

# 金疮小草醇提取物活血化瘀及抗急性肝损伤作用

曾春晖, 杨柯\*, 徐明光, 李先梅, 李河, 梁金莎  
(广西中医学院药学院, 南宁 530001)

**[摘要]** **目的:**研究金疮小草醇提取物(ADT)对正常小鼠凝血时间及微循环影响及抗急性肝损伤的作用。**方法:**正常小鼠 50 只,随机分成 5 组,即空白对照组、阿司匹林组、ADT 高、中、低剂量组,ig 给药,1 次/d,连续 7 d,末次给药后 1 h,采用毛细管法及玻片法测定其对凝血时间的影响;测定肠系膜毛细血管网交点数、管径、血液流速以观察其对微循环的影响;正常小鼠 60 只,随机分成 6 组,即空白对照组、模型对照组、联苯双酯组、ADT 高、中、低剂量组,ig 给药,1 天 1 次,连续 7 d,末次给药后禁食不禁水 8 h,除空白组外 ip CCl<sub>4</sub> 或 D-GalN,12~16 h 后取血分离血清,测定小鼠血清中 ALT,AST 水平以评价其对急性肝损伤的影响。**结果:**与空白对照组比较,ADT 能明显延长小鼠血液的凝血时间( $P < 0.05$ ),玻片法测得的凝血时间延长 40% 以上,毛细管法测得的凝血时间延长 20% 以上;显著增加肠系膜的毛细血管网交点数和加快微循环血液速度( $P < 0.05$ ),网交点数增加了约 30%,血液流速加快了约 10%;与模型对照组比较,ADT 能明显降低 CCl<sub>4</sub> 和 D-GalN 引起急性肝损伤动物的血清 ALT,AST 水平( $P < 0.05$ )。**结论:**金疮小草醇提取物活血化瘀作用可能是抗急性肝损伤途径之一。

**[关键词]** 金疮小草;乙醇提取物;活血化瘀;急性肝损伤;小鼠

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0209-04

## Effects of Ethanol Extract from *Ajuga decumbens* on Blood-activating and Stasis-dissolving and Anti-liver Acute Injury in Mice

ZENG Chun-hui, YANG Ke\*, XU Ming-guang, LI Xian-mei, LI He, LIANG Jin-sha  
(Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

**[Abstract]** **Objective:**To study the effects of the ethanol extract from *Ajuga decumbens* on blood-activating and stasis-dissolving and anti-liver acute injury in mice. **Method:** Fifty mice were randomly divided into 5 groups: normal control group, aspirin group, ethanol extract from *A. decumbens* groups of low, middle and high doses. Treatments in according groups were given daily for 7 days. Glass capillary method and slide method were used to determinate the effects of the ethanol extraction of *A. decumbens* on blood-activating and stasis-dissolving by the clotting time in mice. Meanwhile we selected the intestinal mucosa to measure its nodal points of capillary network, the diameter of capillary and the blood's flow velocity. Another 60 mice were randomly divided into 6 groups:

**[收稿日期]** 20110225(001)

**[第一作者]** 曾春晖, 硕士, 副教授, 硕士研究生导师, 从事中药炮制药理研究, Tel:0771-2219854, E-mail: chzheng@163.com

**[通讯作者]** \* 杨柯, 硕士, 副教授, 硕士研究生导师, 从事中药药理学研究, Tel:0771-2279423, E-mail: kyang\_11@126.com

[5] 王开贞, 徐红, 刘秀花, 等. 党参合剂抗疲劳作用的初步研究. [J] 中成药, 2008, 30(4):944.

[6] 覃筱美, 唐丽. 枸杞提取物对小鼠抗疲劳作用的实验研究[J]. 中医药导报, 2009, 32(2):154.

[7] McKenna D, Hughes K, Adamas A, et al. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron

enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila* [J]. *Aquaculture*, 2008, 275 (1/4):26.

[8] 沈关心, 周汝麟. 现代免疫学实验技术[M]. 2 版. 武汉:湖北科学技术出版社, 2002:396.

