

# 龙胆泻肝丸(含白木通)对胆汁淤积大鼠 利胆保肝作用的实验研究

董 伟, 梁爱华\*, 薛宝云, 王金华, 李春英, 王秀坤  
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 研究含白木通龙胆泻肝丸对胆汁淤积大鼠的利胆保肝作用。方法: 大鼠一次性灌胃给予  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$   $\alpha$ -萘异硫氰酸酯(ANIT)花生油建立胆汁淤积模型。测定给药后 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4 h 胆汁流量, 血清 AST、ALT、ALP、TBIL、DBIL、CHO、SOD、MDA、GSH 水平, 胆汁中 TBIL、DBIL、CHO 含量并观察肝组织病理变化。结果: 含白木通的龙胆泻肝丸能显著增加 ANIT 致胆汁淤积大鼠的胆汁分泌量, 并降低肝损伤及胆管损伤的程度, 有降低血清 TBIL、DBIL 水平的趋势。但对模型大鼠血清 ALT、

[收稿日期] 2007-03-26

[通讯作者] \* 梁爱华, Tel: (010) 84035683; E-mail: liangaihua@sinna.com

AST SOD MDA GSH 水平无明显影响。结论: 含白木通龙胆泻肝丸有一定的利胆保肝作用。

[关键词] 龙胆泻肝丸; 白木通; 胆汁淤积

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)10-0037-04

## Cholagogic Effect and Hepatoprotective Effect of Longdan Xiegan Pill (with *Caulis Akebial Australis*) on Experimental Cholestasis in Mice

DONG Wei, LIANG Ai-hua\*, XUE Bao-yun, WANG Jin-hua, LI Chun-ying, WANG Xiu-kun

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the cholagogic effect and hepatoprotective effect of Longdan Xiegan Pill on the Cholestasis model in mice. **Methods:** The cholestasis model was induced by percutaneous  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$   $\alpha$ -Naphthyl isothiocyanate (ANIT). Bile flow, the levels of AST, ALT, ALP, TBIL, DBIL, CHO, SOD, MDA, GSH in serum and TBIL, DBIL, CHO in the bile were measured. Pathological changes of the liver tissue were observed under optic microscope. **Results:** Longdan Xiegan Pill (with *Caulis Akebiae Australis*) significantly highered Bile flow and markedly ameliorated the liver damage ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Longdan Xiegan Pill (with *Caulis Akebiae Australis*) can protect against cholestasis induced by ANIT in mice.

[Key words] Longdan Xiegan Pill; *Caulis Akebiae Australis*; cholestasis

龙胆泻肝丸由龙胆、柴胡、黄芩、栀子、泽泻、木通、车前子、当归、地黄、炙甘草组成。临床用于治疗肝胆湿热。该方中的木通几十年来一直使用马兜铃科植物关木通 (*Aristolochia manshuriensis* Kom.), 以致服龙胆泻肝丸导致肾功能衰竭的报道时有发生。2003 年 6 月国家食品药品监督管理局发出通知取消关木通药用标准, 并对含关木通的制剂用木通科木通进行替换。本实验采用  $\alpha$  异硫氰酸酯 (ANIT) 造成胆汁淤积模型, 研究用白木通替代关木通后, 龙胆泻肝丸在此模型上是否具有清肝利胆作用。

### 1 材料

**1.1 实验动物** Wistar 大鼠, 雄性; 体重 ( $240 \pm 20$ ) g; 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 合格证号: SCXK(京)2002-0003。

**1.2 药品** 龙胆泻肝丸提取物 (含白木通) (LDXGT) (每 100 g 生药得提取物 11 g), 龙胆泻肝丸原粉 (含白木通) (LDXGY) (批号 0504-01075), 以上龙胆泻肝丸药味组成及方中药物比例与《中国药典》2005 年版相同, 其中的木通为白木通, 均由北京同仁堂集团公司提供。胆乐胶囊 (DL) (批号 050304), 由浙江永宁制药厂生产。

