

# 肝必康胶囊对实验性肝损伤的作用研究

何开家\*, 钟正贤, 周桂芬, 陈学芬, 李燕婧, 李开双, 陈晓军, 李翠红  
(广西中医药研究院, 广西 南宁 530022)

[摘要] 目的: 研究肝必康胶囊抗肝损伤的药效作用。方法: 采用四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)、D-半乳糖胺(D-GlaN)、异硫氰酸萘酯(ANIT)所致小鼠急性肝损伤模型, 免疫功能低下小鼠溶血素生成、小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能等方法。结果: 肝必康胶囊能显著抑制 CCl<sub>4</sub>、D-GlaN、ANIT 等所致急性肝损伤小鼠血清中转氨酶升高, 降低总胆红素含量; 促进免疫功能低下小鼠溶血素生成; 增加免疫功能低下小鼠腹腔巨噬细胞吞噬百分率和吞噬指数。结论: 肝必康胶囊具有明显保肝、降酶、退黄作用, 并使免疫功能低下动物具有免疫增强作用。

[关键词] 肝必康胶囊; 保肝作用; 免疫功能

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)04-0050-04

## Effects of Ganbikang Capsule on Experimental Hepatic Injury

HE Kaijia\*, ZHONG Zheng-xian, ZHOU Guifen, CHEN Xuefen, LI Yanjing,  
LI Kai-shuang, CHEN Xiao-jun, LI Cui-hong  
(Guangxi Institute of TCM, Nanning 530022, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Ganbikang Capsule on anti-experimental hepatic injury in mice. **Methods:** The protective liver action were tested using liver injured models induced by carbon tetrafluoride (CCl<sub>4</sub>), D-galactosamine(D-GlaN) and naphthyl isothiocyanate (ANIT), and the immune function was observed by the methods of haemolysin formation and phagocytosis of abdominal phagocyte in immune-lowering mice. **Results:** The Ganbikang Capsule could significantly inhibited the transaminase activities, lowered T-BIL content in the serums of acute liver injured models induced by CCl<sub>4</sub>, D-GlaN, ANIT in mice. It could promote the haemolysin formation, and increase the phagocytosis percentage and indexes of abdominal phagocyte in mice of immune function lowering. **Conclusions:** The Ganbikang Capsule has the significantly actions of protecting liver, inhibiting transaminase and eliminating jaundice, and improving immune function.

[Key words] Ganbikang Capsule; protecting liver; immune function

肝必康胶囊系广西中医药研究院研制的纯中药抗肝炎制剂, 由三叶香茶菜、甜茶藤、溪黄草、灵芝等 10 味中草药组成, 具有清热解毒, 利湿退黄, 保肝降酶等作用。临床上用于乙肝病毒引起的急、慢性肝炎和黄疸等症效果良好。我们对其抗肝炎主要药效

作用进行了实验研究。现报道如下。

### 1 材料

**1.1 药物** 肝必康胶囊干膏, 由广西中医药研究院化学研究室提供, 每克干膏相当于 9.177g 原生药, 批号: 20040320。实验时按所需浓度用 1% CMC 溶液配制。乙肝解毒胶囊, 重庆东方药业股份有限公司生产, 批号 040301。左旋咪唑, 广西桂林市制药厂生产, 批号 9903010。

**1.2 试剂** D-半乳糖胺(D-GlaN), 异硫氰酸萘酯

[收稿日期] 2007-07-23

[基金项目] 广西科技厅科技攻关资助项目桂科攻(0235023-3)

[通讯作者] \* 何开家, Tel: (0771) 2660261; E-mail: HE Kaijia@163.com

(ANIT), 均为 Sigma 公司产品; 四氯化碳( $\text{CCl}_4$ ), 广州市化学试剂厂生产, 批号: 060522; 环磷酰胺, 上海华联制药有限公司, 批号: 03102; 检测试剂盒: 丙氨酸氨基转移酶(ALT), 批号: 0404111; 天门冬氨酸氨基转移酶(AST), 批号: 030520; 总胆红素(T-BIL), 批号: 0404001; 总蛋白(TP), 批号: 030310; 白蛋白(ALB), 批号: 1103081; 均为四川迈克科技有限责任公司产品。

