

- mental changes in the expression of sox2 in the zebrafish brain[J]. *Microsc Res Tech*, 2010, 74(4): 347-354.
- [3] Ellis P, Fagan BM, Magness ST, et al. SOX2, a persistent marker for multipotential neural stem cells derived from embryonic stem cells, the embryo or the adult [J]. *Dev Neurosci*, 2004, 26(2-4): 148-165.
- [4] Foret A, Quertainmont R, Botman O, et al. Stem cells in the adult rat spinal cord: plasticity after injury and treadmill training exercise[J]. *J Neurochem*, 2010, 112(3): 762-772.
- [5] Hendrickson ML, Rao AJ, Demerdash ON, et al. Expression of nestin by neural cells in the adult rat and human brain[J]. *PloS One*, 2011, 6(4): e18535.
- [6] 杨均. 室周器官在神经免疫中的作用研究进展[J]. *西南军医*, 2012, 14(2): 340-344.
- [7] 马常升, 曹翠丽. 脑室周围器官解剖学[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 42.
- [8] Ramchandra R, Hood SG, Watson AM, et al. Central angiotensin type 1 receptor blockade decreases cardiac but not renal sympathetic nerve activity in heart failure[J]. *Hypertension*, 2012, 59(3): 634-641.
- [9] Mortazavi MM, Tubbs RS, Harmon D, et al. Chronic emesis due to compression of the area postrema by the posterior inferior cerebellar artery: resolution following microvascular decompression [J]. *J Neurosurg Pediatr*, 2010, 6(6): 583-585.
- [10] Fauquier T, Rizzoti K, Dattani M, et al. SOX2-expressing progenitor cells generate all of the major cell types in the adult mouse pituitary gland[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(8): 2907-2912.
- [11] Kelberman D, Rizzoti K, Avilion A, et al. Mutations within Sox2/SOX2 are associated with abnormalities in the hypothalamopituitary gonadal axis in mice and humans[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(9): 2442-2455.
- [12] Ferri AL, Cavallaro M, Braida D, et al. Sox2 deficiency causes neurodegeneration and impaired neurogenesis in the adult mouse brain[J]. *Development*, 2004, 131(15): 3805-3819.
- [13] Bennett L, Yang M, Enikolopov G, et al. Circumventricular organs: a novel site of neural stem cells in the adult brain[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2009, 41(3): 337-347.
- [14] 郝庆卯, 李力, 李岳, 等. SOX2 在成年小鼠室周器官细胞的表达及其意义[J]. *解剖学杂志*, 2012, 35(6): 758-760.
- [15] Mackay-Sim A. Stem cells and their niche in the adult olfactory mucosa[J]. *Arch Ital Biol*, 2010, 148(2): 47-58.
- [16] Bennett L B, Cai J, Enikolopov G, et al. Heterotopically transplanted CVO neural stem cells generate neurons and migrate with SVZ cells in the adult mouse brain [J]. *Neurosci Lett*, 2010, 475(1): 1-6.
- [17] 解继胜, 陈维平, 邝晓聪, 等. 小鼠神经干细胞的分离培养[J]. *右江民族医学院学报*, 2003, 25(6): 759-761.
- [18] Marz M, Chapouton P, Diotel N, et al. Heterogeneity in progenitor cell subtypes in the ventricular zone of the zebrafish adult telencephalon[J]. *Glia*, 2010, 58(7): 870-888.
- [19] 蔡浩斌, 黄忠仕, 黄岑汉. 壮精合剂对初老大鼠学习记忆能力和海马区神经营养因子的影响[J]. *右江民族医学院学报*, 2013, 35(6): 766-768.

收稿日期: 2014-04-15; 修回日期: 2014-04-28

## 古钩藤提取液对小鼠急性肝损伤的保护作用<sup>①</sup>

董妹灵, 潘乔丹, 阮艳娥, 黄元河<sup>②</sup>, 方晓燕, 陆丹丹

(右江民族医学院, 广西 百色 533000 E-mail: 13006968055@163.com)

