

椭圆叶花锚对小鼠急性肝损伤的保护作用

段向兰,王 洋,尚 军*

(青海师范大学 生命科学院,青海 西宁 810008)

摘要:目的:探讨椭圆叶花锚醇提取物和水提取物对 CCl_4 诱导的小鼠肝损伤的保护作用。方法:将小鼠随机分为空白对照组, CCl_4 肝损伤模型组, 联苯双酯组, 椭圆叶花锚醇提取物和水提取物高、中、低(0.5、2.5、12.5 g/kg)剂量组。1 周后测定小鼠血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)水平和丙二醛(MDA)的活性。结果:各药物组均可使肝损伤小鼠体内的 ALT、AST 和 MDA 含量降低。除水提取物低剂量组效果不明显外,其他药物组均效果显著。乙醇提取物比水提取物的保肝作用更明显,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论:椭圆叶花锚对 CCl_4 所致急性肝损伤小鼠具有明显的保肝降酶作用,在一定范围内呈现量效关系,且乙醇提取物的效果略优于水提取物。

关键词:椭圆叶花锚;急性肝损伤;四氯化碳(CCl_4)

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1673-2197(2019)02-0021-02

DOI:10.11954/ytctyy.201902005

Protective Effect of *Halenia elliptica* on Acute Liver Injury in Mice

Duan Xianglan, Wang Yang, Shang Jun*

(Academy of Life Science, Qinghai Normal University, Xining 810008, China)

Abstract: **Objective:** To explore the Protective effect of *elliPtica* olive alcohol extract and water extract on CCl_4 -induced liver injury in mice. **Methods:** Mice were randomly divide into: normal control group, CCl_4 liver injury model group, Bifendatatum group, *Halenia elliPtica* ethanol and water extract at dose of 0.5, 2.5 and 12.5 g/kg, after a week later, determinae alanine aminotransferase (ALT) asPartate aminotransferase (AST) levels, and malondialdehyde (MDA) activity. **Results:** Each drug group can reduce the content of ALT, AST and MDA in liver injury mice, except the low-dose group of water extracts, all other drugs have significant effects. ethanol extracts have a hePatoProtective effect over water extracts and are statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** *Halenia elliPtica* has a significant hePatoProtective and reduced enzyme effect on CCl_4 -induced liver injury mice, show a dose-effect relationshiP within a certain range, And ethanol extracts are slightly better than water extracts effects.

Keywords: *Halenia elliPtica*; Acute Liver Injury; Carbon Tetrachloride (CCl_4)

椭圆叶花锚(*Halenia elliptica* D. Don)藏名甲地然果,属龙胆科花锚,根据记载,该药以全草入药,味苦、性寒,具有清热利湿、平肝利胆的功效,可用于急性黄疸性肝炎、胆囊炎、头晕头痛、牙痛的治疗^[1],也可用于治疗外伤感染、脉热^[2]等疾病,是传统藏医临床上治疗肝胆疾病的常用药物之一。花锚的主要化学成分为咕吨酮及其苷、裂环烯醚萜类、三萜类及黄酮苷等化合物^[3-4],还含有齐墩果酸。已有大量研究证实齐墩果酸具有清热、消炎、抑菌、保肝、护肝、增加白细胞、降低转氨酶等作用^[5],是椭圆叶花锚的主要药效物质之一。

肝脏是人体内最大、功能最多的实质性腺体器官,被喻为“人体最大的化工厂”。主要参与体内消化、代谢、排泄、解毒和免疫的过程,是具有重要而复杂代谢功能的器官^[6]。肝损伤主要包含病理性、化学性及外伤性损伤。病理性的肝损伤主要是由各种病毒病菌引发,可表现为肝纤维化、肝硬化、肝细胞坏死等其他症状。化学性肝损伤主要是指使用化学物质过多或机体过敏等原因所导致的体内环境的紊乱。外伤性肝损伤是临床上常见的急重症之一,患者的肝实质往往受到较严重的损伤,且同时伴有不同程度的肝内外血管受损,往往会导致患者出现腹腔内积血,引发失血性

收稿日期:2018-06-26

基金项目:青海省科技厅项目(2016-ZJ-717)

作者简介:段向兰(1992—),女,青海师范大学硕士研究生,研究方向为动物生理。

通讯作者:尚军(1975—),男,青海师范大学讲师,研究方向为天然产物研究与开发。E-mail:644962672@qq.com

休克,对其生命安全造成严重威胁^[7]。目前在临床上最常见的肝损伤案例以病毒性、化学性为主,外伤性肝损伤较为少见。近年来肝病发病率逐年上升^[8],已严重危害人类的身体健康。近现代药理研究表明,花锚及复方花锚具有调节体液免疫的作用,且全草的氯仿提取部分具有抗阿米巴作用,对治疗肝损伤有一定的疗效^[9]。

1 实验材料

1.1 实验动物

KM小鼠50只,体重(20±2)g,雌雄各半,购于兰州大学,许可证:scxk(甘)2013-0002。

1.2 试剂

四氯化碳(CCl₄)溶液;玉米油(秦皇岛金海食品工业有限公司);联苯双酯滴丸(浙江万邦药业股份有限公司);丙氨酸氨基转移酶(ALT)测定试剂盒、天门冬氨酸转移酶(AST)测定试剂盒、丙二醛(MDA)测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 实验仪器与设备

奥豪斯 AdventurerTM 电子天平;粉碎机;万用电炉;自动搅拌器;R-210 旋转蒸发仪;华普达数显恒温水浴锅;电热鼓风干燥箱;XTP-500 型高速多功能摇摆粉碎机;Bio-Rad XMARK 酶标仪;TD3 低速离心机;海尔冰箱;微量加样器;微量振荡器。

