

退黄合剂对药物诱发急性肝损伤 小鼠保肝退黄作用的研究

王永新¹, 霍海如², 李小芹², 周爱香², 沈 鸿²

(1 北京航空医学研究所, 北京 100000; 2 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

摘要: 以退黄合剂 32.16 g/kg 体重灌胃给予小鼠, 对一次注射四氯化碳所致急性中毒性肝炎小鼠血清转氨酶升高有降低作用 ($P < 0.05$), 对注射 α -萘异硫氰酸酯 (ANIT) 所致阻塞性黄疸小鼠血清 ALT、TB 升高亦有较明显的抑制作用 ($P < 0.05$), 高剂量组对正常小鼠迟发性超敏反应有增强作用 ($P < 0.05$)。

关键词: 退黄合剂; 保肝作用; 黄疸

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** D **文章编号:** 1005-9903(2001)04-0038-02

退黄合剂是根据中医药理论及多年临床经验总结而成的复方制剂, 由茵陈、金钱草、焦三渣等 7 味药组成, 具有清热利湿退黄之功能。为验证其保肝退黄等药效, 更好地提供临床用药依据, 本实验应用现代药理学实验方法, 进行了相关药效学研究。

1 药效

1.1 受试药物 退黄合剂复方药味组成及各药味比例、主要提取方法、质控指标由北京华荣制药有限公司提供, 为棕黄色液体, 1ml 液体约含 0.85g 生药, 批号 990916。

1.2 剂量设计 退黄合剂临床人日用量为 85g 生药, 人按 60 公斤计算为 1.42g 生药/kg 体重, 试验用剂量按动物与人公斤体重折算, 中剂量约相当于人临床等效剂量, 再按 1/2 和 2 倍临床剂量各设一个剂量组, 即小鼠灌胃剂量为 32.16 g/kg 生药/kg 体重。

1.3 阳性对照药 肝勃宁胶囊, 四川美大康药业有限公司出品, 批号: 990108, 动物给药剂量按动物与人公斤体重折算, 小鼠临床等效剂量为 0.66g/kg (ig)。

1.4 胆红素、丙氨酸氨基转换酶 (ALT) 测定试剂盒, 均由北京北化精细化学品有限公司临床诊断试剂分厂产品; α -萘异硫氰酸酯 (ANIT), 绵羊红细胞、豚鼠血清 (补体) 按文献方法自制^[1], Hanks 液, 阿氏液, 四氯化碳 (CCl₄) 等, 所用试剂均为市售分析纯。

1.5 动物 小鼠由中国医学科学院动物研究所提供, 动物合格证号为医动字第 01-3001 号。

1.6 游标卡尺 (精密度 0.02mm), 离心机, 恒温水箱, UV-754 连续式分光光度计, (上海第三分析仪器厂产品)。

2 实验方法和结果

2.1 退黄合剂对 CCl₄ 致小鼠急性中毒性肝炎的影响^[2] 小鼠 18~20g, 雌雄各半, 随机分为 6 组, 即正常对照组、模型组、肝勃宁胶囊组、退黄合剂高、中、低三个剂量组, 每组 10 只。各组动物 ig 给药 (正常对照组和模型组 ig 同体积的蒸馏水), 1h 后 ip 0.12% CCl₄ 豆油 (0.1ml/10g) 一次, 24h 后将动物摘眼球采血, 以 3000 转/分离心 10min, 分离血清, 按金氏法测定 ALT 和 AST 值。

表 1 退黄合剂对四氯化碳致急性中毒性肝炎小鼠肝功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量 (g/kg) | ALT (nmol/s)/L | ALT (nmol/s)/L |
|-------|-----------|------------------------------|-------------------------------|
| 正常对照组 | | 337.68 ± 145.92 | 700.40 ± 109.36 |
| 模型组 | | 742.72 ± 151.84 [#] | 1367.52 ± 47.28 [#] |
| 肝勃宁胶囊 | 0.66 | 530.72 ± 220.80 [*] | 1149.0 ± 292.0 [*] |
| 退黄合剂 | 32 | 542.80 ± 150.80 [*] | 1243.28 ± 171.12 [*] |
| | 16 | 606.08 ± 144.80 [*] | 1262.00 ± 145.84 [*] |
| | 8 | 688.16 ± 147.84 | 1312.88 ± 68.00 |

注: 与正常对照组相比[#] $P < 0.01$; 与模型组相比^{*} $P < 0.05$ (下同)

