

注射用西黄总苷对四氯化碳致大鼠慢性肝损伤的保护作用研究

邱彦, 陈敏, 茆玉国, 刘静 (中国人民解放军第454医院药剂科, 江苏南京 210002)

摘要 目的: 观察注射用西黄总苷对四氯化碳所致大鼠慢性肝功能损伤的保护作用。方法: 采用皮下注射 25% CCl_4 花生油溶液 5 mL/kg 每周 2 次, 共 3 周, 造成慢性肝损伤模型。造模前 3 d 预先静脉注射西黄总苷及阳性对照茵栀黄注射液, 每日 1 次, 连续给药 3 周。于末次给药后 1 h 取血, 测血清 AST、ALT、TP 及 ALB, 处死动物取肝脏做病理组织学检查, 观测其对 CCl_4 所致慢性肝功能损伤的保护作用。结果: 西黄总苷小、中、大剂量组与模型组相比, 可显著降低 CCl_4 引起的血清 AST、ALT 升高, 显著抑制 CCl_4 引起的血清总蛋白 (TP) 和白蛋白 (ALB) 降低, 经统计学分析, 均有非常或极显著性差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。结论: 注射用西黄总苷能保肝降酶, 对慢性肝损伤有保护作用。

关键词 甲磺酸地拉韦啶; 分散片; 体外溶出度

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)02-0188-03

Protective effect of total glycosides of Xihuang for injection on chronic hepatic injury induced by carbon tetrachlorid in rats

QIU Yan, CHEN Min, MAO Yunguo, LIU Jing (Department of Pharmacy, No. 454 Hospital of PLA, Nanjing 210002, China)

ABSTRACT Objective To investigate the preventive effect of total glycosides of Xihuang for injection on carbon tetrachlorid induced chronic hepatic injury in rats. **Methods** Chronic carbon tetrachlorid induced hepatic injury model was prepared in rats by hypodermic injection of 25% carbon tetrachlorid in peanut oil twice a week for 3 weeks. The total glycosides of Xihuang was given intravenously at the doses of 3, 6, 12 mg/kg compared with the model of Yinzh Huang injection 3 days before making once a day 3 weeks in total. One hour after the last dose, blood serum was separated to be determined the activities of ALT, AST, TP and ALB. Then the rats were killed to observe the pathologic changes of their liver tissue. **Results** Compared with the model group, total glycosides of Xihuang could decrease the activities of serum AST and ALT and increase serum TP and ALB ($P < 0.01$ or $P < 0.001$). **Conclusion** Total glycosides of Xihuang for injection could protect liver and decrease the effects of enzyme and has a preventive effect on chronic hepatic injury.

KEY WORDS total glycosides of Xihuang; rat chronic hepatic injury

胡黄连是一个在医学领域常用的中药, 其药用部分是它的干燥根茎。它被传统地用于治疗肝病、呼吸系统疾病、消化系统疾病和蝎子螫伤等。胡黄连的研究热点集中在它的肝保护作用, 抗胆汁淤积, 抗氧化剂和免疫调节作用^[1]。该药中的化学成分主要有环烯醚萜类、葫芦素类和酚苷类, 其中西藏胡黄连中环烯醚萜类以胡黄连苷 II (picroside II) 含量最高, 是保护肝损伤的主要成分。注射用西黄总苷是以胡黄连苷 II 为主要成分的粉针制剂, 我们研究了其对四氯化碳致大鼠慢性肝损伤的作用, 为把注射用西黄总苷研制成治疗药物性肝损伤的新药提供实验依据。

1 实验材料

1.1 药物及试剂 注射用西黄总苷 [拓普中兴 (北京) 医药科技发展有限公司, 批号 040326 含胡黄连苷-II 88.6%]; 茵栀黄注射液 (上海和黄药业有限公司, 批号 040324); 四氯化碳 (CCl_4) (上海国药集团化学试剂公司, 批号 20040409); AST 检测试剂盒 (上海复星长征医学科学有限公司, 批号 G030515); ALT 检测试剂盒 (上海复星长征医学科学有限公司, 批号 G030616); TP 检测试剂盒 (上海复星长征医学科学有限公司, 批号 D0406045); ALB 检测试剂盒 (上海复星长征医学科学有限公司, 批号 D040618)。

1.2 动物 Sprague-Dawley 大鼠 72 只, 雌雄各半, 体重 180~230 g 由中国科学院上海分院动物中心提供, 动物合格证号: SCXK (沪) 2002-0010。

1.3 仪器 半自动生化分析仪 (CRONY Photometer 800 意大利); UV 751-GD 紫外可见分光光度计 (上

海分析仪器总厂)。

2 方法

2.1 动物分组与处理 参照相关文献^[2-4], 取 SD 大鼠 72 只, 根据体重随机分为正常对照、模型对照、阳性对照 (茵栀黄注射液, 4 mL/kg)、西黄总苷小 (3 mg/kg)、中 (6 mg/kg) 和大 (12 mg/kg) 剂量组。各给药组尾静脉注射给药, 正常对照及模型对照组给予等体积 NS, 每日 1 次, 连续给药 21 d。静脉给药 3 d 后, 除正常对照组皮下注射花生油溶液外, 其余各组均皮下注射 25% CCl₄ 花生油溶液 5 mL/kg, 每周 2 次, 共 3 周, 造成慢性肝损伤模型。

