

保利甘胶囊对酒精所致急性肝损伤的保护作用

王大平¹, 王敏², 王文芳¹, 韩福森¹, 马长雨¹, 何蓉蓉^{2*}, 栗原博^{2*}

(1. 天狮集团全球研发中心, 天津 301700; 2. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广东 广州 510632)

[摘要] 目的: 研究保利甘胶囊对酒精所致肝损伤的保护作用。方法: 观测保利甘胶囊(300及600 mg·kg⁻¹)连续ig 7 d, 对ig酒精8 g·kg⁻¹致急性肝损伤模型小鼠血浆丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性, 肝组织丙二醛(MDA)含量, 荧光酶标仪测定肝组织抗氧化能力指数(ORAC), HPLC法测定谷胱甘肽(GSH)含量, 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和总超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响。结果: 与模型组相比, 保利甘胶囊可以明显降低酒精负荷小鼠血浆ALT活性和肝组织MDA含量, 有效提高肝组织的ORAC指数、GSH含量、GSH-Px和SOD活性。结论: 保利甘胶囊对酒精所致的小鼠急性肝损伤有一定的保护作用。

[关键词] 保利甘胶囊; 酒精; 肝损伤

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)01-0065-03

Protective Effects of Baoligan Capsule on Acute Alcohol-induced Liver Injury in Mice

WANG Da-ping¹, WANG Min², WANG Wen-fang¹, HAN Fu-sen¹,
MA Chang-yu¹, HE Rong-rong^{2*}, LI Yuan-bo^{2*}

(1. Global Research and Development Centre of Tiens Group, Tianjin 300072, China; 2. Institute of Traditional Chinese Medicine & Natural Products, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the protective effects of Baoligan capsule on acute alcohol induced liver injury in mice. **Methods:** After oral administration of Baoligan (300 and 600 mg·kg⁻¹) for seven days, the mice were administrated alcohol(8 g·kg⁻¹) to induce liver injury. Hepatic function was evaluated by assessing alanine aminotransferase (ALT) level in plasma. TBARS method was performed to detect the contents of malondialdehyde (MDA) in liver. Antioxidant capacity of liver was measured by oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. The contents of glutathione (GSH) were detected in liver by HPLC method. Hepatic glutathione peroxidase (GSH-Px) and superoxide dismutase (SOD) were detected by enzymology method. **Results:** Baoligan capsule decreased the levels of ALT in plasma and the content of MDA in liver. It also increased the levels of ORAC, GSH, GSH-Px and SOD in liver as compared with alcoholic control group. **Conclusion:** Baoligan capsule exerted protective effects on liver injury in mice loaded with alcohol.

[Key words] baoligan; alcohol; liver injury

研究表明一些中药及其复方制剂能有效防治酒精性肝损伤^[1]。保利甘胶囊由姜黄、五味子、泽泻、

白芍、枸杞等配伍组方,对肝损伤有辅助保护功能。配方中的重要有效成分姜黄素和五味子醇甲都具有

[收稿日期] 2009-04-28

[基金项目] 十一五国家科技支撑计划(2006BAI06A20)

[通讯作者] * 何蓉蓉, Tel: (020)85221352; E-mail: rongronghe66@163.com;

* 栗原博, Tel: (020)85221559; E-mail: Hiroshi_Kurihara@163.com

一定的保肝、抗氧化和清除自由基等多种作用^[2~4]。本实验采用酒精所致急性肝损伤模型,探讨保利甘胶囊的保肝护肝作用。

1 材料

1.1 动物 雄性,7周龄清洁级昆明种小鼠购自广东省动物中心,许可证号SCXK(粤)2008-0002,饲养温度(23±2)℃,照明时间12 h/d(7:00-19:00)。

1.2 主要药品及试剂 保利甘(BLG)胶囊配方:姜黄2份、五味子2份、泽泻2份、白芍2份、枸杞1份、淀粉0.3份,由天津天狮集团提供,批号(20080922);联苯双酯滴丸,广州新群药业股份有限公司,批号:EF40131;丙氨酸氨基转移酶(ALT)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、超氧化物歧化酶(SOD)及考马斯亮兰蛋白测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所;谷胱甘肽(GSH)为Kohjin Co, Ltd. (Tokyo, Japan)产品;辛烷磺酸钠(SOS)购自Tokyo Kasei Kogyo Co, Ltd. (Tokyo, Japan);甲醇(色谱纯)为江苏汉邦科技有限公司;6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethyl -chroman-2-carboxylic acid (Trolox 为维生素E的水溶性衍生物)、2, 2'-azobis (2- amidinoprop ane) dihydrochloride (AAPH)、荧光素钠(sodium fluorescein)均购自Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Osaka, Japan)。

