

# 益肝散对 *D*-氨基半乳糖所致小鼠肝损伤的保护作用

冯承恩<sup>1</sup>, 毕宏<sup>2</sup>, 李润祥<sup>3\*</sup>, 黄庆芳<sup>1</sup>, 梁理<sup>1</sup>

(1. 广东药学院中山校区实验中心, 广东 中山 528458; 2. 山西省人民医院, 太原 030012;  
3. 广州市皮肤病防治所, 广州 510095)

**[摘要]** **目的:** 研究益肝散对 *D*-氨基半乳糖(*D*-GalN)致小鼠急性肝损伤的保护作用。**方法:** 将 72 只昆明小鼠随机分成 6 组, 分别是正常对照组、模型组和联苯双酯阳性对照组, 益肝散(按生药量计为 9.6, 19.2, 38.4 g·kg<sup>-1</sup>) 3 剂量组。给药组小鼠分别 ig 给药, 正常对照组和模型组 ig 等体积生理盐水, 每天 1 次, 连续 7 d。末次给药 1 h 后, 除正常对照组外, 其余各组小鼠均 ip 10% *D*-氨基半乳糖无菌生理盐水溶液(850 mg·kg<sup>-1</sup>), 24 h 后摘眼球采血和取肝、脾组织, 计算肝、脾脏指数, 检测血清 ALT, AST, 并观察其肝组织病理变化。**结果:** 益肝散可明显降低急性肝损伤小鼠血清 ALT, AST 活性和肝脾指数, 与模型组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 且能改善肝脏病理损伤, 并呈明显的剂量-效应关系。**结论:** 益肝散对氨基半乳糖所致的急性肝损伤模型小鼠有一定的护肝作用。

**[关键词]** 益肝散; *D*-氨基半乳糖; 急性肝损伤

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0234-03

## Protective Effect of Yigan Powder on Acute Hepatic Injury Induced by *D*-Galactosamine in Mice

FENG Cheng-en<sup>1</sup>, BI Hong<sup>2</sup>, LI Run-xiang<sup>3\*</sup>, HUANG Qing-fang<sup>1</sup>, LIANG Li<sup>1</sup>

(1. Guangdong Pharmaceutical College, Zhongshan 528458, China; 2. Department of Pathology, Shanxi Province People's Hospital, Taiyuan 030012, China; 3. Guangzhou Institute of Dermatology and Denerology, Guangzhou 510095, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect of Yigan powder on acute hepatic injury induced by *D*-galactosamine (*D*-GalN) in mice. **Method:** Seventy-two mice were randomly divided into 6 groups ( $n = 12$ ): normal control group, model control group, positive control group and three dose groups of Yigan powder (38.4, 19.2, 9.6 g·kg<sup>-1</sup>). The mice in treatment groups were administered medicine respectively via gavages, while the others in control and model groups were treated with the same volume of normal saline. After seven days all the mice except those in the normal control group were treated with intraperitoneal injection of 10% *D*-GalN (850 mg·kg<sup>-1</sup>). Twenty-four hours later, the mice were killed and the blood sample and liver, spleen tissue were taken. The index of liver and spleen was calculated. Liver pathological changes were observed and the activities of serum ALT, AST were determined. **Result:** Acute liver injury could be significantly reduced by Yigan powder. Serum ALT, AST activity, liver and spleen index were significantly lowered compared with those in the model group ( $P < 0.05$ ). Yigan powder could improve the acute liver injury in a dose dependent manner. **Conclusion:** Yigan powder had protective effect on acute hepatic injury induced by *D*-galactosamine.

**[Key words]** Yigan powder; *D*-galactosamine; acute liver injury

**[收稿日期]** 20110304(012)

**[第一作者]** 冯承恩, 硕士, Tel: 13711295657, E-mail: cefeng2006@126.com

**[通讯作者]** \* 李润祥, Tel: 15915751917, E-mail: mmlrx@yahoo.com.cn

复方益肝散由溪黄草、郁金、佛手、灵芝、大黄等中药组成,具有清热解毒,活血化瘀的功效<sup>[1]</sup>。目前已用于慢性乙型肝炎和肝纤维化的治疗,并取得较好疗效。本实验观察该复方对D-氨基半乳糖(D-GalN)所致小鼠急性中毒性肝损伤的护肝作用。

## 1 材料

**1.1 动物** KM小鼠,雌雄各半,18~22 g,南方医科大学实验动物中心提供,许可证号SCXK(粤)2006-0015。

**1.2 药材与试剂** 益肝散复方由溪黄草片、郁金片、佛手、大黄、灵芝、甘草以5:3:3:2:2:1组成,均购自中山市中智中药饮片有限公司,经广东药学院田素英副教授鉴定为正品。药材粉碎成粗粉,以1:10及1:8比例分别水煎2次,过滤浓缩成生药为2.03 g·kg<sup>-1</sup>浸膏。联苯双酯滴丸由广州星群药业股份有限公司提供,国药准字H44023176,D-氨基半乳糖(上海源聚生物科技有限公司,批号080819),AST测试盒(批号20090719),ALT测试盒(批号20091027)上海荣盛生物技术有限公司提供。