[责任编辑] 聂淑琴

normal control group, model group, bifendete group, ethanol extract from *A. decumbens* groups of low, middle and high doses. The acute liver injury model in mice was induced by  $\text{CCl}_4$  or *D*-GalN. Treatments in according groups were given daily for 7 days. The protective effect for liver was investigated by detecting the levels of ALT, AST in serum. **Result:** The ethanol extract from *A. decumbens* could significantly prolong the clotting time ( $P < 0.05$ ), increase the blood flow velocity and the intestinal mucosa's nodal points of capillary network ( $P < 0.05$ ) in normal mice. It could markedly decrease the level of ALT and AST in serum in the acute liver injured mice induced by  $\text{CCl}_4$  or *D*-GalN ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The ethanol extract from *A. decumbens* has the effect of protecting liver. It may be related with effects of blood-activating and stasis-dissolving.

[**Key words**] *Ajuga decumbens*; ethanol extraction; effects of blood-activating and stasis-dissolving; acute liver injury; mice

急性肝损伤是多种肝病发生、发展,最终走向肝功能衰竭的始动环节和共同途径。活血化瘀类中药是治疗慢性肝脏疾病(尤其是肝硬化方面)的常用药物,但对于急性肝损伤方面的研究相对较少。金疮小草 *Ajuga decumbens* Thunb. 为唇形科筋骨草属植物,又名活血草、散血草、筋骨草、白毛夏枯草等,多年生直立草本,分布广泛,资源丰富。《中药大辞典》<sup>[1]</sup>和《中华本草》<sup>[2]</sup>中均有记载,其味苦,微辛,具有凉血止血,散瘀消肿,解毒止痛等功效,主治咽喉肿痛、肺热咳嗽、肺痛、目赤肿痛、痢疾、痔疮、痈肿疔疮、毒蛇咬伤、跌打损伤等。金疮小草的药理研究主要是对其含有的木犀草素在抑菌<sup>[3]</sup>、抗肿瘤<sup>[4-5]</sup>、降压<sup>[6]</sup>及对免疫系统<sup>[7]</sup>的影响等方面。本文从活血化瘀的角度探讨其对急性肝损伤可能的保护作用,现报道如下。

## 1 材料

**1.1 药材及制备** 2007 年 1 月从广西南宁市郊西乡塘区采集全草,经本院刘寿养副教授鉴定为唇形科筋骨草属植物金疮小草 *Ajuga decumbens* Thunb.。

金疮小草醇提物(简称 ADT,下同)制备:采集金疮小草全草后,洗净,阴干,切成约 3 cm 长,备用。取药材适量,用 10 倍量 68% 的乙醇浸泡 2 周,然后纱布过滤,再将滤液浓缩至无醇味,冷却后定容至药物浓度按生药量计为  $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,置  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱备用。

**1.2 药品及试剂** 阿司匹林肠溶片(桂林南药股份有限公司,071101);联苯双酯滴丸[广东广州星群(药业)股份有限公司,FF40062];乌拉坦(上海国药集团化学试剂有限公司,20071030);四氯化碳( $\text{CCl}_4$ ) [中国医药(集团)上海化学试剂公司,20010202];*D*-半乳糖胺(*D*-GalN)(启东市久丰工贸有限公司,080612);生理盐水(武汉滨湖双鹤药业

有限责任公司,070819402);丙氨酸转氨酶(ALT)测定试剂盒和天冬氨酸转氨酶(AST)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20090710 和 20100419)。

**1.3 动物** KM 种小鼠(普通级),体重  $18 \sim 22 \text{ g}$ ,雌雄兼用,由广西中医学院医学实验动物中心提供。实验动物生产许可证号桂医动字第 11004 号。

**1.4 仪器** ZL104 型微循环检测仪(徐州众联医疗器械有限公司);CHEM300 型半自动生化分析仪(Bio-Asia Diagnostics Co. Ltd,Germany)。

## 2 方法

**2.1 对正常小鼠血液凝血时间的影响**<sup>[8]</sup> 小鼠 50 只,体重( $20 \pm 2$ )g,雌雄各半,随机分为 5 组,即空白对照组(生理盐水)、阿司匹林组( $0.04 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、ADT 高、中、低(按生药量计为  $20, 10, 5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )3 个剂量组,每组 10 只。每天 ig 给药 1 次,给药容量为  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,连续 7 d。末次给药 1 h 后,从眼部取血,采用毛细管法及玻片法测定其凝血时间。