2 实验方法

2.1 椭圆叶花锚醇/水提取物制备

取椭圆叶花锚1.5 kg,全草粉碎过100目筛,将粉碎物与75%乙醇/蒸馏水1:6混合,浸泡3 h后煎煮3次,每次微沸1 h,取上清液合并浓缩,水浴锅90℃条件下浓缩至固体,干燥后研磨成粉并配制成所需浓度的溶液,置于4℃冰箱待用。

2.2 四氯化碳(CCl₄)致小鼠急性肝损伤模型制备

在参考文献^[10-11]的基础上,观察KM小鼠处于正常状态,适应性饲养7天后。随机分成8组,雌雄各半,每组80只。分别为空白对照组,联苯双酯阳性对照组(0.2 g/kg),椭圆叶花锚乙醇提取物和水提取物低(0.5 g/kg)、中(2.5 g/kg)、高剂量组(12.5 g/kg)。连续给药7天,末次给药1 h后,空白对照组小鼠腹腔注射等体积的橄榄油(0.2 mL/10g),其他组均注射CCl₄(0.1%,0.2 mL/10g),18 h后对小鼠摘眼球取血,3 000 r·min⁻¹离心10 min取上血清,采用试剂盒测定相关指标,进行比较分析。

3 结果

3.1 椭圆叶花锚对肝损伤小鼠体内血清中ALT、AST含量的影响

末次给药12 h后摘眼球取血,离心后测定血清中ALT、AST含量。结果如表1所示。与正常对照组相比,模型组小鼠血清中ALT、AST含量显著升高($P<0.01$),造模成功。与模型组比较,椭圆叶花锚醇提物和水提物的3个剂量均对小鼠体内ALT、AST水平有影响。其中低、中、高剂量醇提物使小鼠血清中ALT含量分别减少了27.09%、29.11%和31.16%。低、中、高剂量水提物小鼠血清中ALT含量分别减少了23.76%、27.42%和30.29%。高、中剂量椭圆叶花锚醇提物和水提物对小鼠ALT、AST含量影响显著,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

此外,椭圆叶花锚提取物对小鼠血清中AST含量也有一定影响,且醇提物影响最为明显。低、中、高剂量醇提物使小鼠血清中AST含量分别减少了24.81%、35.66%和39.69%。低、中、高剂量水提物使小鼠血清中AST含量分别减少24.93%、35.37%和37.66%。除椭圆叶花锚水提物低剂量组效果不显著外,其他药物组对小鼠体内AST的影响均具有统计学意义($P<0.05$)。

表1 椭圆叶花锚对CCl₄致肝损伤小鼠ALT、

AST活性的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量(g/kg)	ALT(U/L)	AST(U/L)
空白组	—	38.96±1.79	47.72±11.21
模型组	—	138.49±18.16**	160.39±15.51**
联苯双酯阳性组	0.2	104.51±3.59**	110.93±9.38**
椭圆叶 低剂量组	0.5	100.97±3.56*	120.59±10.96*
花锚醇 中剂量组	2.5	98.18±5.91**	103.20±6.82*
提物组 高剂量组	12.5	95.33±8.87**	96.73±7.58**
椭圆叶 低剂量组	0.5	105.58±14.03	120.41±12.22
花锚水 中剂量组	2.5	100.52±4.51*	103.65±4.51*
提物组 高剂量组	12.5	96.53±9.48**	99.99±6.25**

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

3.2 椭圆叶花锚对肝损伤小鼠体内血清中MDA的影响

如表2所示,模型组小鼠血清中MDA含量较空白组明显升高,各药物组均能降低小鼠体内MDA含量。其中,低、中、高剂量椭圆叶花锚醇提物使小鼠MDA含量分别减少了21.49%、33.09%和34.64%,与模型组比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。除水提物低剂量组外,中、高剂量椭圆叶花锚水提物组小鼠MDA含量分别减少了23.48%和37.24%,与模型组比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。其中高剂量椭圆叶花锚醇提物和水提物对小鼠血清中MDA的影响最为显著($P<0.01$)。

表2 椭圆叶花锚对CCl₄致肝损伤小鼠血清MDA

含量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量(g/kg)	MDA(nmol/mgProt)
空白组	—	7.14±1.5
模型组	—	18.10±1.22**
联苯双酯阳性组	0.2	14.21±2.64**
椭圆叶 低剂量组	0.5	11.89±2.05*
花锚醇 中剂量组	2.5	11.71±1.42*
提物组 高剂量组	12.5	11.23±1.41**
椭圆叶 低剂量组	0.5	13.12±2.69
花锚水 中剂量组	2.5	11.99±1.82*
提物组 高剂量组	12.5	11.36±1.28**

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

4 讨论

四氯化碳诱导的肝损伤模型包括急性肝损伤和慢性肝损伤两种,该方法也可用于多种实验动物肝损伤模型的建立。CCl₄致肝损伤经典模型通常用于评价药物对肝损伤是否有保护作用^[12]。ALT和AST主要分布于肝脏,是诊断肝脏疾病最常用的酶,当肝脏受到一定损伤时,细胞膜的通透性增加,使ALT、AST外泄至血清。MDA是自由基引起的脂质过氧化过程中生成的一种醛类物质,MDA水平升高,SOD活性降低,可引发氧化应激反应,导致细胞损伤甚至细胞凋亡,因此可根据小鼠血清中ALT、AST和MDA含量的变化,以判断椭圆叶花锚是否具有保肝降酶作用^[13]。