2.2 生化指标观察 于末次给药后 1 h 取血测血清 AST、ALT、TP 及 ALB。其中, ALT、AST 用半自动生化分析仪通过试剂盒检测; TP、ALB 用 UV751-GD 紫外/可见分光光度计检测。

2.3 肝脏病理组织检查 处死动物取肝脏做病理组织学检查, 参照^[5]病理学和正常对照组肝脏组织切片比较观察, 制定组织病理学指标, 肝坏死程度: “-”表示肝细胞结构正常, 肝小叶结构清晰, 肝细

胞无萎缩、变性、坏死, 肝窦无扩张充血; “+”表示数个肝细胞的溶解坏死灶; “#”表示肝小叶周边的界板呈灶性坏死; “##”表示坏死灶融合成小片状。

2.4 数据及统计学分析 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 10.0 软件 ANOVA 方差分析进行差异显著性检验。

3 结果

3.1 西黄总苷对 CCl₄ 所致大鼠肝损伤血液生化指标的影响 西黄总苷小、中、大剂量组与模型组相比, 可显著降低 CCl₄ 引起的血清 AST、ALT 升高, 显著抑制 CCl₄ 引起的血清总蛋白 (TP) 和白蛋白 (ALB) 降低, 经统计学分析, 均有非常或极显著性差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 说明受试药物有显著抑制血清转氨酶升高及血清总蛋白和白蛋白降低的作用; 阳性对照组与模型组相比, 血清 AST、ALT 均有显著性降低 ($P < 0.01$), 血清总蛋白 (TP) 和白蛋白 (ALB) 也均有显著升高 ($P < 0.01$)。结果见表 1。

表 1 西黄总苷对 CCl₄ 所致大鼠肝损伤血液生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量	ALT (U/L)	AST (U/L)	TP (g/L)	ALB (g/L)
空白对照组	4 mL/kg	21 ± 3	75 ± 13	66 ± 5	32 ± 2
模型组 (CCl ₄)	4 mL/kg	648 ± 137	821 ± 181	46 ± 5	23 ± 2
茵栀黄组	4 mL/kg	135 ± 46 ²⁾	307 ± 78 ²⁾	58 ± 5 ¹⁾	28 ± 2 ¹⁾
小剂量组	3 mg/kg	325 ± 120 ¹⁾	438 ± 134 ¹⁾	54 ± 4 ¹⁾	26 ± 1 ¹⁾
中剂量组	6 mg/kg	186 ± 63 ²⁾	340 ± 46 ²⁾	59 ± 3 ¹⁾	28 ± 1 ¹⁾
高剂量组	12 mg/kg	80 ± 43 ²⁾	246 ± 45 ²⁾	61 ± 4 ²⁾	30 ± 1 ²⁾

¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.001$, 与模型组比较

3.2 对组织形态学的影响 正常对照组肝小叶结构完整, 肝索排列规则, 肝窦及汇管区无异常, 无炎性细胞浸润, 肝细胞形态正常。模型组肝细胞肿胀, 胞浆疏松化, 核深染, 可见点状和灶状坏死, 并伴有中性粒细胞、淋巴细胞浸润; 西黄总苷高、中、低剂量组病变程度明显减轻, 肝组织变性坏死程度轻, 肝细胞轻度肿胀, 大部分肝细胞接近正常, 汇管区仅见少量炎性细胞浸润。各给药组肝组织病变坏死程度见表 2。

4 讨论

肝病是一种发病率高、难以根治的疾病, 对人类健康危害极大, 而且不良的饮食习惯、药物、毒物等均能导致肝脏疾病, 损害肝细胞。四氯化碳是经典的实验性肝损伤动物模型所用外源性化合物, 其致

大鼠肝损伤机制为: 四氯化碳在肝内经微粒体细胞色素 P450 分解活化, 形成三氯甲基自由基和氯自由基, 导致肝脂质过氧化, 抗氧化能力下降, 导致自由基生成增加, 使肝细胞结构和功能受到损害, 血清中 ALT、AST 的含量显著上升^[6,7]。

表 2 西黄总苷对 CCl₄ 所致大鼠慢性肝损伤的保护作用 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量	肝坏死程度			
		-	+	#	##
溶剂对照组	4 mL/kg	10	0	0	0
模型组 (CCl ₄)	4 mL/kg	0	3	5	2
茵栀黄组	4 mL/kg	3	5	2	0
小剂量组	3 mg/kg	2	4	3	1
中剂量组	6 mg/kg	1	6	3	0
高剂量组	12 mg/kg	4	4	2	0

中药胡黄连原出于《唐本草》谓其“大寒”，“主骨蒸劳热，补脾胆，明目”。《新修本草》曰“主骨蒸劳热，补肝胆，明目，……厚肠胃”。它被传统地用于治疗肝病、呼吸系统疾病、消化系统疾病和蝎子螫伤等。有研究报道胡黄连提取物有保肝降酶作用^[8]，胡黄连总苷对小鼠急性化学性肝损伤的保护作用^[9]。

