

蹄叶橐吾地上部分乙醇提取物对小鼠急性乙醇中毒的保护作用

于海玲*, 李迎军, 张小杰, 刘洋, 黄铭扬, 赵莹
(延边大学医学部基础医学院 机能学实验中心, 吉林 延吉 133000)

[摘要] 目的:探讨蹄叶橐吾地上部分乙醇提取物对小鼠急性酒精中毒的保护作用。方法:采用一次 ig 给予 56 度白酒,记录小鼠翻正反射消失(醉酒)至恢复(醒酒)所需时间(min)及采用 52 度白酒 ig 复制小鼠急性乙醇中毒模型,并检测其血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性及丙二醛(MDA)、甘油三酯(TG)含量和肝组织中 ALT、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性及 MDA、TG 含量,观察蹄叶橐吾对小鼠急性乙醇中毒的保护作用。结果:与模型组相比,蹄叶橐吾组小鼠出现翻正反射消失(醉酒)的潜伏期明显延长($P < 0.05$),醒酒时间明显缩短($P < 0.05$);蹄叶橐吾组小鼠血清及肝组织中 TG 含量及 ALT 活性均明显降低,GSH-Px 活性明显增高。结论:蹄叶橐吾对小鼠急性乙醇中毒有一定预防性的保护作用。

[关键词] 蹄叶橐吾;乙醇中毒;小鼠;甘油三酯;丙氨酸氨基转移酶;谷胱甘肽过氧化物酶;丙二醛
[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0147-03

Protective Effect of *Ligularia fischeri* Ledeb Turz. against Acute Alcohol Intoxication in Mice

YU Hai-ling*, LI Ying-jun, ZHANG Xiao-jie, LIU Yang, HUANG Ming-yang, ZHAO Ying
(Experimental Center of Functional Science, College of Basic Medicine, Yanbian University, Yanji 133000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effect of the ethanol extract of *Ligularia fischeri* Ledeb Turcz. in mice on acute alcohol intoxication. **Method:** We recorded the duration from disappearance of righting reflex (drunk) to restore (hangover) in mice, after given a gavage of 56 degrees liquor. In addition, alcohol-induced liver injury model of mice was established by acute gavage of 52 degrees liquor, and serum alanine aminotransferase (ALT) activity, malondialdehyde (MDA), triglyceride (TG) content were tested. Activity of glutamic-pyruvic transaminase (ALT), glutathione peroxidase (GSH-Px), malondialdehyde (MDA), triglyceride (TG) in liver tissue was also determined. **Result:** The ethanol extract of *L. fischeri* significantly prolonged the incubation period of righting reflex disappeared (drunk) ($P < 0.05$), reduced hangover time ($P < 0.05$); significantly depressed TG and ALT levels ($P < 0.05$) in serum and liver tissue; and significantly increased GSH-Px activity ($P < 0.01$) in liver tissue. **Conclusion:** *L. fischeri* may have a protective effect on acute alcohol intoxication in mice.

[Key words] *Ligularia fischeri*; alcoholism; mice; triglyceride; alanine aminotransferase; glutathione peroxidase; malondialdehyde

蹄叶橐吾 *Ligularia fischeri* Turz(Lfe) 为菊科橐

吾属多年生草本植物,又名肾叶橐吾(中药志)、马蹄叶(东北)等。在我国分布广泛,长白山地区为主要产地之一^[1]。民间以其根和根茎(名为山紫菀 Radix et Rhizoma Ligularia)入药有本草依据和相当长的用药历史,山紫菀已收入吉林省地方药品标

[收稿日期] 20100304(002)