**摘要:** **目的** 研究古钩藤提取液对四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)所致小鼠急性肝损伤的保护作用。**方法** 将昆明种小白鼠分成 6 组: 四氯化碳损伤模型组、联苯双酯组(0.10 g·kg<sup>-1</sup>)、正常对照组及古钩藤提取液的高、中、低剂量组(30, 22.5, 15 g·kg<sup>-1</sup>)。古钩藤提取液高、中、低剂量组每日灌胃给药 1 次, 共 7 d, 末次灌胃给药后除正常组外, 其余所有小鼠予腹腔注射 0.15% CCl<sub>4</sub> 20 ml·kg<sup>-1</sup> 1 次, 20 h 后处死全部小鼠, 收集肝组织及血清标本, 测定小鼠血清丙氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)活性; 测定肝匀浆中丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性; 计算肝指数并同时对照肝组织进行病理学检查。**结果** 古钩藤提取液高、中剂量组能降低 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤小鼠的血清 ALT、AST 值升高( $P < 0.01$ ), 降低肝匀浆中 MDA 的含量( $P < 0.01$ ), 增强 SOD 的活性( $P < 0.01$ ), 具有明显的剂量依赖性。通过病理学切片观察, 古钩藤提取液高、中剂量组能显著改善肝组织的病理变化( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。**结论** 古钩藤提取液对 CCl<sub>4</sub> 造成的小鼠急性肝损伤具有显著的保护作用。

**关键词:** 古钩藤; 植物提取液; 四氯化碳; 药物性肝损伤; 细胞保护

**中图分类号:** R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2014)03-0358-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2014.03.016

古钩藤(*Cryptolepis buchananii* Roem. et Schult), 又名海上霸王、白叶藤、牛角藤、大暗消等等, 为萝藦科植物。具有舒

① 基金项目: 自治区级大学生创新训练计划项目(QJXC201326); 中医药公共卫生专项(财社[2011]76 号)及中医药行业科研专项(201207002)

② 通讯作者, E-mail: gxhyuanhe@163.com

筋活络、消肿止痛、解毒等功效,用于治疗腰痛、腹痛、跌打损伤、骨折、痈疮、癣等疾病<sup>[1]</sup>。在泰国,常用古钩藤的茎来治疗炎症,包括关节炎、肌肉疼痛和关节疼痛<sup>[2]</sup>。实验证明:古钩藤醇提液具明显的镇痛作用,其水提液对小鼠实验性高血糖有一定的降血糖作用<sup>[3-4]</sup>;国外研制含古钩藤根提取物的肝保护剂对肝毒素(扑热息痛、D-半乳糖胺和四氯化碳)引起的动物和人肝损伤具肝保护作用,无副作用<sup>[5]</sup>,但古钩藤枝叶对肝损伤修复的研究并无报道。因此,本研究小组采用微波-超声协同法提取古钩藤,通过小鼠试验研究古钩藤提取液对小鼠肝损伤的修复试验,旨在对其进一步开发和临床应用提供一定的理论依据。

1 材料与方 法

1.1 古钩藤提取液和试剂 古钩藤采自广西百色,经本院生物学教研室黄元河老师鉴定为古钩藤,实验用其枝叶,干燥粉碎后备用。样品的制备:称取古钩藤粉末 2.0 kg,加 70%乙醇采用微波-超声协同提取 2 次,每次 5 min,浓缩提取液,得浸膏,加水悬浮经石油醚脱脂后浓缩干燥,得古钩藤提取物 50.58 g。天冬氨酸转氨酶(AST)试剂盒、丙氨酸转氨酶(ALT)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒和考马斯亮蓝试剂均购自于南京建成生物工程研究所;四氯化碳(分析纯)购自于上海凌峰化学试剂有限公司,批号 120215,使用时用花生油配制成 0.1%的溶液;联苯双酯滴丸:广州星群(药业)股份有限公司,批号 IF40067。

1.2 仪器 TU-1800 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司),XH-300A 微波超声波组合合成萃取仪(北京祥鹤科技发展有限公司),FA1104 型电子天平(上海良平仪器仪表有限公司),RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣仪器厂),LD4-8 低速离心机(北京医用离心机厂),PRO200 手持、台式两用均质器(美国 PRO 公司),BA310 Digital 数码显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司)。

1.3 动物分组和造模 昆明种小鼠,雌雄不拘,无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级,体重 20~30 g,由本校实验动物中心提供,动物生产许可证号:SCXK(桂)2012-0003。将 60