**2.2 对小鼠肠系膜微循环的影响**<sup>[9]</sup> 小鼠 50 只,体重( $20 \pm 2$ )g,雌雄各半,分组及给药同 2.1。末次给药 1 h 后注射麻醉药 30% 乌拉坦,麻醉剂量为  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。小鼠麻醉后解剖其腹部轻轻拉出一段空肠,检测其肠系膜上的血管网交点数,管径和血液流速的情况。

**2.3 对  $\text{CCl}_4$  所致小鼠急性肝损伤的保护作用**<sup>[10]</sup>

小鼠 60 只,体重( $20 \pm 2$ )g,雌雄兼用,随机分为空白对照组(生理盐水)、模型对照组(生理盐水)、联苯双酯组( $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),ADT 高、中、低(按生药量计为  $20, 10, 5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )3 个剂量组,每组 10 只。每天 ig 给药 1 次,给药容量为  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,连续 7 d。末次药后禁食不禁水,8 h 后除空白对照组外,其余各

组小鼠均 ip 0.08% CCl<sub>4</sub> 10 mL·kg<sup>-1</sup>。12 h 后摘眼球取血,分离血清,按试剂盒赖氏法测血清 ALT,AST 值。

**2.4** 对 D-GalN 所致小鼠急性肝损伤的保护作用<sup>[10]</sup> 小鼠 60 只,体重(20 ± 2) g,雌雄兼用,分组及给药同 2.3。末次给药后禁食不禁水,8 h 后除空白对照组外,其余各组小鼠均 ip D-GalN 10 mL·kg<sup>-1</sup>(500 mg·kg<sup>-1</sup>)。16 h 后摘眼球取血,分离血清,按试剂盒赖氏法测 ALT,AST 值。

**2.5** 统计学分析 采用 Prism5 统计软件分析数据,所得实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。采用 *t* 检验作组间比较差异显著性,*P* < 0.05 有统计学意义。

### 3 结果

**3.1** 对正常小鼠血液凝血时间的影响 结果表明,与空白对照组比较,ADT 高剂量和中剂量在玻片法

和毛细管法检测中都能明显延长小鼠血液的凝血时间(*P* < 0.05)。见表 1。

**3.2** 对正常小鼠肠系膜微循环的影响 结果表明,与空白对照组比较,ADT 各剂量都能明显增加肠系膜的网交点数和血流流速(*P* < 0.05);但对毛细血管管径无明显影响。见表 2。

表 1 ADT 对小鼠血液凝血时间的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	凝血时间/s	
			玻片法	毛细管法
空白对照	10	-	162.0 ± 63.56	129.0 ± 34.79
阿司匹林	10	0.04	276.0 ± 64.49 <sup>2)</sup>	168.0 ± 40.49 <sup>1)</sup>
ADT	10	20	246.7 ± 96.95 <sup>1)</sup>	176.7 ± 58.94 <sup>1)</sup>
	9	10	233.3 ± 63.24 <sup>1)</sup>	173.3 ± 55.68 <sup>1)</sup>
	9	5	228.0 ± 68.12 <sup>1)</sup>	138.0 ± 42.90

注:与空白对照组比较<sup>1)</sup> *P* < 0.05, <sup>2)</sup> *P* < 0.01(表 2 同)。

表 2 ADT 对小鼠肠系膜微循环的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	管径/μm	网交点数/个	流速/μm·s <sup>-1</sup>
空白对照	9	-	31.6 ± 9.30	2.7 ± 0.71	1229.3 ± 137.6
阿司匹林	10	0.04	30.3 ± 7.01	3.5 ± 0.97 <sup>1)</sup>	1361.0 ± 23.40 <sup>2)</sup>
ADT	9	20	32.7 ± 8.63	3.7 ± 0.87 <sup>1)</sup>	1363.1 ± 15.78 <sup>1)</sup>
	7	10	33.3 ± 7.23	3.7 ± 1.11 <sup>1)</sup>	1358.6 ± 14.27 <sup>1)</sup>
	10	5	32.1 ± 4.25	3.5 ± 0.85 <sup>1)</sup>	1350.2 ± 19.76 <sup>1)</sup>