[通讯作者] * 于海玲,博士,副教授,研究方向:神经药理学,
Tel:0433-2660559, E-mail: hlyu@ybu.edu.cn

准^[2]。其根和根茎有镇咳祛痰、理气活血等功能。全草用于丹毒性炎症和关节脓肿,地上部分用于闪挫伤和痔疾。吉林省延边地区民间将其叶作为健胃、开胃药,化痰药,而且对酒后胃肠不适及头痛有较好的缓解作用,并作为野菜经多种方法烹饪后为广大民众食用。本研究室也证实蹄叶橐吾地上部分乙醇提取物具有较好的抗炎作用、抗无水乙醇型胃溃疡作用^[1,3],但有关其解酒保肝方面的研究尚未见报道。本研究将通过药效学研究及机制探讨,观察蹄叶橐吾地上部分乙醇提取物对小鼠急性乙醇中毒的保护作用。

1 材料与方

1.1 动物 雄性昆明种小鼠,体重 22~24 g,由延边大学医学部实验动物科提供,许可证号 SCXK(吉)2002-0005。

1.2 受试药物 蹄叶橐吾为 7 月份采自延边长白山地区,由延边大学药学院刘永镇教授鉴定。蹄叶橐吾地上部分乙醇提取物用 95% 乙醇加热回流提取,滤液加水放置 24 h,过滤后用石油醚萃取,水层加热浓缩至浸膏,每克相当于 7.5 g 生药,实验时用水溶液。

1.3 药品与试剂 56 度红星二锅头白酒,北京红星股份有限公司生产,批号 20080724;总蛋白定量试剂盒,批号 200809152,丙氨酸氨基转移酶(ALT)测定试剂盒,批号 200809112,丙二醛(MDA)试剂盒,批号 200809102,甘油三脂(TG)试剂盒,批号 20080982,谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒,批号 20080932,购自南京建成生物工程研究所;其余试剂为国产分析纯。

1.4 动物及分组

1.4.1 蹄叶橐吾对小鼠醉酒潜伏期及醒酒时间的影响 36 只小鼠随机分为 3 组,模型组,蹄叶橐吾高剂量组(5.6 g·kg⁻¹·d⁻¹),蹄叶橐吾低剂量组(2.8 g·kg⁻¹·d⁻¹);每天 ig 给药 2 次,连续 4 d,其中正常组和模型组 ig 给予等体积蒸馏水(含吐温-80),给药容积均为 20 mL·kg⁻¹。第 4 天下午 ig 给予相应药物或等体积蒸馏水后 30 min,均 ig 1 次 56°二锅头白酒 14 mL·kg⁻¹,然后观察小鼠的活动情况,记录各组小鼠翻正反射消失(醉酒潜伏期)时间及翻正反射恢复(醒酒)所用时间。

1.4.2 蹄叶橐吾乙醇提取物对小鼠急性酒精中毒的保护作用 60 只小鼠随机分为 5 组,正常组,模型组,

蹄叶橐吾高、中、低剂量组(2.8, 1.4, 0.7 g·kg⁻¹·d⁻¹)。每天 ig 给药 1 次,连续 8 d,其中正常组和模型组 ig 给予等体积蒸馏水,给药容积均为 20 mL·kg⁻¹。于第 7 天,除正常组外均 ig 52 度二锅头白酒 12 mL·kg⁻¹;24 h 后(第 8 天),重复 ig 52 度二锅头白酒 14 mL·kg⁻¹,末次给药 12 h(禁食不禁水)后,小鼠称重,标号,摘眼球取血,常规方法分离血清,-80℃保存。小鼠脱颈椎处死,剖腹迅速摘取肝脏,切取新鲜肝组织 200 mg,精密称定,在冰生理盐水中漂洗,剪碎,按质量体积比加入 1:9 倍的冰生理盐水,用组织匀浆器制成 10% 肝组织匀浆,3 000 r·min⁻¹,离心 10 min,取上清液,-80℃保存备用。

1.5 测定指标及方法 按试剂盒说明书检测血清中 ALT 活性,MDA,TG 含量;测定肝组织中 ALT,GSH-Px 活性,MDA,TG 含量。蛋白含量测定采用考马斯亮蓝法。