**1.3 动物** 昆明种小鼠, 体重(22~26)g, 雌雄各半, 清洁级动物, 由广西医科大学实验动物中心提供, 许可证号: SCXK 桂 2003-0003。大鼠和小鼠分性别饲养于空调实验室内, 室温: (22±2)℃, 相对湿度: 60%±5%, 喂颗粒标准饲料, 自由饮水和摄食。

**1.4 仪器** 电热水浴恒温箱, 上海医疗器械三厂生产; 722 型光栅分光光度计, 上海第三分析仪器厂生产。

**1.5 统计方法** 采用 PEMS 3.1 统计软件分析数据。所得实验数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 采用 *t* 检验作组间比较差异显著性。肝组织病变分级差异采用 Wilcoxon 秩和检验和 *t* 检验。

## 2 方法

### 2.1 对 $\text{CCl}_4$ 所致小鼠急性肝损伤的保护作用<sup>[1]</sup>

选取昆明种小鼠 60 只, 雌雄各半, 随机分为空白对照组(蒸馏水  $20\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、模型组(蒸馏水  $20\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、乙肝解毒胶囊( $2.0\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组、肝必康胶囊大、中、小剂量( $4 \cdot 8, 3.2, 1.6\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组。每天分别灌胃给药 1 次, 连续 7 d, 末次给药 1 h 后, 除空白对照组外, 其他各组小白鼠腹腔注射 0.1%  $\text{CCl}_4$  液体石蜡油溶液  $10\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 同时禁食、自由饮水, 20 h 后, 摘除眼球取血, 分离血清, 按试剂盒方法测定 ALT, AST, TP, ALB 含量。

**2.2 对 D-GlaN 致肝损伤小鼠的保护作用<sup>[2,3]</sup>** 分组及给药剂量同 2.1。末次给药 1 h 后, 除空白对照组外, 其他各组腹腔注射 D-半乳糖胺  $650\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 16 h 后, 摘除小鼠眼球取血, 分离血清, 按试剂盒方法测定 AST, ALT, TP, ALB 等生化指标。同取肝脏右叶, 10% 福尔马林溶液固定, 石蜡包埋切片, 常规 HE 染色, 观察肝组织病理改变。按下述方法分级评分: +, 有病变的肝细胞小于肝小叶的 1/3, 记 1 分; ++, 有病变的肝细胞占肝小叶的 1/3~2/3, 记 2 分; +++, 有病变的肝细胞占肝小叶的 2/3 以上, 记 3 分。

**2.3 退黄试验<sup>[2]</sup>** 分组及给药剂量同 2.1。第 7 d 除正常对照组外, 其余各组给予 ig 0.6% 异硫氰酸萘酯染毒, 染毒后继续给药 2 d, 各组小鼠于染毒 48 h 后, 摘除眼球取血, 分离血清, 用测试药盒测定血清 T-BIL 含量和 ALT 活性。

**2.4 对免疫功能低下小鼠溶血素生成的影响<sup>[4]</sup>** 分组及给药剂量同 2.1。连续给药 10 d, 第 5 d 每鼠腹腔注射 5% 鸡红细胞混悬液 0.2 mL/只, 同时, 除正常对照组外, 其他 5 组小鼠均皮下注射环磷酰胺(cy)  $20\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  1 次。免疫第 4 d 后, 摘除眼球取血, 分离血清, 测定各组小鼠血清溶血素(O.D 值)。

