

## · 药理学 ·

## 舒肝安乐宁浸膏对小鼠急性酒精性肝损伤保护作用的研究

夏爱军,张 琪,张云波,梁 园,唐 哲,周宁宁(解放军第 303 医院药剂科,广西南宁 530021)

**[摘要]** 目的 研究舒肝安乐宁浸膏对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用。方法 以白酒灌胃法建立小鼠急性酒精性肝损伤模型,观察血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、甘油三酯(TG)指标的变化,并进行病理组织学检测。结果 各剂量舒肝安乐宁浸膏能显著降低小鼠血清 ALT、AST 活性和肝组织 MDA、TG 含量( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),提高肝组织 SOD 活性,减轻肝脏的病理损伤。结论 舒肝安乐宁浸膏对急性酒精性肝损伤有保护作用。其作用机制可能为减少自由基的产生,抑制脂质过氧化反应,减少脂肪在肝脏的沉积。

**[关键词]** 舒肝安乐宁浸膏;酒精;肝损伤

**[中图分类号]** R965 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2011)05-0366-03

## Protective effect of Shugananlenging extract on acute alcohol hepatic injury in mice

XIA Ai-jun, ZHANG Qi, ZHANG Yun-bo, LIANG Yuan, TANG Zhe, ZHOU Ning-ning (Department of Pharmacy, the 303rd Hospital of PLA, Nanning 530021, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the protective effect of Shugananlenging extract on acute alcoholic hepatic injury in mice. **Methods** The model of hepatic injury was prepared by intragastric infusion of alcohol, the change of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST) in serum and liver superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and triglyceride (TG) were observed. HE staining was used to observe the pathological changes in liver. **Results** The level of ALT, AST, TG and MDA were significantly reduced and the activity of SOD was enhanced by different doses of Shugananlenging Extract. Furthermore, the pathological injury was also significantly abated by high-dose and middle-dose of Shugananlenging Extract. **Conclusion** Shugananlenging extract had a good protective effect on acute alcoholic hepatic injury in mice. The mechanisms probably contributed to the decrease of lipid peroxide and fatty sediment in liver.

**[Key words]** Shugananlenging extract; alcohol; hepatic injury

### 1 前言

舒肝安乐宁由叶下珠、鳖甲、郁金、茵陈、黄芪、绞股蓝、白花蛇舌草、栀子、甘草等中药组成,具疏肝解郁、软坚散结、清肝利湿、利水消肿、解毒等功效,为解放军第 303 医院多年用于临床治疗肝炎的复方制剂,临床疗效确切。前期研究发现,舒肝安乐宁对四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)所致急性肝损伤小鼠具有一定的保护作用<sup>[1]</sup>,但其对酒精性肝损伤的治疗作用尚未见报道。有关小鼠急性酒精性肝损伤,国内已有多个专家做过系统研究,并建立了成熟的动物模型<sup>[2,3]</sup>。本实验旨在通过舒肝安乐宁对酒精诱导小鼠急性肝损伤模型进行研究,揭示其对此类损伤潜在的预防保护作用。

### 2 材料

**2.1 实验药物与试剂** 舒肝安乐宁[自制,3.55 g(生药)/ml,每 ml 含没食子酸不少于 0.32 mg,方中各饮片购于南宁生源中药饮片有限责任公司];56°北京红星二锅头白酒(北京红星酿酒厂,用蒸馏水配制成含酒精 50% 的白酒);丙氨酸氨基转移酶(ALT)试剂盒(批号:20071203)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒(批号:20071203)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号:20071112)、丙二醛(MDA)试剂盒(批号:20071112),均购自南京建成生物制剂公司;甘油三酯(TG)试剂盒(批号:2008040024)购自浙江东瓯生物工程有限公司。

**2.2 仪器** Centrifuge 5415D 高速低温离心机(德国 Eppendorf);LG16-W 型离心机(北京医用离心机厂);80-2 离心机(上海手术器械厂);722-紫外分光光度计(上海第三分析仪器厂);SynergyHT 多功能酶标仪(美国 BIOTEK 公司);FJ-200 型高速分散匀