1.6 数据的统计处理 采用 SPSS 12.0 进行单因素方差分析,两两比较用 LSD 方法。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 蹄叶橐吾乙醇提取物预防小鼠醉酒作用 由表 1 可知,与模型组比较,药物组醉酒潜伏期明显延长,翻正反射恢复(醒酒)时间明显缩短($P < 0.05$)。

表 1 蹄叶橐吾对小鼠醉酒潜伏期及醒酒时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	醉酒潜伏期 /min	醒酒时间 /min
模型	-	21.4 ± 3.5	153.6 ± 11.4
蹄叶橐吾	5.6	27.8 ± 6.0	116.3 ± 10.8 ¹⁾
	2.8	37.1 ± 7.2 ¹⁾	117.0 ± 11.7 ¹⁾

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

2.2 蹄叶橐吾乙醇提取物对小鼠急性酒精中毒的保护作用

2.2.1 血清学检查 表 2 结果显示,与模型组相比,蹄叶橐吾组 TG 及 ALT 含量均明显降低($P < 0.05$);MDA 含量则无显著性差异。

表 2 蹄叶橐吾对小鼠血清中 TG,MDA,GPT 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	TG /mmol·L ⁻¹	MDA /nmol·L ⁻¹	ALT /U·L ⁻¹
正常	-	1.39 ± 0.39 ²⁾	13.48 ± 4.32	35.13 ± 7.37 ²⁾
模型	-	1.94 ± 0.20	15.23 ± 3.66	42.56 ± 5.70
蹄叶橐吾	2.8	1.52 ± 0.35 ¹⁾	14.19 ± 3.70	35.89 ± 7.03 ¹⁾
	1.4	1.54 ± 0.41 ¹⁾	14.41 ± 5.37	36.10 ± 7.09 ¹⁾
	0.7	1.58 ± 0.35 ¹⁾	14.68 ± 3.96	36.08 ± 6.00 ¹⁾

表 3 蹄叶橐吾对小鼠肝组织中 TG, MDA, ALT, GSH-Px 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	TG /mmol·L ⁻¹	MDA /μmol·g ⁻¹	ALT /U·mg ⁻¹	GSH-Px /U·mg ⁻¹
正常	-	0.83 ± 0.18 ²⁾	15.88 ± 2.67 ¹⁾	42.75 ± 2.91 ²⁾	132.6 ± 14.6 ²⁾
模型	-	1.57 ± 0.45	20.59 ± 12.04	47.28 ± 3.48	83.5 ± 11.9
蹄叶橐吾	2.8	0.92 ± 0.28 ²⁾	16.47 ± 2.66	44.40 ± 2.37 ¹⁾	113.4 ± 15.9 ²⁾
	1.4	0.99 ± 0.25 ²⁾	16.68 ± 3.85	44.42 ± 1.56 ¹⁾	110.3 ± 13.4 ²⁾
	0.7	1.11 ± 0.36 ¹⁾	17.09 ± 4.54	45.67 ± 4.29	104.8 ± 18.6 ²⁾

2.2.2 肝组织中生化指标检测 表 3 结果显示,与模型组相比,蹄叶橐吾组 TG 及 ALT 含量均明显降低 ($P < 0.05$); MDA 含量与模型组相比无显著性差异。