**1.3 试剂** ANIT, Sigma 公司生产 (试验时用食用花生油配成  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  溶液)。天冬氨酸氨基转移酶

(AST) 试剂盒 (赖氏法) (批号 041008), 丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 试剂盒 (赖氏法) (批号 041102), 碱性磷酸酶 (ALP) 试剂盒 (金氏法) (批号 050809), 总胆红素 (TBIL) 试剂盒 (化学比色法) (批号 050606), 直接胆红素试剂盒 (DBIL) (化学比色法) (批号 050425) 以上均由北京北化康泰临床试剂有限公司生产。超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒 (批号 20050715), 丙二醛 (MDA) 试剂盒 (批号 20050716), 谷胱甘肽 (GSH) 试剂盒, (批号 20050722), 以上均由南京建成生物工程研究所生产。BCA 蛋白质定量检测试剂盒, 由美国 PIERCE 生物技术公司生产。总胆固醇试剂盒 (CHOD-PAP 法) (批号 180091), 由中生北控生物科技股份有限公司生产。

**1.4 仪器** 国产 1/万电子分析天平 (型号: AEU-210), 德国产半自动生化分析仪 (型号: HUMALYZER 2000), 美国产低温高速离心机 (型号: SORVALLT21)。

### 2 方法

**2.1 分组给药** 按体重将动物随机分为 7 组, 为: A 正常对照组, B 模型组, C 胆乐胶囊  $750 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组, D 龙胆泻肝丸提取物 (含白木通)  $5.0 \text{ g 生药/kg}$  组, E 龙胆泻肝丸提取物 (含白木通)  $2.5 \text{ g 生药/kg}$  组, F 龙胆泻肝丸提取物 (含白木通)  $1.25 \text{ g 生药/kg}$  组, G 龙

胆泻肝丸原粉(含白木通) 2.5 g 生药/kg 组。

(C~G)组每日灌胃给药1次,连续8d。A和B组灌胃同体积的蒸馏水。其中第5d给药1h后,除A组蒸馏水灌胃外,其他各组大鼠按100 mg·kg<sup>-1</sup> 1次性灌胃 ANIT 花生油。第8d实验前全部动物禁食不禁水16h。

**2.2 胆汁及血液的收集与检测** 各鼠以20%乌拉坦0.005 mL·g<sup>-1</sup>腹腔注射麻醉,仰位固定于板上,沿腹正中中线切开约2cm,打开腹腔,找到胃幽门部,翻转十二指肠,在十二指肠降部肠系膜中找到白色有韧性的胆管,分离后在其下穿二根细线,结扎乳头部,用聚氯乙烯医用塑料管向肝脏方向刺入,结扎固定塑料管,给药,并开始计时,收集胆汁。实验过程中创面用生理盐水纱布覆盖以保持经常湿润。分别收集药后0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4h内各组鼠胆汁流量。按试剂盒所述检测4h累计收集胆汁中TBIL、DBIL、

CHO含量。4h后股动脉取血,分离血清(3000 r·min<sup>-1</sup>离心10min),检测血清AST、ALT、ALP、TBIL、DBIL、CHO、SOD、MDA和GSH水平。

**2.3 病理观察** 取肝左叶,部分用10%甲醛溶液固定,常规石蜡包埋切片,苏木精-伊红染色,光镜下观察肝组织病理学变化。肝组织损伤程度分为4级,0级(-):肝组织结构正常,无明显变性、坏死及炎症细胞浸润;1级(+):肝小叶结构尚正常,可见明显的混浊肿胀,气球样变或脂肪变性,散在点状坏死;2级(++):肝小叶结构不清,可见明显的灶状坏死,伴有炎症细胞浸润;3级(+++):肝小叶结构不清,可见明显的片状坏死,伴有炎症细胞浸润。