**3.3** 对 CCl<sub>4</sub> 所致小鼠急性肝损伤的保护作用 实验结果表明,CCl<sub>4</sub> 肝损伤模型对照组小鼠血清 ALT,AST 明显高于空白对照组(*P* < 0.01),表明肝损伤模型造模成功。与模型对照组比较,ADT 能明显降低血清 ALT 和 AST 水平(*P* < 0.05);联苯双酯组血清 ALT,AST 水平也明显下降(*P* < 0.01)。结果见表 3。

表 3 ADT 对 CCl<sub>4</sub> 所致小鼠急性肝损伤的保护作用( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	ALT/U·L <sup>-1</sup>	AST/U·L <sup>-1</sup>
空白对照	-	30.98 ± 24.31 <sup>2)</sup>	59.59 ± 28.41 <sup>2)</sup>
模型对照	-	130.50 ± 59.66	106.72 ± 34.99
联苯双酯	0.6	52.76 ± 51.55 <sup>2)</sup>	67.28 ± 22.89 <sup>2)</sup>
ADT	20	77.21 ± 61.31 <sup>1)</sup>	71.26 ± 22.89 <sup>1)</sup>
	10	83.16 ± 44.39 <sup>1)</sup>	76.30 ± 24.64 <sup>1)</sup>
	5	80.10 ± 46.50 <sup>1)</sup>	81.49 ± 34.17

注:与模型对照组比较<sup>1)</sup> *P* < 0.05, <sup>2)</sup> *P* < 0.01(表 4 同)。

**3.4** 对 D-GalN 所致小鼠急性肝损伤的保护作用 D-GalN 肝损伤模型组小鼠血清 ALT,AST 明显高于空白对照组,表明肝损伤模型成功(*P* < 0.01)。

ADT 高剂量能明显降低血清 ALT 和 AST 水平(*P* < 0.05 ~ 0.01),中、低剂量能显著降低 ALT 水平(*P* < 0.05 ~ 0.01),但对 AST 水平无显著性影响,联苯双酯组血清 ALT 和 AST 水平也明显下降(*P* < 0.05 ~ 0.01)。见表 4。

表 4 ADT 对 D-GalN 所致小鼠急性肝损伤的保护作用( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	ALT/U·L <sup>-1</sup>	AST/U·L <sup>-1</sup>
空白对照	-	52.48 ± 12.66 <sup>2)</sup>	63.41 ± 22.08 <sup>2)</sup>
模型对照	-	134.35 ± 48.35	132.60 ± 37.48
联苯双酯	0.6	39.63 ± 33.85 <sup>2)</sup>	98.53 ± 31.51 <sup>1)</sup>
ADT	20	52.44 ± 43.77 <sup>2)</sup>	92.51 ± 51.10 <sup>1)</sup>
	10	68.95 ± 46.08 <sup>2)</sup>	106.54 ± 38.22
	5	81.49 ± 68.79 <sup>1)</sup>	124.55 ± 51.04

### 4 讨论

正常的微循环灌注和血液流态是维持组织细胞、脏器正常功能的前提,但在某些生理或病理性刺

激因子作用下会发生微循环障碍和血液流态异常,即微血管、微血流发生形态及功能的紊乱,导致组织细胞灌注不足而引起一系列缺血。 $\text{CCl}_4$ 、 $D$ -GalN 是小鼠实验性急性肝损伤的常见工具药物。两者是通过引起脂质过氧化、加速氧化自由基生成和耗竭尿苷三磷酸(UTP)诱发肝细胞损伤、损伤加剧甚至坏死的<sup>[11-13]</sup>。肝脏微循环在各种急慢性肝炎病程中均有不同的病理表现。急性肝炎时微循环障碍表现为肝窦不同程度的瘀血,肝细胞肿胀、相互挤压致微循环淤滞,微血栓形成,可造成邻近肝细胞出现溶解性坏死,这些病理改变直接影响肝细胞与血液间的物质变换,造成肝细胞能量代谢障碍、毒性物质蓄积,严重影响肝细胞功能及肝细胞的再生和修复。积极寻求改善肝脏微循环的治疗方法以及开发对肝脏微循环有治疗作用的药物,对改善肝病预后具有重要意义。