只小鼠随机分成 6 组,每组 10 只,分别为正常对照组,四氯化碳损伤模型组,联苯双酯组(0.10 g·kg<sup>-1</sup>)、古钩藤提取液的高、中、低剂量组(30、22.5、15 g·kg<sup>-1</sup>)。正常对照组及四氯化碳损伤模型组给予同剂量的生理盐水,给药组连续灌胃 7 d。于末次给药后 1 h,正常对照组腹腔注射 0.9%生理盐水 20 ml·kg<sup>-1</sup>,其余各组均腹腔注射 0.15% CCl<sub>4</sub> 溶液 20 ml·kg<sup>-1</sup>。注射 20 h 后处死小白鼠,进行生化指标分析,进行形态学和病理学检测。

1.4 生化指标检测 实验摘取眼球取血,分离血清,检测血清中 ALT 和 AST 的活性,检测肝匀浆中 MDA 含量和 SOD 活力,并按以下公式计算肝脏指数。

$$\text{肝脏指数} = \frac{\text{肝质量(g)}}{\text{体重(g)}} \times 100\%$$

1.5 病理学检查 取一小块肝组织,使用 10%甲醛溶液固定,石蜡包埋切片,HE 染色,显微镜镜检。将肝组织损伤程度分为 4 级<sup>[6]</sup>:0 级(-),肝组织结构正常,无明显变性、坏死及炎症细胞浸润;I 级(+),肝小叶结构尚正常,可见明显的混浊肿胀、气球样变或脂肪变性,散在点状坏死;II 级(++),肝小叶结构不清,可见明显的灶状坏死,伴有炎症细胞浸润;III 级(+++),肝小叶结构不清、可见明显的片状坏死,伴有炎症细胞浸润。

1.6 统计学方法 各组实验数据均以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用统计软件 SPSS 13.0 进行组间 *t* 检验。对于肝脏组织病理学变化经 Ridit 分析统计处理, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对急性肝损伤小鼠血清生化指标的影响 古钩藤提取液高、中剂量组与联苯双酯组、模型组相比,血清 ALT、AST 差异具有统计学意义(*P* < 0.01)。古钩藤提取液呈剂量依赖性显著降低小鼠血清 ALT、AST 水平,其效果与联苯双酯相当;与模型组比较,古钩藤提取液高、中剂量组及联苯双酯组的肝匀浆 MDA 及 SOD 活性差异有统计学意义(*P* < 0.01);与模型组相比较,古钩藤提取液高、中剂量组肝脏指数均有显著性降低(*P* < 0.01),且降低作用随着其浓度的增大而增加,见表 1。

表 1 古钩藤提取液对 CCl<sub>4</sub> 肝损伤小鼠血清生化指标的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g·kg <sup>-1</sup> )	n	血清		肝匀浆		肝脏指数 (%)
			ALT (u·L <sup>-1</sup> )	AST (u·L <sup>-1</sup> )	MDA (nmol·mg <sup>-1</sup> )	SOD (u·mg <sup>-1</sup> )	
正常对照组	—	10	81.48±6.34 <sup>b</sup>	162.03±24.20 <sup>b</sup>	11.61±2.79 <sup>b</sup>	40.18±5.68 <sup>b</sup>	4.97±0.26 <sup>b</sup>
模型组	—	10	255.21±13.30	285.73±16.98	33.31±6.26	18.24±3.97	6.21±0.44
联苯双酯组	0.10	10	110.96±10.21 <sup>b</sup>	176.20±17.03 <sup>b</sup>	17.75±2.11 <sup>b</sup>	33.39±3.36 <sup>b</sup>	4.89±0.47 <sup>b</sup>
古钩藤	30	10	88.18±10.63 <sup>b</sup>	168.06±10.85 <sup>b</sup>	21.35±4.28 <sup>b</sup>	32.19±4.44 <sup>b</sup>	5.02±0.51 <sup>b</sup>
	22.5	10	115.35±12.82 <sup>b</sup>	195.81±21.96 <sup>b</sup>	24.4±3.79 <sup>a</sup>	30.02±3.49 <sup>b</sup>	5.13±0.45 <sup>b</sup>
	15	10	174.36±22.14 <sup>b</sup>	253.99±37.88 <sup>b</sup>	27.30±3.91	20.78±4.21	5.30±0.62