1.3 主要仪器与设备 高效液相色谱系统包括HITACHI L-6200型输液泵、L-5020型柱温箱(Hitachi Ltd, Japan)、N2000色谱数据工作站;MK3型酶标仪(Labsystem, Finland), GENios系列荧光酶标仪及Magellan工作站(Tecan, Switzerland); ULTRA-TURRAX T8型组织匀浆机(Labortechnik, Germany);3-18K型台式高速冷冻离心机(Sartorius, Germany);BS210S电子分析天平(Sartorius, Germany);WH-861型漩涡混合器(太仓市科教器材厂)及pH S-25型酸度计(上海伟业仪器厂)。

2 方法

2.1 动物分组及模型建立 实验动物随机分为正常对照组、酒精模型组、联苯双酯组、300及600 mg·kg⁻¹保利甘组,每组10只。给药容量为10 ml·kg⁻¹, ig 1次/d,共7 d,正常组和模型组均ig等容量水。末次给药后30 min, ig 酒精8 g·kg⁻¹。6 h后杀鼠取血取肝用于生化检测^[5]。

2.2 血浆ALT活性测定 小鼠全血置于肝素处理

过的离心管中,以5 000 r·min⁻¹离心5 min分离血浆,以赖氏法测定ALT活性。

2.3 肝组织MDA含量测定 小鼠5%肝组织匀浆中MDA含量使用MDA检测试剂盒测定。小鼠肝组织的5%生理盐水匀浆液在4℃条件下以10 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液稀释成1%后以考马斯亮兰蛋白试剂盒测定蛋白含量。

2.4 抗氧化能力指数(ORAC)的测定 小鼠肝组织的生理盐水匀浆液用6%高氯酸去蛋白,15 000 r·min⁻¹离心15 min后稀释到适当浓度进行ORAC实验^[6]。

2.5 HPLC法测定肝组织的GSH含量^[7] 小鼠肝组织称重后按重量体积比1:10添加生理盐水,在冰浴下以10 000 r·min⁻¹离心30 s并加等量6%高氯酸去蛋白。匀浆液在4℃条件下以10 000 r·min⁻¹离心10 min,上清液用0.45 μm微孔滤膜过滤后-20℃保存,用于GSH分析。GSH测定使用日本Nacalai Tesque公司Cosmosil系列5C18柱(4.6 mm×150 mm),流动相为99 mM磷酸盐缓冲液(pH 2.5),1%甲醇,200 mg·L⁻¹ SOS,5 mg·L⁻¹ EDTA,磷酸盐缓冲液由磷酸二氢钠配制,用磷酸调pH值为2.5。柱温为25℃,流速设定为1 mL·min⁻¹,电压为600 mV,进样量为20 μL。

2.6 肝组织的GSH-Px活性测定 肝组织中GSH-Px活性采用试剂盒检测。

2.7 肝组织的SOD活性测定 肝组织中SOD活性采用试剂盒检测。

2.8 统计学处理 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS13.0软件,用ANOVA检验和Dunnnett's检验进行统计学处理, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 保利甘胶囊对小鼠血浆ALT活性及肝组织MDA含量的影响 如表1所示,与正常组相比,酒精所致小鼠血浆ALT活性和肝组织MDA含量显著升高($P < 0.01$)。联苯双酯组,保利甘高、低剂量组均能显著降低模型小鼠血浆ALT活性和肝组织MDA含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3.2 保利甘胶囊对小鼠肝组织GSH含量和ORAC指数的影响 如表2所示,与正常组相比,模型组小鼠肝组织GSH含量和ORAC指数显著降低($P < 0.01$)。联苯双酯组,保利甘高、低剂量组均能显著升高模型小鼠肝组织GSH含量和ORAC指数($P <$

0.05 或 $P < 0.01$)。

表 1 保利甘胶囊对小鼠血浆 ALT 活性及肝组织 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	ALT ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	MDA ($\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$)
正常对照组	—	13.80 \pm 1.76 ²⁾	9.36 \pm 1.08 ²⁾
酒精模型组	—	30.61 \pm 5.21	18.29 \pm 3.10
联苯双酯组	150	13.79 \pm 2.58 ²⁾	12.30 \pm 3.90 ¹⁾
保利甘组	300	21.98 \pm 5.76 ¹⁾	14.85 \pm 0.97 ¹⁾
	600	17.08 \pm 7.07 ²⁾	14.05 \pm 1.78 ¹⁾