**2.5 对免疫功能低下小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响<sup>[2]</sup>** 分组及给药剂量同 2.1。除空白对照组外, 分别于第 1, 3, 5, 7 d 各肌肉注射氢化可的松( $0.5\text{mg}/\text{只}$ )。末次给药后 1h, 每只小鼠腹腔注射 5% (v/v) 鸡红细胞(CRBC) 0.5 mL/只。于给鸡红细胞后 10 h 处死小鼠, 剪开腹部皮肤, 并向腹腔注射 2 mL 生理盐水冲洗腹腔, 轻揉小鼠腹部后, 吸取腹腔冲洗液滴于 2 片载玻片上, 放入垫有湿纱布的托盘内置于 37℃ 温育 30 min, 孵毕用生理盐水漂洗去未被吞噬的 CRBC 及其他的细胞, 吹干, 用 1:1 丙酮、甲醇溶液固定 5 min, 凉干后用瑞氏染液染色, 在油镜下观察计数 100 个吞噬细胞, 其中计算吞噬 CRBC 的巨噬细胞数和被吞噬的 CRBC 数, 按下列公式: 吞噬百分率= 吞噬 CRBC 的吞噬细胞数/100 个巨噬细胞数 (包括吞噬及未吞噬的巨噬细胞) × 100%; 吞噬指数 = 被吞噬 CRBC /100 个巨噬细胞数 × 100%, 计算腹腔巨噬细胞吞噬百分率和吞噬指数。

## 3 结果

**3.1 对小鼠  $\text{CCl}_4$  所致急性肝损伤的保护作用** 结果见表 1。肝必康胶囊大、中剂量组及乙肝解毒胶囊组均能显著抑制  $\text{CCl}_4$  所致急性肝损伤小鼠血清中 ALT、AST 的升高, 并能升高 TP 和 ALB 含量, 肝必康胶囊小剂量组作用不明显。

**3.2 对 D-半乳糖胺致肝损伤小鼠的保护作用** 结果见表 2。肝必康大、中、小剂量组和阳性药乙肝解毒胶囊均能明显抑制 D-对半乳糖胺致肝损伤小鼠血清转氨酶活性的升高, 但对血清总蛋白和白蛋白含量无明显影响。肝损伤病理检查结果见表 3, 对照组 10 例中有 2 例间质性肝炎, 1 例伴有肝细胞水变性。模型组 10 例中有 5 例弥漫性轻度脂变及点状或片状坏死, 其他基本正常。乙肝解毒胶囊 1 例

点状坏死, 1 例间质性肝炎。肝必康大剂量组有 3 例点状或小灶状坏死。肝必康中剂量组有 1 例片状坏死, 2 例轻度脂变。肝必康小剂量组有 2 例片状坏死, 2 例点状坏死。按肝组织病变分级计算积分经统计学处理表明, 与模型组比较, 肝必康大剂量组和乙肝解毒胶囊具有明显抑制 D-半乳糖胺致肝组织病变, 中小剂量组也有一定程度的抑制作用, 但不够明显。

表 1 肝必康胶囊对小鼠 CCl<sub>4</sub> 所致急性肝损伤的保护作用( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 (g·kg <sup>-1</sup> )	ALT (U·L <sup>-1</sup> )	AST (U·L <sup>-1</sup> )	TP (g·L <sup>-1</sup> )	ALB (g·L <sup>-1</sup> )
空白对照	-	30.5 ± 2.3 <sup>3)</sup>	90.6 ± 13.3 <sup>3)</sup>	72.1 ± 8.2 <sup>3)</sup>	42.6 ± 3.9 <sup>2)</sup>
模型组	-	95.9 ± 20.3	133.7 ± 29.5	59.3 ± 5.7	38.9 ± 1.8
乙肝解毒	2.0	51.8 ± 20.3 <sup>3)</sup>	101.7 ± 26.1 <sup>1)</sup>	69.4 ± 3.6 <sup>3)</sup>	43.2 ± 4.6 <sup>1)</sup>
肝必康	4.0	46.3 ± 13.2 <sup>3)</sup>	104.7 ± 17.1 <sup>1)</sup>	71.4 ± 3.8 <sup>3)</sup>	45.1 ± 4.9 <sup>2)</sup>
	2.0	50.6 ± 20.8 <sup>3)</sup>	107.0 ± 14.3 <sup>1)</sup>	65.3 ± 5.8 <sup>1)</sup>	41.8 ± 2.6 <sup>1)</sup>
	1.0	72.4 ± 22.6 <sup>1)</sup>	125.8 ± 31.6	61.7 ± 2.4	39.6 ± 2.9

