

# 当归补血汤肝损伤小鼠含药血清抑制肝组织 LPO 生成的作用\*

阴赓宏<sup>1</sup>, 李兰芳<sup>1</sup>, 金亚宏<sup>1</sup>, 原桂东<sup>1</sup>, 付好娟<sup>2</sup>, 姜廷良<sup>1</sup>

(1 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700;

2 中国中医研究院中医基础理论研究所, 北京 100700)

**摘要:** 应用 CCl<sub>4</sub> 肝损伤病理模型小鼠制备不同剂量的当归补血汤含药血清, 进行了含药血清药理实验研究。结果表明, 13.2g、26.4g、52.8g 饮片/kg 体重当归补血汤 CCl<sub>4</sub> 肝损伤小鼠含药血清具有明显抑制小鼠肝组织 LPO 生成的作用。

**关键词:** 当归补血汤; 肝损伤; 含药血清; LPO

**中图分类号:** 285.5    **文献标识码:** B    **文章编号:** 1005-9903(2000)05-0032-03

中药含药血清药理研究方法是一种新的中药体外实验方法, 我们曾以健康小鼠制备的当归补血汤含药血清, 系统地进行了当归补血汤抑制小鼠肝组织过氧化脂质(LPO)生成的抑制作用研究<sup>[1,2]</sup>, 本实验进一步观察了以 CCl<sub>4</sub> 肝损伤病理模型小鼠制备的当归补血汤含药血清抑制小鼠肝组织 LPO 生成的作用。

## 1 实验材料

**1.1 药物** 黄芪购自山西浑源县, 当归购自甘肃岷县。经本所谢宗万教授鉴定, 黄芪系膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch) Bge, 当归系 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels。取黄芪 1000g、当归 200g, 加水 7200ml, 浸泡 30min, 煮沸后, 文火慢煎 40min, 趁热过滤药

液, 自然滴尽; 2 煎加水 4800ml, 煮沸后, 文火慢煎 40min, 趁热过滤药液, 自然滴尽。合并滤液, 95℃ 水浴浓缩至 455ml, 浓度为 2.64g 饮片/ml。

**1.2 动物** 昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重 22g~30g。由北京医科大学实验动物中心提供, 合格证号: 医动字 01-3049。

**1.3 试剂** 四氯化碳: 北京市星光化学试剂厂, 批号: 870408。三氯醋酸: 批号: 931118。冰醋酸: 北京化工厂, 批号: 950112。硫代巴比妥酸钠: 上海试剂二厂, 批号: 930411。四乙氧基丙烷: Fluka 公司。以上均为分析纯。谷丙转氨酶(ALT)测定试剂盒(赖氏法): 北京北化精细化学品有限责任公司, 批号: 990322-1。谷草转氨酶(AST)测定试剂盒(赖氏法): 北京北化精细化学品有限责任公司, 批号: 981005。

**1.4 仪器** 高速冷冻离心机: SORVALL SUPER T21。UV-754 型紫外分光光度计:

收稿日期: 2000-03-15

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助重点项目, No: 3963060

上海分析仪器总厂。

## 2 实验方法

**2.1 CCl<sub>4</sub> 肝损伤小鼠模型的复制** 健康小鼠, 随机分为正常对照组、模型对照组、治疗组共 5 组, 除正常对照组外, 其余 5 组动物腹腔注射 0.2% CCl<sub>4</sub> 溶液, 10ml/kg 体重, 中毒后 18h, CCl<sub>4</sub> 肝损伤小鼠模型复制成功<sup>[3]</sup>, 测定血清 ALT、AST。

## 2.2 血清的制备

**2.2.1 含药血清的制备** 治疗组按体重灌胃给予当归补血汤水煎液 0.1ml/10kg 体重, 剂量分别为 13.2、26.4、52.8g 饮片/kg 体重(分别相当于人临床用药剂量的 2、4、8 倍), 于给药后 60min, 分别乙醚吸入麻醉, 于无菌条件下, 行腹主动脉取血约 0.8ml, 置 4℃ 冰箱中保存过夜, 待凝血坚实, 血清析出后, 3000rpm 离心 10min, 取血清, 置 4℃ 冰箱中保存备用。

**2.2.2 正常对照组、模型对照组血清的制备** 正常对照组动物、模型对照组动物根据体重分别灌胃给予自来水 0.1ml/10g 体重, 60min 后, 同上法取血分离血清, 置 4℃ 冰箱中保存备用。

**2.3 当归补血汤含药血清体外抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成的作用** 小鼠断头放血, 迅速取出肝脏, 以 4℃ 生理盐水洗去表面残血, 以生理盐水制成 10% 肝匀浆。各试管中加入肝匀浆 1.5ml, 分别加入 0.1ml 当归补血汤含药血清或正常对照血清或模型对照血清, 参考文献方法<sup>[2]</sup>, 测定每克肝组织丙二醛(MDA)的生成量。计算当归补血汤含药血清对小鼠肝组织过氧化脂质生成的抑制率。

**2.4 当归补血汤整体给药对小鼠肝组织过氧化脂质生成的抑制作用** 血清制备中的每只小鼠于腹主动脉取血后, 迅速取出肝脏, 4℃ 生理盐水洗去表面残血, 以生理盐水制成 10% 肝匀浆。应用 TBA 比色反应法(于 37℃ 恒温水浴箱中恒温震荡反应 1.5h), 计算当归补血汤整体给药对小鼠肝组织过氧化脂质