有研究者对金疮小草抗炎、保肝作用做了初步研究,发现金疮小草醇提物对急性、慢性炎症具有良好作用<sup>[14]</sup>;从金疮小草中提取的黄酮粗品对小鼠  $\text{CCl}_4$  性肝损伤能明显降低血清 ALT 水平<sup>[15]</sup>;木犀草素可能通过抑制嗜中性粒细胞的脂质过氧化和酪氨酸磷酸化,以及抑制 LPS 刺激的巨噬细胞表达 TNF- $\alpha$  和 IL-6 等炎性因子发挥抗  $\text{CCl}_4$  诱导的大鼠肝纤维化<sup>[16]</sup>作用。本实验研究试图从活血化瘀角度阐明其保肝作用,结果表明金疮小草醇提物能明显增加微循环网交数,加快血流速度,延长血液凝固时间,改善血液流变性,这些作用能有效地促进肝细胞与血液间的物质交换,加速排泄肝脏代谢产生的有害代谢物,减轻肝细胞受损程度,恢复肝细胞功能及受损肝细胞的修复和再生;同时,也证实了其对  $\text{CCl}_4$  和  $D$ -GalN 诱导的急性肝损伤具有明显的保护作用,显著降低 ALT 和 AST 活性。本研究为明确金疮小草开发应用的定位和进一步研究方向奠定了基础。

#### [参考文献]

[1] 赵国平,戴慎,陈仁寿. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006:1035.  
[2] 吴贻谷,宋立人. 中华本草(精选本)[M]. 上海:上海

科学技术出版社,2009:1597.

[3] 王初,周晓芳,陈伟英. 白毛夏枯草鲜汁治疗烫伤的实验研究[J]. 中国现代应用药学杂志,2003,20(4):311.  
[4] Konoshima T, Takasaki M, Tokuda H, et al. Cancer chemopreventive activity of an iridoidglycoside, 8-acetylharpagide, from *Ajuga decumbens*[J]. Cancer Lett, 2000,157(1):87.  
[5] Takasaki M, Tokuda H, Nishino H, et al. Cancer chemopreventive agents (antitumor-promoters) from *Ajuga decumbens*[J]. J Nat Prod,1999,62(7):972.  
[6] 王实强,王晓洪,许敏. 筋骨草总二萜的降压实验研究[J]. 湖南中医药导报,1996,2(3):28.  
[7] 韩立民,彭莉莉,徐彭. 肌瘤消颗粒对小鼠免疫功能的影响[J]. 上海中医药杂志,2004,38(12):39.  
[8] 沈明华. 几种动物凝血时间的测定[J]. 青海畜牧兽医杂志,2000,30(5):18.  
[9] 文德鉴,张翠兰,艾明仙,等. 冷水七醇提物对小鼠肠系膜微循环的影响[J]. 陕西中医,2008,29(5):622.  
[10] 范秋领,金艳,黄才国,等. 鲨鱼肝刺激物的促肝细胞增殖和抗小鼠急性肝损伤作用[J]. 第二军医大学学报,2005,26(2):227.  
[11] Liu S L, Degli Esposti S, Yao T, et al. Vitamin E therapy of acute  $\text{CCl}_4$ -induced hepatic injury in mice is associated with inhibition of nuclear factor kappa B binding[J]. Hepatology,1995,22(5):1474.  
[12] Sotelo-Félix J I, Martinez-Fong D, Muriel De la Torre P. Protective effect of carnosol on  $\text{CCl}_4$ -induced acute liver damage in rats[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol,2002,14(9):1001.  
[13] 冯大明,王双,唐雅玲,等. 水蓼衣提取物对  $\text{CCl}_4$  诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 世界华人消化杂志,2005,13(9):1098.  
[14] 陈芳,李孝栋,吴符火. 筋骨草抗炎有效部位及其量效关系研究[J]. 福建中医学院学报,2009,19(6):27.  
[15] 马志平,黄榕. 筋骨草有效部位黄酮类粗品的保肝试验[J]. 海峡药学,2002,14(5):40.  
[16] 赵稳兴,陈忠明,候辉,等. 木犀草素降低  $\text{CCl}_4$  诱导的大鼠肝纤维化[J]. 世界华人消化杂志,2002,10(7):779.

[责任编辑 聂淑琴]