质机(上海标本模型厂);TG328A型电子分析天平;Olympus光学显微镜。

**2.3 动物** 昆明(KM)小鼠,SPF级,体重(20±2)g,雌雄各半,50只,由广西食品药品检验所动物中心提供(合格证号:SCXK桂2003-0001)。

### 3 方法

**3.1 动物分组与给药** 将小鼠随机分为正常组、模型组、舒肝安乐宁低、中、高剂量组(5、10、20 g/kg,原生药材量分别相当于临床成人给药剂量的0.5、1、2倍),每组10只。正常组和模型组灌胃10 ml/kg的生理氯化钠溶液,其它各组灌胃同等容量的相应药物,每日1次,连续30 d。实验结束时除正常组外其余各组均1次灌胃给予50%酒精(12 ml/kg),正常对照组给予蒸馏水。

**3.2 血清AST、ALT活性的测定** 末次给药后禁食16 h,摘眼球取血,分离血清,AST和ALT活性的测定按试剂盒说明操作。

**3.3 肝脏SOD活性、MDA、TG含量的测定** 取血后脱颈椎处死小鼠,取出肝脏,用生理氯化钠溶液制备成10%肝匀浆,SOD活性、MDA、TG含量的测定按试剂盒说明操作。

**3.4 各组小鼠肝脏病理切片的观察** 取部分肝组织作冰冻切片,用10%甲醛固定,石蜡包埋,切片,HE染色,光镜下观察。

**3.5 统计学方法** 采用SPSS13.0统计软件对实验数据进行单因素方差分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

### 4 结果

**4.1 对急性酒精性肝损伤小鼠血清AST、ALT的影响** 与空白组比较,模型组小鼠血清中ALT、AST含量明显升高( $P < 0.01$ ),说明肝细胞受损,本次实验小鼠急性酒精性肝损伤模型制作成功。与模型组比较,舒肝安乐宁各剂量组能显著降低小鼠血清中AST、ALT活性( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。结果见表1。

**表1 舒肝安乐宁浸膏对酒精所致急性肝损伤小鼠血清ALT、AST的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )**

组别	剂量(g/kg)	ALT(U/L)	AST(U/L)
空白组	-	61.32 ± 6.33 <sup>3)</sup>	94.27 ± 13.85 <sup>3)</sup>
模型组	-	88.42 ± 21.63 <sup>1)</sup>	151.64 ± 19.58 <sup>1)</sup>
低剂量组	5	76.37 ± 10.84 <sup>2)</sup>	133.47 ± 15.59 <sup>2)</sup>
中剂量组	10	71.58 ± 15.31 <sup>2)</sup>	126.31 ± 20.36 <sup>2)</sup>
高剂量组	20	65.10 ± 11.01 <sup>3)</sup>	111.23 ± 14.57 <sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ,与空白组比较;<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ ,与模型组比较。

**4.2 对急性酒精性肝损伤小鼠肝脏SOD活性和MDA、TG含量的影响** 与空白组比较,模型组小鼠

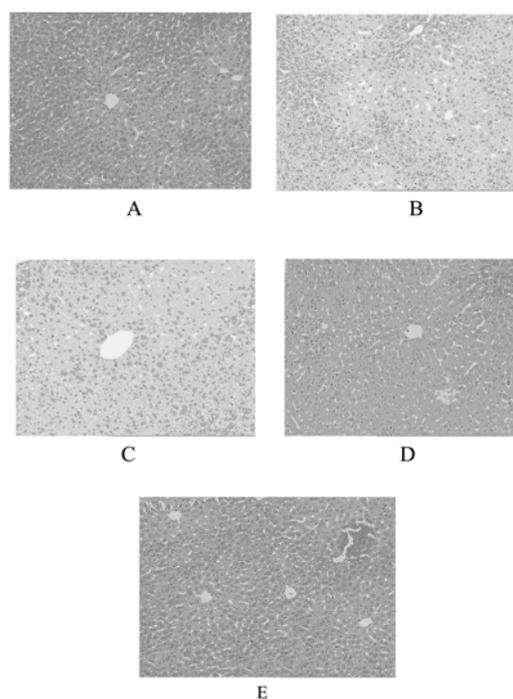
肝脏中MDA、TG含量明显升高,SOD活性下降。与模型组比较,舒肝安乐宁各剂量组能显著降低小鼠肝脏中MDA、TG含量,升高SOD活性( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。结果见表2。