注:与模型组相比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)

表 2 保利甘胶囊对小鼠肝组织 GSH 含量和 ORAC 指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	GSH ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$)	ORAC ($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$)
正常对照组	—	60.44 \pm 7.25 ²⁾	3 985 \pm 246 ²⁾
酒精模型组	—	42.21 \pm 3.37	1 577 \pm 238
联苯双酯组	150	47.68 \pm 1.03 ²⁾	3 277 \pm 542 ²⁾
保利甘组	300	46.71 \pm 2.10 ¹⁾	2 606 \pm 436 ²⁾
	600	48.52 \pm 1.88 ²⁾	3 779 \pm 1 165 ¹⁾

3.3 保利甘胶囊对小鼠肝组织 GSH-Px 和 SOD 活性的影响 如表 3 所示,与正常组相比,模型小鼠肝组织 GSH-Px 和 SOD 活性显著降低 ($P < 0.01$),联苯双酯组,保利甘高,低剂量组对模型小鼠肝组织 GSH-Px 和 SOD 活性的降低均有一定的改善作用 ($P < 0.01$)。

表 3 保利甘胶囊对小鼠肝组织 GSH-PX 和 SOD 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	GSH-PX ($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$)	SOD ($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$)
正常对照组	—	2 099 \pm 164 ²⁾	19.77 \pm 0.69 ²⁾
酒精模型组	—	1 388 \pm 209	9.38 \pm 1.80
联苯双酯组	150	2 071 \pm 106 ²⁾	17.30 \pm 1.73 ²⁾
保利甘组	300	1 924 \pm 114 ²⁾	15.95 \pm 0.42 ²⁾
	600	2021 \pm 112 ²⁾	17.10 \pm 0.39 ²⁾

4 讨论

本实验研究发现,小鼠 ig 酒精 ($8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 后 6 h 血浆 ALT 活性显著升高,保利甘胶囊高,低剂量组能显著降低 ALT 的升高,表明保利甘胶囊可以改善

酒精所致的急性肝损伤。酒精负荷引起小鼠肝脏 MDA 水平显著上升。与模型组相比,保利甘胶囊组小鼠肝脏 MDA 水平显著下降,表明保利甘胶囊可以通过缓解急性酒精负荷引起的脂质过氧化状态,改善肝损伤的程度。此外,模型组引起小鼠肝组织内 GSH 含量、GSH-Px 和 SOD 活性明显下降,而保利甘胶囊能显著提高小鼠肝组织内 GSH 含量,提高 GSH-Px 和 SOD 活性。同时,酒精负荷小鼠肝组织的 ORAC 指数显著降低,而保利甘胶囊能显著提高 ORAC。结果表明,保利甘胶囊能提高酒精负荷小鼠体内抗氧化活性物质和酶的水平。

综上所述,保利甘胶囊对急性酒精性肝损伤有一定的保护作用,其作用可能与缓解酒精负荷小鼠的氧化应激状态相关。保利甘胶囊做为保肝护肝的保健品,具有较好的开发前景。

[参考文献]

- [1] 杨牧祥, 田元祥, 姚树坤, 等. 解酒护肝饮对酒精性肝损伤大鼠血清和肝组织 ALT、AST 的影响[J]. 河北中医, 2000, 10(22): 793-796.
- [2] Alexander P, Georg W. Pharmacology of *Schisandra chinensis* Bail.: An overview of Russian research and uses in medicine [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2008, 118(2): 183-212.
- [3] 徐 晖. 泽泻药理作用研究进展[J]. 湖南中医杂志, 2004, 20(3): 77-78.
- [4] Zhang XY, Wang JH, Li X. A study on the chemical constituents of *Paeonia lactiflora* Pall [J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2001, 18: 30-32.
- [5] Song ZY, Zhou XZ, Chen T, et al. S-Adenosylmethionine (S-AMe) protects against acute alcohol induced hepatotoxicity in mice [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2003, 14: 591-597.
- [6] Davalos A, Gomez-Cordoves C, Bartolome B. Extending Applicability of the Oxygen Radical Absorbance capacity (ORAC-Fluorescein) Assay [J]. Agric Food Chem, 2004, 52: 48-54.
- [7] Bautista AP, Spitzer JJ. Postbinge effects of acute alcohol intoxication on hepatic free radical formation [J]. Alcohol Clin Exp Res, 1996, 20: 502-509.