3 讨论

该研究参照赵敏等的实验方法^[4]并略加改进,成功的复制出小鼠乙醇性肝损伤动物模型。乙醇所致肝损伤的重要机制之一是激活氧分子产生氧自由基导致肝细胞膜的脂质过氧化。MDA 是氧自由基攻击生物膜中的不饱和脂肪酸而形成的脂质过氧化物,MDA 含量的高低可反应氧自由基水平和脂质氧化的强度与速率。因此对 MDA 的检测可反映出机体内脂质过氧化和机体细胞受自由基攻击的损伤程度^[5]。正常时,转氨酶主要存在于细胞内,血清中的活性很低;组织器官中心、肝活性最高。当某种原因使细胞膜通透性增高或细胞破坏时,转氨酶大量释放入血,造成血清中转氨酶活性明显升高,因此测量血清及肝组织中 ALT 含量,可以反映出肝脏受损程度^[6]。肝脏是合成 TG 的主要场所,肝细胞能合成脂肪,但不能储存脂肪。TG 在肝内质网合成后与载脂蛋白及磷脂、胆固醇结合生成极低密度脂蛋白(VLDL),由肝细胞分泌入血而运输至肝外组织。如因中毒等原因 TG 不能形成 LVDL 分泌入血时,则聚集在肝细胞浆中,形成脂肪肝。因此,测量血清及肝脏中 TG 含量可以反映肝脏受损情况^[7]。本实验中蹄叶橐吾地上部分乙醇提取物可以降低小鼠血清及肝组织中 TG 含量及 ALT 活性,说明蹄叶橐吾地上部分乙醇提取物对小鼠急性乙醇中毒可能具有一定的保护作用。

GSH-Px 是体内一种重要抗氧化酶,具有清除体内脂质过氧化物,保护细胞膜及生物大分子结构的生物学功能,它能特异性催化还原型谷胱甘肽(GSH)转变为氧化型谷胱甘肽(GSSG),将有毒害作用的脂质过氧化物(ROOH)还原成无毒害作用的羟基化合物(ROH),使 H₂O₂ 分解,而且还能防止这些过氧化物的自由基重新发挥过氧化作用^[8-9]。因为蹄叶橐吾可升高小鼠肝脏组织中 GSH-Px 活性,表

明蹄叶橐吾地上部分乙醇提取物降低酒精对肝脏的损伤作用的机制,可能与提高机体抗氧化能力有关。

另外,该实验结果表明,蹄叶橐吾地上部分乙醇提取物可以延长小鼠醉酒时间(潜伏期),缩短翻正反射恢复(醒酒)时间。说明蹄叶橐吾乙醇提取物对小鼠醉酒实验有一定的预防性保护作用,也间接提示了蹄叶橐吾地上部分乙醇提取物对小鼠急性乙醇中毒起到一定保护作用。

[参考文献]

[1] 李丽波,王玉祥,孙连平,等. 蹄叶橐吾乙醇提取物抗炎作用的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2004, 11(5):285.

[2] 吉林省卫生局. 吉林省药品标准[M]. 1977:238.

[3] 曲香芝,于海玲. 蹄叶橐吾乙醇提取物抗溃疡作用研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(7):1190.

[4] 赵敏,池莉平,王凤岩,等. 小鼠急性酒精性肝损伤模型的建立及应用[J]. 华南预防医学, 2005, 31(1):14.

[5] 孙玉芹,高天芸,周娟,等. 川芎嗪对小鼠急性肝损伤性脂肪肝保护作用的研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2007, 5(6):540.

[6] Muller A, Sies H. Inhibition of ethanol-and aldehyde-induced release of ethane from isolated perfused rat liver by pargyline and disulfiram [J]. Pharmacol Biochem Behav, 1983, 18(1):429.

[7] Strubelt O, Younes M, Pentz R. Enhancement by glutathione depletion of ethanol-induced acute hepatotoxicity *in vitro* and *in vivo* [J]. Toxicology, 1987, 45(2):213.

[8] PAN Lu-qing, REN Jia-yun, ZHENG De-bin, et al. Effects of benzo(a)pyrene exposure on the antioxidant enzyme activity of scallop *Chlamysfarreri* [J]. Chin J Oceanol Limnol, 2009, 27(1):43.

[9] Yuan W P, Liu B, Liu C H, et al. Antioxidant activity of chito-oligosaccharides on pancreatic islet cells in streptozotocin-induced diabetes in rats [J]. World J Gastroenterology, 2009, 15(11):1339.

[责任编辑 聂淑琴]