注射用西黄总苷是以采用先进的提取分离纯化技术从西藏胡黄连中提取出的胡黄连苷 II 为主要成分的粉针剂型，具有性状稳定，便于贮存等优点，达到国家新药标准。本研究中，我们采用皮下注射 25% CCl₄ 花生油溶液 5 mL/kg 每周 2 次，共 3 周，造成慢性肝损伤模型，造模前 3 天预先静脉注射西黄总苷及阳性对照茵栀黄注射液，每日 1 次，连续给药 3 周。于末次给药后 1 h 取血测血清 AST、ALT、TP 及 ALB，处死动物取肝脏做病理组织学检查，观测其对 CCl₄ 所致慢性肝功能损伤的预保护作用。我们的结果表明：西黄总苷各剂量组与模型组相比，可显著降低 CCl₄ 引起的血清 AST、ALT 升高，显著抑制 CCl₄ 引起的血清总蛋白 (TP) 和白蛋白 (ALB) 降低，经统计学分析，均有非常或极显著性差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)，说明受试药物有显著抑制血清转氨酶升高及血清总蛋白和白蛋白降低的作用，

对 CCl₄ 所致大鼠慢性肝功能损伤的有预防保肝作用，为进一步把注射用西黄总苷研制成治疗药物性肝损伤新药提供实验依据。

参考文献:

- [1] Monograph Picrothiza kumoa [J]. *Altern Med Rev*, 2001, 6 (3): 319.
- [2] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 中药新药研究指南 (药理学 药理学 毒理学) [J]. 1994: 82.
- [3] 李瑞芬, 范玉明, 王希海. 茵栀黄注射液对大鼠实验性肝损伤的治疗作用 [J]. *中药药理与临床*, 2001, 17(2): 23.
- [4] 卢春风, 陈廷玉, 王淑香, 等. 丹参与三七配伍对大鼠慢性肝损伤的作用 [J]. *黑龙江医药科学*, 2003, 26(5): 32.
- [5] 黄 华, 陈会松, 杨晋辉. 实验性急性肝损伤血清 IL-18、NO 的检测意义及作用机制研究 [J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2003, 12(4): 343.
- [6] Jeffrey DB, Jay DH. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury [J]. *JCI* 2004, 114(2): 147.
- [7] 赵明河, 殷 军. 大鼠肝硬变模型的建立 [J]. *实验动物科学与管理*, 1998, 15(2): 20.
- [8] 温志坚, 唐大轩, 曹 毓, 等. 西藏胡黄连提取物的保肝降酶、降脂的实验研究 [J]. *中药药理与临床*, 2003, 19(6): 19.
- [9] 颜天华, 张朝晖, 禹道春, 等. 胡黄连总苷对小鼠急性化学性肝损伤的保护作用 [J]. *南京医学院学报*, 2002, 24(3): 145.

收稿日期: 2008-03-03

(上接第 177 页)

200 μ L PRP 的比色管中，同上条件观察血小板的最大聚集程度，计算血小板聚集的抑制百分率，并用回归法求出各目标化合物的 IC₅₀ (见表 2)。

表 2 目标化合物的体外抗血小板凝集活性

编号	IC ₅₀ / (μ mol)	编号	IC ₅₀ / (μ mol)
1	2.82	7	20.74
2	4.40	8	5.33
3	4.95	9	7.14
4	2.89	10	6.94
5	3.57	MCF-154	13.95
6	3.04		

3 结果和讨论

初步的体外药理实验结果表明，化合物 1~10 都有不同程度的抑制 ADP 诱导的新西兰大白兔血小板聚集活性，且大部分化合物的活性比对照物 MCF-154 强，其中化合物 1、4 的活性最强，为对照物 MCF-154 的 4.5 倍。化合物 5、6 也有较强的活性。综合药理活性结果分析，4 位引入取代哌嗪可以增

强目标化合物的血小板聚集的抑制作用。当分子中引入苯乙酮基时，可能由于羰基极性较大，影响分子的亲脂性，使得目标化合物的活性减弱。但是由于目标化合物数量有限，进一步的构效关系有待于更深入的研究。

参考文献:

- [1] Thompson P, Manganillo V, Degen E. Rediscovering PDE3 inhibitors: New opportunities for a long neglected target [J]. *Curr Top Med Chem*, 2007, 7(4): 421.
- [2] De Hert S, Lonsomradee S, Cromhecke S. The effects of levosimendan in cardiac surgery patients with poor left ventricular function [J]. *Anesh Analg*, 2007, 104(4): 766.
- [3] 王恩思, 沈家聪. 新型强心药匹莫苯的合成 [J]. *中国药物化学杂志*, 1997, 7(3): 185.
- [4] Thyges M, Lehmann HD, Gries J *et al*. 6-Aryl-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinones: A new class of compounds with platelet aggregation inhibiting and hypotensive activities [J]. *J Med Chem*, 1983, 26(6): 800.
- [5] Bom GVR. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal [J]. *Nature*, 1962, 194(4832): 927.

收稿日期: 2007-09-24