**2.4 统计学处理** 实验数据经SPSS 10.0软件统计,进行单因素方差分析。

### 3 结果

**3.1 对胆汁分泌量的影响** 如表1所示,模型组大

表1 龙胆泻肝丸提取物(含白木通)对胆汁淤积性大鼠胆汁分泌量影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g生药/kg)	n	胆汁分泌量(mL)					
			0.5 h	1 h	1.5 h	2 h	3 h	4 h
正常组	—	10	0.40 ± 0.08 <sup>2)</sup>	0.71 ± 0.19 <sup>2)</sup>	1.02 ± 0.26 <sup>2)</sup>	1.27 ± 0.32 <sup>2)</sup>	1.84 ± 0.48 <sup>2)</sup>	2.39 ± 0.61 <sup>1)</sup>
模型组	—	10	0.26 ± 0.08	0.45 ± 0.14	0.65 ± 0.18	0.88 ± 0.23	1.28 ± 0.32	1.78 ± 0.45
DL	0.75	11	0.30 ± 0.15	0.52 ± 0.23	0.75 ± 0.32	0.96 ± 0.42	1.39 ± 0.59	1.90 ± 0.82
LDXGT	5.00	13	0.35 ± 0.12	0.66 ± 0.21 <sup>1)</sup>	0.93 ± 0.28 <sup>1)</sup>	1.18 ± 0.35	1.69 ± 0.49	2.26 ± 0.64
LDXGT	2.50	12	0.39 ± 0.14	0.73 ± 0.24 <sup>2)</sup>	1.05 ± 0.33 <sup>1)</sup>	1.35 ± 0.43	1.94 ± 0.62	2.55 ± 0.80
LDXGT	1.25	12	0.34 ± 0.10	0.58 ± 0.19	0.82 ± 0.29	1.11 ± 0.36	1.56 ± 0.48	1.99 ± 0.47
LDXGY	2.50	12	0.35 ± 0.11	0.67 ± 0.24 <sup>1)</sup>	0.94 ± 0.32 <sup>1)</sup>	1.20 ± 0.40	1.70 ± 0.54	2.41 ± 0.91

注:与模型组比较<sup>1)</sup> P < 0.05;与模型组比较<sup>2)</sup> P < 0.01(下同)

鼠胆汁分泌量与正常组比较在观察的各时间点均明显下降(P < 0.01)。各给药组胆汁分泌量不同程度高于模型组。其中LDXGT 5.0 g 生药/kg组、LDXGT 2.5 g 生药/kg组、LDXGY 2.5 g·kg<sup>-1</sup>组在给药后1h、1.5h胆汁分泌量与模型组相比显著增加。

**3.2 对血清TBIL、DBIL、CHO的影响** 如表2所示,模型组大鼠血清TBIL、DBIL、CHO均上升,与正常组有明显差异(P < 0.01)。而所有给药组血清TBIL、DBIL、CHO与模型组比较无明显差异,但LDXGT大、中剂量和LDXGY组对血清TBIL、DBIL有降低趋势。

**3.3 对胆汁TBIL、DBIL及CHO的影响** 表3显示,与正常组比,模型组大鼠胆汁TBIL、DBIL含量显著升高(P < 0.01),胆汁CHO显著降低(P < 0.01)。所有给药组胆汁TBIL、DBIL、CHO水平与模型组比较差异不显著。

表2 龙胆泻肝丸提取物(含白木通)对胆汁淤积性大鼠血清TBIL、DBIL及CHO的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g生药/kg)	n	血清TBIL (mg·dL <sup>-1</sup> )	血清DBIL (mg·dL <sup>-1</sup> )	血清CHO (mmol·L <sup>-1</sup> )
正常组	—	10	0.63 ± 0.28 <sup>2)</sup>	0.57 ± 0.28 <sup>2)</sup>	2.91 ± 0.99 <sup>2)</sup>
模型组	—	10	4.30 ± 2.01	4.05 ± 2.46	10.85 ± 2.58
DL	0.75	12	5.22 ± 2.93	4.45 ± 2.38	9.70 ± 3.13
LDXGT	5.00	13	3.63 ± 2.71	2.92 ± 1.76	8.83 ± 2.26
LDXGT	2.50	12	3.63 ± 2.98	2.85 ± 1.73	9.34 ± 2.60
LDXGT	1.25	12	3.85 ± 2.05	3.73 ± 2.11	10.95 ± 3.80
LDXGY	2.50	12	3.38 ± 1.75	3.08 ± 1.81	8.72 ± 1.80

表 3 龙胆泻肝丸提取物(含白木通)对胆汁淤积性大鼠胆汁 TBIL、DBIL、CHO 的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g 生药/kg)	n	胆汁 TBIL (mg·dL <sup>-1</sup> )	胆汁 DBIL (mg·dL <sup>-1</sup> )	胆汁 CHO (mmol·L <sup>-1</sup> )
正常组	—	10	1.30 ± 0.48 <sup>2)</sup>	5.50 ± 4.93 <sup>2)</sup>	0.53 ± 0.16 <sup>2)</sup>
模型组	—	10	10.60 ± 3.27	15.50 ± 7.62	0.23 ± 0.04
DL	0.75	11	15.86 ± 6.80	22.18 ± 9.48	0.21 ± 0.03
LDXGT	5.00	13	12.42 ± 8.08	16.23 ± 14.43	0.24 ± 0.06
LDXGT	2.50	12	10.54 ± 4.84	12.54 ± 10.76	0.23 ± 0.16
LDXGT	1.25	12	12.38 ± 3.88	15.92 ± 6.49	0.23 ± 0.12
LDXGY	2.50	12	11.42 ± 5.85	14.67 ± 10.68	0.23 ± 0.03