**1.3 仪器设备** PHS-3D型pH计(上海精密科学仪器有限公司),JA2003型电子天平(上海恒平科学仪器有限公司),KD-202A型旋转切片机(浙江省金华科迪仪器设备有限公司),TDL80-2B型离心机(上海安亭科学仪器厂),Bayer ADVIA 1200型全自动生化分析仪(拜耳公司),CK-40-F200型显微镜(Olympus Optical Co Ltd)。

## 2 方法

**2.1 动物分组与给药** 取小鼠72只,雌雄对半,随机分成正常对照组、模型组、阳性对照组和益肝散的高、中、低剂量组(以生药量计38.4,19.2,9.6 g·kg<sup>-1</sup>) ig给药,每组12只。阳性对照组 ig 联苯双酯水溶液,剂量为200 mg·kg<sup>-1</sup>;正常对照组和模型组 ig 等体积生理盐水20 mL·kg<sup>-1</sup>,每天1次,连续给药7 d。除正常对照组外,其余各组于第7天给药后1 h ip 10% D-GalN生理盐水溶液(850 mg·kg<sup>-1</sup>),正常对照组 ip 等容积生理盐水,24 h后取血清,测定ALT,AST,取肝、脾脏器测定肝脏、脾脏指数,最后取肝左叶用10%福尔马林溶液固定,常规切片,观察其病理变化。

脏器指数 = 脏器质量(mg) / 体重(g)

**2.2 血清ALT,AST活性测定** 采用赖氏法检测ALT,AST活性<sup>[2]</sup>。

**2.3 病理组织学检查** 取10%福尔马林溶液固定肝组织,石蜡包埋切片,HE染色,光镜下观察。肝组织病变分级参照文献[3]。0级:无病变;I级:肝细胞疏松肿胀、气球样变、有点坏死,可见少量炎性细胞浸润;II级:肝细胞脂肪变性、空泡坏死和灶性坏死,可见多个炎性细胞浸润;III级:广泛细胞空泡坏死和灶性坏死,肝小叶内炎性细胞浸润明显。

**2.4 统计学处理方法** 数据采用SPSS 11.0统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组计量资料分析采用单因素方差分析。多组等级资料的分析采用Kruskal-wallis秩和检验,两两比较采用Nemenyi法。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对ALT,AST活性的影响** 与正常对照组比较,模型组小鼠血清中ALT,AST活性显著升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,益肝散各剂量组小鼠血清中ALT,AST活性的显著降低( $P < 0.05$ ),并呈较好的剂量-效应关系,见表1。

表1 益肝散对D-GalN致肝损伤小鼠血清中ALT,AST活性的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	AST/U·L <sup>-1</sup>	ALT/U·L <sup>-1</sup>
正常对照	-	50.25 ± 12.77	40.42 ± 9.62
模型	-	210.08 ± 32.41 <sup>1)</sup>	292.17 ± 36.87 <sup>1)</sup>
联苯双酯	0.2	88.58 ± 27.18 <sup>3)</sup>	156.67 ± 34.38 <sup>3)</sup>
益肝散	38.4	95.42 ± 19.87 <sup>3)</sup>	188.08 ± 42.19 <sup>3)</sup>
	19.2	148.25 ± 49.62 <sup>3,4)</sup>	235.75 ± 47.89 <sup>3,4)</sup>
	9.6	173.33 ± 45.18 <sup>2,5)</sup>	262.92 ± 44.69 <sup>2,5)</sup>

注:与正常对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup> $P < 0.01$ ;与联苯双酯组比较<sup>4)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>5)</sup> $P < 0.01$ (表2同)。

**3.2 对小鼠肝脾指数的影响** 益肝散各剂量组均能显著降低小鼠肝脾指数( $P < 0.01$ ),不同剂量组之间呈较好的剂量-效应关系,见表2。

表2 益肝散对D-GalN致肝损伤小鼠肝、脾脏指数的影响( $n = 12$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	肝脏指数	脾脏指数
正常对照	-	3.28 ± 0.13	46.16 ± 2.50
模型	-	7.04 ± 0.28 <sup>1)</sup>	81.25 ± 9.81 <sup>1)</sup>
联苯双酯	0.2	4.62 ± 0.34 <sup>3)</sup>	49.62 ± 2.40 <sup>3)</sup>
益肝散	38.4	4.72 ± 0.40 <sup>3)</sup>	50.92 ± 2.84 <sup>3)</sup>
	19.2	4.98 ± 0.30 <sup>2,4)</sup>	55.97 ± 3.41 <sup>3,5)</sup>
	9.6	5.60 ± 0.30 <sup>3,5)</sup>	63.54 ± 5.52 <sup>3,5)</sup>

