ± 16.71 ¹⁾	193.10 ± 66.12 ¹⁾	0.533 ± 0.072 ^{1,3)}
联苯双酯	0.200	44.08 ± 8.36 ³⁾	150.88 ± 29.46 ⁴⁾	0.503 ± 0.036 ^{1,3)}

扑热息痛模型组动物血清 ALT,AST 和 AKP 活性明显升高,与空白对照组比较差异显著 ($P < 0.01$)。甘宝胶囊高、中、低剂量组对小鼠升高的 ALT,AST,AKP 活性均有不同程度的降低。与空白对照组比

较,模型组小鼠肝脏质量明显增加,肝系数明显升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较甘宝胶囊各剂量组小鼠肝系数均降低 ($P < 0.05$)。结果见表 4。

表 4 甘宝胶囊对扑热息痛致小鼠急性肝损伤血清 ALT,AST,AKP 及肝系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	ALT /U·L ⁻¹	AST /U·L ⁻¹	AKP /U·L ⁻¹	肝脏系数 /g·10 g ⁻¹
对照	-	42.12 ± 5.47	157.8 ± 40.74	267.3 ± 63.33	0.464 ± 0.053
模型	-	315.2 ± 275 ²⁾	248.4 ± 192.1 ²⁾	359.6 ± 109 ²⁾	0.547 ± 0.050 ¹⁾
甘宝胶囊	0.500	157.4 ± 108.6 ⁴⁾	144.9 ± 93.6 ⁴⁾	256.7 ± 71.8 ³⁾	0.479 ± 0.041 ³⁾
	0.250	179.3 ± 240.6 ⁴⁾	151.2 ± 89.2 ⁴⁾	287.7 ± 62.2	0.503 ± 0.092 ³⁾
	0.125	191.0 ± 191 ³⁾	195.1 ± 183.6	290.9 ± 44.9	0.500 ± 0.037 ³⁾
联苯双酯	0.200	80.4 ± 4.87 ³⁾	181 ± 62.2 ⁴⁾	276.1 ± 69.6 ³⁾	0.516 ± 0.030 ³⁾

4 讨论

肝脏是人体内重要的代谢场所及解毒器官,肝损伤严重威胁着人类的健康。近年来,越来越多的环境毒物或药物引起肝损伤,虽然治疗手段在不断发展,但这一问题仍得不到解决,是一世界性的难题。研究表明,中医防治肝损伤、肝纤维化是多途径、多层次、多靶点的,其在治疗肝损伤、肝纤维化方面有自身的优势,而且副作用小、经济适用,极具开发价值^[8]。中医传统理论认为,肝炎与湿热瘀毒有关^[9]。甘宝胶囊处方中药物具有清热解毒、疏散风热、活血化瘀、补益肝肾等作用。因此,对甘宝胶囊的保肝作用的研究具有中医理论依据。

本研究通过复制不同的小鼠急性肝损伤模型,观察了甘宝胶囊对小鼠急性肝损伤的保护作用。实验中,模型组小鼠 ALT 和 AST 升高,证明造模成功。甘宝胶囊高、中、低剂量组均具有一定的保肝作用,可不同程度的降低 CCl₄、乙醇、扑热息痛肝损伤模型的 ALT,AST 和肝系数,并可降低扑热息痛肝损伤模型的 AKP。目前为止,甘宝胶囊的护肝机制研究还不够深入,还需要更细致的研究,以便为临床用药提供可靠的理论依据。

[参考文献]

[1] 丘志春,陈玉兴,周瑞玲.金银花总黄酮抗大鼠免疫

性肝纤维化的实验研究[J].中药材,2010,33(6):974.

[2] 李国莉,杨建军,赵伟明,等.枸杞对酒精性肝损伤大鼠保护作用的实验研究[J].宁夏医学院学报,2007,29(3):275.

[3] 罗先钦,黄崇刚,伍小波,等.山楂总黄酮对复合因素致大鼠脂肪肝模型脂质代谢与低密度脂蛋白受体表达的影响[J].中草药,2011,42(7):1367.

[4] 徐淑云,卞如廉,陈修.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2002:1346.

[5] 郭建生,吴勇军,王小娟,等.摄生肝泰胶囊对肝损伤动物治疗作用的实验研究[J].中药新药与临床药理,1999,10(2):87.

[6] 卫生部卫生监督司.保健食品检验与评价技术规范[S].2003:133.

[7] 苗明三.实验动物与动物实验技术[M].北京:中国中医药出版社,1997:225.

[8] 史秀玲,高银辉.绿原酸对小鼠急性肝损伤的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(19):199.

[9] 牛晓峰,贺浪冲,范特,等.黄珠子草有效成分短叶苏木酚及 8,9-单环氧短叶苏木酚对大鼠肝损伤的保护作用[J].中国中药杂志,2006,31(18):1529.

[10] 古赛,蒋小黎.枸杞多糖治疗酒精性脂肪肝大鼠的实验研究[J].重庆医学,2007,26(1):60.

[责任编辑 李玉洁]