注:与模型对照组比较,a:*P* < 0.05,b:*P* < 0.01

2.2 对肝组织病理学的影响 与 CCl<sub>4</sub> 模型组比较,古钩藤各剂量组能显著恢复 CCl<sub>4</sub> 所致的肝细胞坏死、变性炎症细胞浸润等症,且呈一定的剂量关系。其中古钩藤高剂量组肝小叶组织基本完整,核破裂的肝细胞较少,和正常对照组相当;中剂量组肝小叶组织大部分完整,肝细胞坏死数量要多于高剂量组;低剂量组肝细胞坏死较多,呈现出各种大小的灶状坏死,其结果差异均有统计学意义(*P* < 0.01)。见表 2。

3 讨论

CCl<sub>4</sub> 对肝脏具有较强的损伤作用,可导致肝细胞的变性、坏死、脂肪变性、纤维化和癌变<sup>[7]</sup>。CCl<sub>4</sub> 肝损伤模型是目前研究保肝药物作用及机制最常用的病理模型<sup>[8]</sup>。其作用机制是,CCl<sub>4</sub> 进入体内经过肝微粒体细胞色素 P450 氧化酶氧化后,生成三氯甲基自由基和氯自由基,使肝微粒体的脂质过氧化,导

表 2 古钩藤对 CCl<sub>4</sub> 肝损伤小鼠肝组织病理学损伤的影响

组别	剂量 (g·kg <sup>-1</sup> )	n	肝组织损伤程度(例数)			
			-	+	++	+++
正常对照组	—	10	10	0	0	0 <sup>a</sup>
模型组	—	10	0	0	3	7
联苯双酯组	0.10	10	3	7	0	0 <sup>a</sup>
古钩藤	30	10	2	8	0	0 <sup>a</sup>
	22.5	10	0	7	2	1 <sup>a</sup>
	15	10	0	2	4	4 <sup>a</sup>

注:与模型对照组比较 a:*P* < 0.01

致自由基增加,引起 SOD 活性降低和 MDA 升高,严重破坏细

胞膜结构,导致细胞肿胀、坏死,使肝细胞内 ALT 和 AST 逸出进入血液,含量升高。本研究结果表明,古钩藤提取液高、中剂量组均可降低  $\text{CCl}_4$  急性肝损伤小鼠血清的 ALT 和 AST 活性 ( $P < 0.01$ ),减小肝脏指数 ( $P < 0.01$ );降低肝脏 MDA 水平 ( $P < 0.01$ )和升高肝脏 SOD 活性 ( $P < 0.01$ );病理切片显示肝组织炎症病变程度明显减轻,且呈一定的剂量依赖性;这些结果揭示了古钩藤提取液的保肝作用,是通过抗自由基,抑制脂质过氧化,从而发挥作用。

综上所述,古钩藤提取液对  $\text{CCl}_4$  所致的小鼠急性肝损伤具有较好的保护作用。这一研究为古钩藤的研发提供了理论依据,但其有效成分尚需进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编:下册[M]. 北京:人民卫生出版社,1976:170.
- [2] Laupattarakasem P, Wangsrimongkol T, Surarit R, et al. In vitro and in vivo anti-inflammatory potential of *Cryptolepis buchanani*[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2006, 108(3): 349-354.
- [3] 张兴桑,文丽艳,秦红玲,等. 古钩藤醇提液镇痛抗炎药理

作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(19): 2735-2736.

- [4] 张兴桑,黄昕,潘能玉. 古钩藤水提液对正常小鼠血糖影响的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(10): 2699-2700.
- [5] Qazi GN, Jaggi BS, Chandan BK, et al. Composition useful as hepatoprotectants comprising extract of plant *Cryptolepis buchanani* and a method thereof; U. S. Patent 6,686,375[P]. 2004-2-3.
- [6] 闫冰,李黎,陈星. 二至丸的保肝活性部位群对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1): 216-219.
- [7] 刘春荣,许小林,韦健全,等. 复方鬼辣椒根口服液对小鼠急性肝损伤的保护作用研究[J]. 右江民族医学院学报, 2006, 28(3): 392-393.
- [8] 许金鹏,张慧慧,李朝品,等. 原卟啉钠对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用及其机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 168-172.