生成的抑制率。

## 3 实验结果

**3.1 CCl<sub>4</sub> 肝损伤模型对照组小鼠血清 ALT、AST 水平的变化** 由表 1 可以看出, 与正常对照组比较, CCl<sub>4</sub> 肝损伤模型对照组小鼠血清 ALT、AST 水平明显升高, 表明病理模型复制成功。

表 1 CCl<sub>4</sub> 肝损伤模型对照组小鼠血清 ALT、AST 水平的变化

组别	n	ALT(IU)	AST(IU)
正常对照组	10	42.10±6.67	107.46±9.39
模型对照组	12	317.04±21.75***	180.85±24.94***

注: 与空白对照组比较\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ (下同)

**3.2 当归补血汤肝损伤小鼠含药血清抑制小鼠肝组织 LPO 生成作用** 由表 2 可以看出, 不同剂量的当归补血汤肝损伤小鼠含药血清对小鼠肝组织 LPO 生成具有明显的抑制作用, 并呈一定的量效关系。

表 2 当归补血汤肝损伤小鼠含药血清抑制小鼠肝组织 LPO 生成作用

组别	n	MDA(nmol/g)	抑制率(%)
模型对照血清组	12	17.88±4.89	0
正常对照血清组	10	16.87±4.65	6.69
13.2g/kg 血清组	8	16.11±4.23	9.90
26.4g/kg 血清组	8	12.53±3.52***	29.92
52.8g/kg 血清组	8	11.93±1.33***	33.27

**3.3 当归补血汤整体给药抑制肝损伤小鼠肝组织 LPO 生成作用** 由表 3 可以看出, 不同剂量的当归补血汤灌胃对 CCl<sub>4</sub> 肝损伤小鼠的肝组织 LPO 生成具有明显的抑制作用, 并呈一定的量效关系。

表3 当归补血汤整体给药抑制肝损伤小鼠肝组织 LPO 生成作用

组别	n	MDA(nmol/g)	抑制率(%)
模型对照组	12	39.45±16.38	0
正常对照组	10	29.04±9.97*	26.40
13.2g/kg 组	8	28.04±12.88*	28.93
26.4g/kg 组	8	29.41±7.57*	25.50
52.8g/kg 组	8	19.08±3.22***	51.60

#### 4 讨论

既往中药含药药理实验中的受试药物“血清”几乎均由健康动物灌胃一定剂量的受试药物一定时间后制备而成,然而,由于药物大都是在病理状态下应用,因此,观察来自于病理模型状态下的动物含药血清的药效是十分必要的。

研究表明,CCl<sub>4</sub> 致肝细胞损伤的主要机制有 CCl<sub>4</sub> 的活性代谢物作用以及直接的膜溶解作用两方面,其中前者的自由基及其启动脂质过氧化连锁反应是其损伤肝细胞的主要机制之一<sup>[4]</sup>,在脂质过氧化反应过程中,MDA 是脂质过氧化的主要降解产物,可严重损伤细胞膜的结构,导致肝细胞的肿胀、坏死<sup>[5]</sup>。因此,本实验在系统地观察以健康小鼠制备的当归补血汤含药血清抑制小鼠肝组织 LPO 生成作用的基础上,以 CCl<sub>4</sub> 肝损伤病理模型小鼠制备的当归补血汤含药血清,进一步就当归补血汤抑制小鼠肝组织 LPO 生成的作用进行了比较分析。

结果表明,CCl<sub>4</sub> 可造成小鼠血中 ALT、AST 水平的显著升高,与有关实验结果相一

致<sup>[6]</sup>,反应出病理模型复制的成功。此病理模型小鼠制备的不同剂量的当归补血汤含药血清具有明显地抑制小鼠肝组织 LPO 生成的作用,其结果与当归补血汤整体灌胃给药对 CCl<sub>4</sub> 肝损伤病理模型小鼠肝组织 LPO 生成的抑制作用具有一致性。并且,本实验结果与以健康小鼠制备的当归补血汤含药血清,进行的当归补血汤抑制小鼠肝组织 LPO 生成的抑制作用研究结果<sup>[1,2]</sup>亦表现为一致性。因此,本实验表明,在一般情况下,含药血清的制备可首选健康动物,具有简便、快捷的优点。

#### 参考文献:

- [1] 阴赓宏,李兰芳,金亚宏,等. 当归补血汤抗自由基作用的药效动力学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 1999, 5(1): 24.
- [2] 阴赓宏,李兰芳,金亚宏,等. 运用药效动力学研究方法观察中药含药血清药理与整体药效的相关性[J]. 中国中医药信息杂志, 1999, 6(11): 32
- [3] 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. 458.
- [4] 朱其贵,方步武,竺稽能,等. 牛血清白蛋白致免疫性肝纤维化动物模型的研究[J]. 中华病理杂志, 1993, 22(2): 121.
- [5] 胡义扬,刘平,刘成,等. CCl<sub>4</sub> 急性肝损伤 SOD、MDA 的动态变化及扶正化癥方对其影响[J]. 中西医结合肝病杂志, 1997, 7(2): 87.
- [6] 黄兆胜,黎俏梅,王宗伟,等. 虎金丸对 CCl<sub>4</sub> 所致实验性肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 1999, 5(2): 21.