**表2 舒肝安乐宁浸膏对急性肝损伤小鼠肝脏SOD、GSH活性及MDA含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )**

组别	剂量(g/kg)	SOD(U·mg/prot)	MDA(nmol/mg prot)	TG(mmol/L)
空白组	-	71.20 ± 11.21 <sup>3)</sup>	1.07 ± 0.12 <sup>4)</sup>	1.38 ± 0.44 <sup>4)</sup>
模型组	-	42.06 ± 15.71 <sup>1)</sup>	2.16 ± 0.55 <sup>2)</sup>	2.09 ± 0.61 <sup>2)</sup>
低剂量组	5	51.92 ± 10.42 <sup>3)</sup>	1.38 ± 0.28 <sup>4)</sup>	1.77 ± 0.24
中剂量组	10	63.03 ± 18.25 <sup>4)</sup>	1.28 ± 0.11 <sup>4)</sup>	1.61 ± 0.72 <sup>3)</sup>
高剂量组	20	68.26 ± 13.79 <sup>4)</sup>	1.23 ± 0.13 <sup>4)</sup>	1.46 ± 0.43 <sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ,与空白组比较;<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup>  $P < 0.01$ ,与模型组比较。

**4.3 对急性酒精性肝损伤小鼠肝组织病理变化的影响** 光镜下,空白组小鼠肝小叶结构清晰,肝索放射状排列,肝细胞结构清晰,无变性坏死,核居中;肝窦无明显扩张淤血,汇管区未见炎细胞浸润。模型组小鼠部分肝细胞肿胀,脂滴弥漫,核居中,部分肝窦扩张淤血,部分肝组织见点状坏死,肝小叶及汇管区见炎细胞浸润。舒肝安乐宁各剂量组均能减轻肝细胞肿胀程度及脂滴情况,以舒肝安乐宁高剂量组效果较好。结果表明,舒肝安乐宁可减轻酒精性肝损伤小鼠肝细胞的脂肪变性。结果见图1。



**图1 舒肝安乐宁对急性酒精性肝损伤小鼠肝组织病理变化的影响(HE, ×200)**

A-空白组;B-模型组;C-低剂量组;D-中剂量组;E-高剂量组

## 5 讨论

酒精(主要成分是乙醇)进入机体后,约90%在肝脏内氧化,体内少量乙醇可在ADH和ALDH作用下代谢生成CO<sub>2</sub>和H<sub>2</sub>O排出体外。一次性大量或长期慢性摄入酒精,血中乙醇浓度过高,超过肝脏正常生理代谢的解毒能力,产生大量自由基。过量的自由基可引起肝细胞膜发生脂质过氧化反应,使细胞膜和细胞器结构破坏,膜流动性失常,大量肝内酶(AST、ALT)释放入血,并可使清除自由基酶(SOD等)耗竭,肝细胞损伤进一步加重,肝功能异常,脂肪代谢紊乱,肝组织细胞脂肪样和空泡样变性,最终导致肝细胞广泛坏死,细胞肿胀死亡<sup>[4,5]</sup>,从而引起酒精性肝病。到目前为止,酒精性肝病已成为仅次于病毒性肝炎的第二大肝病<sup>[6]</sup>。

SOD是生物体内的主要抗氧化剂,通过清除生物氧化产生的自由基而起保护细胞的作用,其活力的高低间接反映了机体清除氧自由基的能力,是反映抗氧化损伤的主要指标;而自由基对细胞的损伤程度可通过脂质过氧化的降解产物——MDA含量间接推断。近年研究发现,乙醇的代谢物乙醛可以动员皮下脂肪酸向肝内转移,造成肝内TG含量的升高,逐渐形成脂肪肝。TG可以评价脂肪在肝细胞内堆积情况。因而测定MDA、TG、SOD的变化可反映机体脂质过氧化的程度和药物抗氧化能力。