注: 与模型组比较<sup>1)</sup> P < 0.05, <sup>2)</sup> P < 0.01, <sup>3)</sup> P < 0.001(下同)

表 2 肝必康胶囊对 D-半乳糖胺致肝损伤小鼠的保护作用( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 (g·kg <sup>-1</sup> )	ALT (U·L <sup>-1</sup> )	AST (U·L <sup>-1</sup> )	TP (g·L <sup>-1</sup> )	ALB (g·L <sup>-1</sup> )
对照组		30.74 ± 3.91	55.10 ± 21.46	61.36 ± 2.81	30.30 ± 2.15
模型组		125.95 ± 50.42	134.29 ± 52.77	60.61 ± 8.23	34.90 ± 10.92
乙肝解毒	2.0	86.10 ± 16.91 <sup>1)</sup>	86.35 ± 47.80 <sup>1)</sup>	58.86 ± 5.06	32.83 ± 4.90
肝必康	4.0	75.76 ± 40.45 <sup>1)</sup>	92.54 ± 51.45	63.20 ± 5.79	28.10 ± 6.26
	2.0	74.93 ± 41.24 <sup>1)</sup>	83.90 ± 48.44 <sup>1)</sup>	57.10 ± 18.29	31.75 ± 1.40
	1.0	107.64 ± 37.29	111.98 ± 40.75	61.71 ± 6.24	32.34 ± 2.68

表 3 肝必康胶囊对 D-半乳糖胺致肝损伤小鼠的保护作用( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 (g·kg <sup>-1</sup> )	肝组织病变分级					积分
		- (0分)	+ (1分)	++ (2分)	+++ (3分)	++++ (4分)	
对照组	-	10	0	0	0	0 <sup>4)</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>2)</sup>
模型组	-	5	0	0	5	0	1.50 ± 1.58
乙肝解毒	2.0	9	1	0	0	0 <sup>4)</sup>	0.10 ± 0.31 <sup>1)</sup>
肝必康	4.0	7	3	0	0	0 <sup>4)</sup>	0.30 ± 0.48 <sup>1)</sup>
	2.0	8	0	0	2	0	0.60 ± 1.26
	1.0	6	0	4	0	0	0.80 ± 1.03

注: Wilcoxon 秩和检验: 与模型组比较<sup>4)</sup> P < 0.05

3.3 退黄试验 结果见表 4。肝必康胶囊大中剂量

和乙肝胶囊均能明显抑制 ANIT 致急性肝损伤丙氨酸氨基转移酶活性升高, 降低血清总胆红素含量。

表 4 肝必康胶囊对小鼠 ANIT 致急性肝损伤的保护作用( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 (g·kg <sup>-1</sup> )	ALT (U·L <sup>-1</sup> )	T-BIL (umol·L <sup>-1</sup> )
空白对照	-	31.3 ± 3.1 <sup>3)</sup>	8.8 ± 2.6 <sup>3)</sup>
模型组	-	179.3 ± 11.3	173.2 ± 39.2
乙肝解毒	2.0	136.0 ± 39.7 <sup>3)</sup>	116.2 ± 26.5 <sup>2)</sup>
肝必康	4.0	139.1 ± 30.0 <sup>3)</sup>	130.7 ± 26.9 <sup>1)</sup>
	2.0	156.8 ± 20.2 <sup>2)</sup>	133.7 ± 24.1 <sup>1)</sup>
	1.0	173.5 ± 10.9	158.1 ± 37.8