**3.3 肝脏病理组织学观察** 光镜下见正常对照组的小鼠肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列,肝小叶结构完整,无病理改变。模型组全部小鼠肝组织均出现病变,大多数肝细胞肿胀,细胞质疏松化,呈气球样变,可见广泛的肝细胞脂肪变性、空泡坏死、点状坏死和灶性坏死,并出现炎细胞浸润。联苯双酯组小鼠肝细胞水肿不明显,偶见点状坏死,汇管区少量炎细胞浸润。益肝散各组小鼠肝细胞病变程度较轻,其中高剂量组效果最好,肝细胞水肿不明显,可见肝细胞再生现象,偶伴有灶性坏死,汇管区少量炎细胞浸润,与模型组比,病变程度明显减轻。见表 3。

**表 3 益肝散对 D-GalN 所致肝损伤小鼠肝组织病理改变的影响 (n = 12)**

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	肝组织病变分级/n			
		0 级	I 级	II 级	III 级
正常对照	-	12	0	0	0
模型	- <sup>1)</sup>	0	0	3	9
联苯双酯	0.2 <sup>1,2)</sup>	2	7	2	1
益肝散	38.4 <sup>1,2)</sup>	3	5	3	1
	19.2 <sup>1)</sup>	1	2	6	3
	9.6 <sup>1,3)</sup>	1	2	5	4

注:与正常对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ;与联苯双酯组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ 。

#### 4 讨论

D-GalN 所致中毒性肝损伤模型,其肝组织病理学改变与人类病毒性肝炎相似,所以 D-氨基半乳糖肝损伤模型是目前研究病毒性肝炎发病机制及其保肝药物筛选的经典动物模型<sup>[4-5]</sup>。D-GalN 作为急性肝损伤工具药,较 CCl<sub>4</sub> 操作方便且对操作人员的毒害小,目前已被广泛用于小鼠急性肝损伤模型制备。

益肝散复方药材由溪黄草片、郁金片、佛手、大黄、灵芝以及甘草等中药组成。溪黄草为民间习用草药,常用治疗急性黄疸性肝炎、急性胆囊炎等,并成为成药消炎利胆片、胆石通胶囊及复方胆通胶囊的原料之一<sup>[6]</sup>。郁金具有活血行气止痛、清心解郁、利胆退黄、凉血止血之功效<sup>[7]</sup>,大黄清热解毒的实质是清除组织和血浆内的炎性介质,显著降低危重症患者血清中肿瘤坏死因子、白细胞介素和内毒素水平<sup>[8]</sup>。灵芝辅以丹参、大黄和氨基酸,对化学性肝损

伤具有保护作用<sup>[9]</sup>。能把病人体内的不平衡状态合理地调节在一个动态平衡状态,从而使人体的自身免疫功能增强,以清除病毒于体外。这些研究都为益肝散的药理作用打下坚实的基础。

本研究结果显示,益肝散能明显降低 D-GalN 所致的肝损伤小鼠肝脾指数 ( $P < 0.001$ ),以及对血清中 ALT,AST 活性有明显的降低作用 ( $P < 0.05$ )。病理结果亦表明益肝散高、中、低剂量组能使小鼠的肝细胞肿胀、脂肪变性、坏死及炎性浸润都有不同程度的减轻,结果与临床疗效相一致。因此,益肝散具有明显的抗肝损伤的作用,并呈现良好的剂量关系。本实验研究为溪黄草茶临床治疗肝炎提供了药效学佐证,更为益肝散的进一步开发和临床应用提供了依据。

#### [参考文献]

- [1] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学 [M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2001:190.
- [2] 方士英,姚宏伟,李俊,等. 虫草多糖对小鼠化学性肝损伤的保护作用 [J]. 安徽医科大学学报,2004, 39 (3):201.
- [3] 劳溢权,唐明增,李向阳,等. 白藜芦醇对刀豆蛋白 A 所致肝损伤的保护作用 [J]. 热带医学,2005, 6 (5):285.
- [4] 李常清,李钢,李小翠. 解毒化痰汤对 D-氨基半乳糖所致小鼠肝损伤的保护作用 [J]. 世界华人消化杂志,2005,10(5):151.
- [5] Keppler D, Lesch R, Reutter W, et al. Experimental hepatitis induced by D-galactosamine [J]. Exp Mol Pathol, 1968,9: 279.
- [6] 肖树雄,杨启存. 溪黄草的来源及混淆品的鉴别 [J]. 中药材,1993,16(6):24.
- [7] 高学敏. 中药学. 下册. [M]. 北京:人民卫生出版社,2000:1067.
- [8] 张永和,宋祖军,郭学刚. 大黄对危重病患者血清 TNF- $\alpha$ , IL-1 及 IL-6 的影响 [J]. 陕西医学杂志,2003, 32 (12):1066.
- [9] 曹素芳,林建松,林东星. 灵芝组方保肝的研究 [J]. 中国食用菌,2006,25 (5):49.

[责任编辑 聂淑琴]