收稿日期:2013-12-09;修回日期:2014-03-18

## 重楼醇提液对小鼠胃排空、小肠推进的影响

黄艳霞<sup>1</sup>,覃海丽<sup>1</sup>,黄彦峰<sup>2</sup>①,黄俊杰<sup>2</sup>,黄丽娟<sup>2</sup>,罗莹<sup>2</sup>,王映<sup>2</sup>

(1. 右江民族医学院 2011 级护理专科,广西 百色 533000;

2. 右江民族医学院应用生理学研究室,广西 百色 533000)

**摘要:**目的 观察重楼醇提液对小鼠胃排空和小肠推进的影响。方法 采用碳末推进试验法,以正常、新斯的明、阿托品、肾上腺素负荷为实验模型,观察重楼醇提液(2.5、5.0 g/kg)对小鼠胃排空和小肠推进的影响。结果 重楼醇提高、低两个剂量组对正常小鼠胃排空有显著抑制作用 ( $P < 0.01$ ),对阿托品所致小鼠胃排空抑制模型有协同作用 ( $P < 0.05$ ),均表现为胃内残留率增大;重楼醇提液低剂量组对正常小鼠小肠推进有促进作用 ( $P < 0.05$ ),对阿托品、肾上腺素所致小鼠小肠推进抑制模型有显著拮抗作用 ( $P < 0.01$ ),均表现为小肠推进率增大;而重楼醇提液高剂量组对正常小鼠小肠推进有显著抑制作用 ( $P < 0.01$ ),表现为小肠推进率减小。重楼醇提液高剂量组对肾上腺素所致小鼠胃肠推进抑制模型有协同作用 ( $P < 0.05$ ),对新斯的明所致小鼠胃肠推进亢进模型有显著拮抗作用 ( $P < 0.01$ ),均表现为胃内残留率增大,小肠推进率减小。结论 重楼醇提液对小鼠胃排空和小肠推进有双向调节作用,也可能是因为重楼醇提液中所含的物质影响一些胃肠激素,如胰多肽、胃动素、胃泌素、生长抑素、降钙素等的分泌,从而影响胃排空。

**关键词:**重楼;醇提液;小鼠;胃排空;小肠推进

**中图分类号:** R285.5

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-5817(2014)03-0360-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2014.03.017

随着中药对胃肠运动影响的深入,不少方剂被广泛而有效地用于治疗胃肠动力障碍的各种症状<sup>[1]</sup>,且中药材药源丰富,副作用小,故运用中药治疗胃肠运动障碍疾病已逐渐得到人们重视。

重楼为百合科植物云南重楼 (*Paris polyphylla* var. *yunnanensis*) 的干燥根茎,又名七叶一枝花 (*Paris polyphylla* var. *chinensis*) 以蚤休之名始载于《神农本草经》<sup>[2]</sup>。其主要有效成分为甾体皂苷,并含有氨基酸、甾酮、蜕皮激素、黄酮苷等化合物<sup>[3]</sup>。近年来药理研究表明,该属植物具有多种药理作用,如止血、抗肿瘤、抗菌、抗炎等多方面药理作用<sup>[4]</sup>。但对胃肠运动的影响,未见报道,为此我们进行了实验。

### 1 材料与与方法

1.1 动物 昆明种小鼠 150 只,体重 22~28 g,雌雄各半,由本

院实验动物中心提供,合格证号:Scxk 桂 2003-0003。

1.2 仪器 ARII40/C 电子天平(奥豪斯(上海)公司生产)。

1.3 药品与试剂 重楼(广西百色市市售,经广西右江民族医学院民族医学教研室覃道光教授鉴定为重楼根茎)。活性碳末(广东台山化工厂,批号 940402),羧甲基纤维素钠(天津市光复精细化工研究所,批号 20070708)。硫酸阿托品注射液(河南润弘制药股份有限公司,批号 1104161),盐酸肾上腺素注射液(天津药业集团新郑股份有限公司,批号 100912),新斯的明注射液(郑州羚锐制药股份有限公司,批号 1005161)。

1.3.1 重楼醇提液的制备<sup>[5]</sup> 取重楼饮片 50 g,加入 10 倍量 70%乙醇(500 ml)在加热回流的条件下提取 2 h,第二次用 8 倍量 70%乙醇(400 ml)提取 1.5 h,两次滤液合并用 16 层纱布过滤,最后隔水蒸发浓缩、定容为 1 g/ml,冰箱冷藏用时恢复至室

① 通讯作者, E-mail: huangyf238@126.com