舒肝安乐宁是为解放军第303医院多年用于临床治疗肝炎的复方制剂,由叶下珠、鳖甲、郁金、茵陈等多味中药组成,虚实兼顾,具有活血化瘀,保肝护肝,清除自由基,增强机体免疫力的功效<sup>[7-11]</sup>。本院多年临床实践证实,舒肝安乐宁治疗肝炎效果明显。前期药理研究发现,本方对CCl<sub>4</sub>造成的急性肝损伤小鼠具有一定的保护作用。

本实验中,小鼠经酒精损伤后肝功能指标(ALT、AST)明显升高,同时出现不同程度的病理改变,证明造模成功。舒肝安乐宁可以降低肝损伤小鼠血清中AST、ALT,增强肝脏中SOD活性,降低MDA、TG含量。其护肝作用可能与以下成分有关:①叶下珠平肝清热,利水解毒。主要有效成分没食子酸、叶下珠素能明显降低ALT、AST水平<sup>[12,13]</sup>。②黄芪补中益气,改善微循环,改善肝脏供血和营养;所含微量元素硒能提高GSH-Px活

性,激活解毒酶系<sup>[14]</sup>。③绞股蓝总皂苷能降低脂质过氧化反应,提高其血浆中SOD的活性<sup>[15]</sup>。④白花蛇舌草中的多酚、黄酮、羟基蒽醌、有机酸类能改变氧化态或烯醇式与酮式官能团互变异构的化学特征,具有较强的抗氧化活性<sup>[16]</sup>。⑤郁金、茵陈、栀子、甘草临床常用于治疗各种肝胆疾病。“药有个性之特长,方有合群之妙用”。目前为止,舒肝安乐宁的护肝机理研究还不够深入,还需更细致的研究,以便为临床用药提供可靠的理论依据。

## 【参考文献】

- [1] 夏爱军,韦少宣,蔡文娥,等. 舒肝安乐宁浸膏对肝纤维化大鼠肝脏组织的影响[J]. 解放军药学报, 2009, 25(3): 196.
- [2] 赵敏,黄俊明,谭剑斌,等. 小鼠急性酒精性肝损伤模型的动态研究[J]. 毒理学杂志, 2001, 27(6): 378.
- [3] 赵敏,池莉平,王凤岩,等. 小鼠急性酒精性肝损伤模型的建立及应用[J]. 华南预防医学, 2005, 31(1): 14.
- [4] Walch K, Alexander G. Alcoholic liver disease[J]. Postgrad Med J, 2000, 76(895): 280.
- [5] 杜施霖,迟宝荣. 龙牙葱木皂苷对大鼠酒精性肝病的防治作用[J]. 吉林大学学报, 2005, 31(1): 64.
- [6] 王金萍,曾明. 可舒胶囊对小鼠酒精性肝损伤的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(6): 64.
- [7] 裴凌鹏,金宗谦. 葛根黄酮改善小鼠抗氧化功能的研究[J]. 营养学报, 2005, 26(6): 505.
- [8] 于淑娥. 鳖甲软肝片抗肝纤维化的疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 19(16): 2685.
- [9] 秦华珍,郑作文,邓家刚,等. 广西桂郁金对小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 广西中医学院学报, 2008, 11(1): 1.
- [10] 孙玉凤,冯志杰,孙泽明,等. 黄芪抗肝纤维化的实验研究[J]. 河北中医学报, 2008, 23(1): 9.
- [11] 陈纯馨,陈忻,刘爱文,等. 绞股蓝抗自由基成分的提取和性能测定[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 239.
- [12] Syamasundar KV, Singh B, Thakur RS, et al. Antihepatotoxic principles of *Phyllanthus niruri* herbs[J]. Ethnopharmacol, 1985, 14(1): 41.
- [13] 玉顺子. 叶下珠及其制剂药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国药业, 2010, 19(7): 87.
- [14] 丘辉. 黄芪多糖药理作用的研究进展[J]. 牡丹江医学院学报, 2011, 32(1): 60.
- [15] 黄雪萍. 绞股蓝总苷与辛伐他汀治疗原发性高脂血症的疗效比较[J]. 中国药业, 2006, 15(6): 46.
- [16] 于新,杜志坚,陈悦娇,等. 白花蛇舌草提取物抗氧化作用的研究[J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(3): 10.

【收稿日期】 2011-03-01

【修回日期】 2011-05-25