表 1 结果表明, 一次注射四氯化碳, 24h 小鼠血清 ALT、AST 值明显升高, 灌胃给予退黄合剂和肝勃宁胶囊后, 使其明显降低, 与模型组相比, 有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.2 退黄合剂对 ANIT 致胆汁瘀滞小鼠的退黄作用^[2] 取小鼠, 体重 20~ 22g, 雄性, 随机分为 6 组, 即正常对照组、模型组、肝勃宁胶囊组、退黄合剂高、中、低剂量组, 每组 10 只(造模后, 模型组死两只, 高剂量组死一只)。每日上午 ig 给药一次(正常对照组、模型组 ig 同体积的生理盐水), 连续给药 5d 后, 各组动物 ip ANIT 100mg/kg(正常对照组 ip 同体积的蒸馏水) 0.2ml/10g, 之后继续 ig 实验药物, 于 ip ANIT 48h 后, 将小鼠摘眼球取血, 分离血清, 测定血清胆红素和 ALT 含量。

表 2 退黄合剂对 ANIT 致胆汁瘀滞小鼠的退黄作用($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量 (g/kg) | 动物数 (只) | 胆红素 ($\mu\text{mol/L}$) | ALT (nmol/s)/L |
|-------|-----------|---------|--------------------------------|-----------------------------------|
| 正常对照组 | | 10 | 12.31 \pm 4.45 | 337.04 \pm 106.08 |
| 模型组 | | 8 | 73.53 \pm 21.72 [#] | 1068.72 \pm 290.16 [#] |
| 肝勃宁胶囊 | 0.66 | 10 | 58.14 \pm 25.48 [*] | 754.64 \pm 295.20 [*] |
| 退黄合剂 | 32 | 9 | 46.17 \pm 21.89 [*] | 703.20 \pm 225.60 [*] |
| | 16 | 10 | 40.36 \pm 19.66 [*] | 740.56 \pm 376.16 |
| | 8 | 10 | 63.27 \pm 25.99 | 979.76 \pm 344.56 |

结果表明, 注射 ANIT 后, 小鼠血清胆红素和 ALT 含量明显升高, 退黄合剂高、中剂量组能明显降低其含量, 肝勃宁胶囊亦有此作用。

2.3 退黄合剂对细胞免疫功能的影响—迟发型变态反应(DTH) (足跖增厚法)^[1] 取小鼠, 体重 18~ 20g, 雌雄各半, 随机分为 5 组, 即正常对照组、肝勃宁胶囊组、退黄合剂大、中、小剂量组, 每组 10 只。

表 3 退黄合剂对正常小鼠迟发型变态反应的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量(g/kg) | 足跖肿胀值(mm) |
|-------|----------|------------------------------|
| 正常对照组 | | 0.26 \pm 0.07 |
| 肝勃宁胶囊 | 0.66 | 0.32 \pm 0.05 [*] |
| 退黄合剂 | 32 | 0.33 \pm 0.08 [*] |
| | 16 | 0.30 \pm 0.11 |
| | 8 | 0.25 \pm 0.06 |

每日上午 ig 给药一次(正常对照组 ig 同体积的蒸馏水), 连续药给 5d 后, 小鼠 iv 2% (V/V) 绵羊红细胞 (SRBC) 0.2ml/只, 致敏 4d 后, 用游标卡尺测量左右足跖厚度, 然后在测量部位皮下注射 2% SRBC (20 μ l/鼠), 注射后 24h 再次测量左后足跖厚度。以攻击前后足跖厚度差值(足跖肿胀值)来表示 DTH 的程度。

结果显示, 退黄合剂高剂量 32g/kg 与阳性对照药对小鼠迟发型超敏反应有增强作用, 与对照组相比有显著性差异。

3 讨论

CCL₄ 是引起急性肝毒损伤传统的肝毒模型, 许多资料证明, CCL₄ 的作用是其产生的自由基加速脂质过氧化引起的^[3]。ANTI 是一种间接肝毒剂, 它主要是损害肝内胆管上皮细胞, 引起毛细胆管增生及小叶间胆管周围产生炎症, 从而造成胆管阻塞, 形成明显的胆汁郁积, 并伴有以点状坏死为主的肝实质细胞损害, 产生胆汁郁积性黄疸, 出现高胆红素血症和胆汁分泌减少。

退黄合剂是根据中医药理论及多年临床经验总结而成的复方制剂, 现代药理及临床研究也表明, 其主要组成药味(如茵陈、金钱草等)具有较明显的利胆保肝作用。我们的实验结果显示, 退黄合剂对 CCL₄ 所致小鼠血清转氨酶升高有显著的降低作用, 也可降低由 ANIT 引起的小鼠 ALT 和 TB 的增高, 同时可增强高小鼠迟发超敏反应, 表明退黄合剂保肝退黄作用机制可能与多个环节有关, 有待进一步深入研究。

参考文献:

[1] 陈奇主编. 中药药理研究方法学[J]. 北京: 人民出版社, 1991. 708, 747-749.
 [2] 李仪奎主编. 中药药理实验方法学[J]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991. 458-464.
 [3] 王根生, 韩哲武. 甘草类黄酮对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的影响[J]. 药学报, 1993, 28(8): 572-576.