3.4 对免疫功能低下小鼠溶血素生成的影响 结果见表 5。肝必康胶囊大、中、小剂量组和阳性药左旋咪唑组均能增加免疫功能低下小鼠溶血素生成。

表 5 肝必康胶囊对免疫功能低下小鼠溶血素生成的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量(g·kg <sup>-1</sup> )	溶血素(O. D)
空白对照组	-	0.507 ± 0.185 <sup>1)</sup>
环磷酰胺组(CY)	-	0.310 ± 0.137
左旋咪唑+ CY	0.05	0.894 ± 0.209 <sup>3)</sup>
肝必康+ CY	4.0	0.741 ± 0.316 <sup>3)</sup>
	2.0	0.634 ± 0.320 <sup>2)</sup>
	1.0	0.585 ± 0.359 <sup>1)</sup>

注: 与环磷酰胺组比较<sup>1)</sup> P < 0.05, <sup>2)</sup> P < 0.01, <sup>3)</sup> P < 0.001

3.5 对免疫功能低下小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响 结果见表 6。肝必康胶囊大、中、小剂量组和阳性药乙肝解毒胶囊均能明显增加免疫功能低下小鼠腹腔巨噬细胞吞噬百分率和吞噬指数。

表 6 肝必康胶囊对免疫功能低下小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 (g·kg <sup>-1</sup> )	吞噬百分率 (%)	吞噬指数 (%)
空白对照组	-	44.20 ± 14.24 <sup>1)</sup>	0.75 ± 0.34 <sup>1)</sup>
模型组	-	30.70 ± 12.74	0.46 ± 0.24
乙肝解毒	2.0	47.20 ± 9.66 <sup>2)</sup>	0.93 ± 0.32 <sup>2)</sup>
肝必康	4.0	45.50 ± 16.38 <sup>1)</sup>	0.87 ± 0.43 <sup>1)</sup>
	2.0	48.20 ± 14.95 <sup>2)</sup>	0.86 ± 0.35 <sup>3)</sup>
	1.0	54.60 ± 14.33 <sup>3)</sup>	1.18 ± 0.35 <sup>3)</sup>

#### 4 小结与讨论

肝必康胶囊是采用传统中医理论和现代科学成果相结合研制成的纯中药制剂, 现代研究表明, 方中

三叶香茶菜、甜茶藤、溪黄草、灵芝等药物对四氯化碳、D-半乳糖胺、硫代乙酰胺等所致急性或慢性肝损伤动物模型具有良好的保肝降酶、抗肝损伤效果,以及有提高机体免疫功能的作用,体外实验还有抗乙肝病毒作用<sup>[5-7]</sup>。

本实验结果表明,肝必康胶囊对小鼠 CCl<sub>4</sub>、半乳糖胺及 ANIT 所致急性肝损伤具有明显保肝、降转氨酶、抑制胆红素升高作用;能促进免疫功能低下小鼠溶血素生成,提高免疫功能低下小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能。因此,认为肝必康胶囊是一种具有抗肝损伤、降酶退黄、增强免疫功能的药物,研究结果为临床应用和开发提供了实验依据。

### [参考文献]

[1] 郭建生,吴勇军,王小娟,等. 摄生肝泰胶囊对肝损伤

动物治疗作用的实验研究[J]. 中药新药与临床药理, 1999, 10(2): 87.

[2] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991. 460, 464, 159.

[3] 陈奇. 中药药效研究思路与方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005. 507.

[4] 施顺清, 任建伟, 李健, 等. 虎杖、小田基黄煎剂的动物实验[J]. 中成药研究, 1983, 5(6): 36.

[5] 郑民实, 郑有方. 1000 种中草药抑制乙肝病毒表面抗原的实验研究[J]. 中医杂志, 1989, 30(11): 47.

[6] 钟正贤, 陈学芬, 周桂芬, 等. 广西藤茶总黄酮保肝作用实验研究[J]. 广西科学, 2002, 9(1): 57.

[7] 王明宇, 林志彬. 灵芝三萜类成分在体内对小鼠免疫性肝损伤的影响[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(12): 809.