表 4 龙胆泻肝丸(含白木通)对胆汁淤积大鼠肝组织损伤积分的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g 生药/kg)	n	肝组织损伤积分
正常组	—	10	0.00 ± 0.00
模型组	—	10	1.35 ± 0.58
DL	0.75	12	1.54 ± 0.50
LDXGT	5.00	13	1.04 ± 0.62
LDXGT	2.50	12	0.71 ± 0.50 <sup>2)</sup>
LDXGT	1.25	12	1.12 ± 0.31
LDXGY	2.50	12	0.83 ± 0.62 <sup>2)</sup>

3.4 对血清 ALT、AST、ALP 的影响 模型组大鼠血清 ALT、AST、ALP 升高, (与正常组比较  $P < 0.01$ )。所有给药组血清 ALT、AST、ALP 水平与模型组比较无明显差异。

3.5 对血清 MDA、SOD、GSH 的影响 模型组大鼠血清 MDA 水平升高(与正常组比较  $P < 0.01$ ), 血清 SOD 及 GSH 水平与正常组比较无明显变化。各给药组血清 SOD、MDA、GSH 水平与模型组比较无明显差异。

3.6 对肝脏组织学影响 病理检测模型组大鼠发生肝细胞坏死和胆管损伤。肝细胞坏死多为小灶性散在发生, 也有大灶性片状坏死, 肝小叶中央静脉扩张或内膜脱落。毛细胆管及汇管区较大的胆管上皮细胞肿胀、坏死、脱落, 胆管腔缩小, 部分胆管扩张以及胆管增生。表 4 所示为肝细胞坏死和胆管损伤的半定量积分。各给药组肝细胞坏死不同程度地轻于模型组, 其中 LDXGY 2.5 g 生药/kg 组和 LDXGT 2.5 g 生药/kg 组与模型组相比差异显著( $P < 0.01$ )。

#### 4 讨论

龙胆泻肝丸作为治疗肝胆湿热的代表方, 临床应用广泛, 疗效确切。本实验通过给大鼠灌胃 ANIT 造成胆汁淤积模型, 观察其对胆汁流量, 胆汁成分, 血清胆红素等的影响, 研究其清肝利胆的作用。

李延福<sup>[1]</sup>对在临床上诊断明确的 66 例肝脏疾病病例肝活组织切片观察分析, 发现湿热型的病理变化有显著的肝细胞内胆汁淤留及较明显胆管内淤胆, 大部分有汇管区或间质慢性炎性细胞浸润。白

玉良<sup>[2]</sup>对病毒性肝炎作肝穿活检分析表明, 肝胆湿热型的病理改变特点为肝细胞淤胆, 肝细胞色素颗粒沉着以及小胆管扩张等。ANIT 在动物体内可转化为有肝毒性的代谢产物产生肝毒性。其病理特点为小叶间胆管增生, 胆管上皮细胞肿胀, 坏死, 部分坏死的上皮细胞脱落后阻塞胆管, 肝细胞变性坏死, 血清 AST、ALT、TBIL 显著升高, 胆汁淤积的生化改变<sup>[3,4]</sup>。由于 ANIT 造成胆汁淤积模型病理特点部分与临床一致, 因此本实验采用了该模型来研究龙胆泻肝丸治疗肝胆湿热的作用。

本实验发现含白木通的龙胆泻肝丸能显著增加 ANIT 致胆汁淤积大鼠的胆汁分泌量, 并降低肝损伤及胆管损伤的程度, 有降低血清 TBIL、DBIL 水平的趋势。这说明含白木通龙胆泻肝丸具有一定的利胆保肝作用, 白木通可以替代关木通。同时发现同剂量的原粉与提取物作用相近, 这说明提取物保留了原方的作用, 但用药更加便捷。

#### [参考文献]

- [1] 李延福. 肝脏疾病辨证分型与某些客观化指标的联系[J]. 湖北中医杂志, 1983, (2): 33.
- [2] 白玉良. 病毒性肝炎中医辨证分型与肝脏病理变化关系探讨[J]. 中西医结合杂志, 1983, 3(3): 161.
- [3] 苗明三. 实验动物和动物实验技术[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1997. 227.
- [4] 陈成伟. 药物与中毒性肝病[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002. 118.