

## 壮药扁担藤醇提取物对 CCl<sub>4</sub> 所致小鼠肝损伤的保护作用<sup>①</sup>

韦贤彬<sup>1</sup>, 潘乔丹<sup>2</sup>, 黄元河<sup>2②</sup>, 韩佳迪<sup>1</sup>, 吴龙群<sup>3</sup>, 农静羽<sup>1</sup>, 谢畅宇<sup>3</sup>

(1. 右江民族医学院 2012 级药学本科 1 班, 广西 百色 533000 E-mail: 1358670996@qq.com;

2. 右江民族医学院, 广西 百色 533000;

3. 右江民族医学院 2012 级药学本科 2 班, 广西 百色 533000)

**摘要:** **目的** 研究扁担藤醇提取物抗 CCl<sub>4</sub> 所致小鼠急性肝损伤效果。 **方法** 采用 0.15% CCl<sub>4</sub> 对小鼠腹腔注射, 建立小鼠急性肝损伤模型, 检测扁担藤醇提取物对血清丙氨酸转氨酶 (ALT) 活性、天冬氨酸转氨酶 (AST) 活性、肝匀浆超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和丙二醛 (MDA) 含量、肝指数的影响, 并对肝组织进行病理学检查。 **结果** 扁担藤醇提取物能显著降低 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤小鼠的血清 ALT、AST 值升高并降低肝匀浆中 MDA 的含量, 增强 SOD 的活性。病理学切片显示对肝组织的病理变化有显著的改善。 **结论** 扁担藤醇提取物具有显著地抗肝损伤的作用。

**关键词:** 扁担藤提取液; 四氯化碳; 急性肝损伤

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2016)01-0017-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2016.01.006

### Protective effects of alcohol extract from *Tetrastigma planicaule* (Hook. f.) Gagnep on acute liver injury induced by CCl<sub>4</sub> in mice

Wei Xianbin<sup>1</sup>, Pan Qiaodan<sup>2</sup>, Huang Yuanhe<sup>2</sup>, Han Jiadi<sup>1</sup>, Wu Longqun<sup>3</sup>, Nong Jingyu<sup>1</sup>, Xie Changyu<sup>3</sup>

(1. Undergraduate of Pharmacy, Class 1, Grade 2012, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China E-mail: 1358670996@qq.com; 2. Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China; 3. Undergraduate of Pharmacy, Class 2, Grade 2012, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

**Abstract:** **Objective** This article aims to study the protective effects of alcohol extract from *Tetrastigma planicaule* (Hook. f.) Gagnep on a mould cute liver injury caused by CCl<sub>4</sub> in mice. **Methods** Mouse acute liver injury model was established by intraperitoneal injection 0.15% CCl<sub>4</sub> in mice. The effects of alcohol extract from *Tetrastigma planicaule* (Hook. f.) Gagnep on serum aspartate transaminase (AST) activity, on alanine transaminase (ALT) activity, on superoxide dismutase (SOD) activity and Malondialdehyde (MDA) content in liver homogenate, and on the liver indexes were tested. A pathological examination for the mice liver tissues was performed. **Results** The alcohol extract of *Tetrastigma planicaule* could significantly resist the increase of ALT and AST in mice with acute liver injury caused by CCl<sub>4</sub>, and dowregulated MDA content of liver homogenate, and improved SOD activity. The pathological section showed the extract could improve the pathological changes of liver tissues. **Conclusion** The alcohol extract of *Tetrastigma planicaule* has remarkable protective effect against liver injury.

**Key words:** *Tetrastigma planicaule* (Hook. f.) Gagnep; carbon tetrachloride; acute liver injury

扁担藤 [*Tetrastigma planicaule* (Hook. f.) Gagnep], 别名大芦藤、铁带藤、过江扁龙、扁骨风、腰

① 基金项目: 右江民族医学院自治区级大学生创新训练计划项目资助(201410599048), 中医药公共卫生专项“国家基本药物所需中药原料资源调查和监测项目”(财社[2011]76号)及中医药行业科研专项“我国代表性区域特色中药资源保护利用”(201207002)

② 通讯作者, E-mail: gxhyuanhe@163.com

带藤、羊带风。为葡萄科崖爬藤属植物,据《中药大辞典》记载:本品具有祛风除湿、舒经活络作用,可用于风湿骨痛、腰肌劳损、咳嗽、半身不遂等<sup>[1]</sup>。我们前期研究表明:扁担藤乙酸乙酯提取物对 OH· 的清除能力强于对照品抗坏血酸和茶多酚,具有较好的抗氧化能力<sup>[2]</sup>。但对其抗肝损伤方面的研究尚未开展。因此我们对扁担藤的醇提物进行抗 CCl<sub>4</sub> 所致小鼠急性肝损伤研究,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 材料

1.1.1 药物 扁担藤,采自广西百色右江区,经本校生物教研室黄元河老师鉴定,实验用其茎。

1.1.2 动物 SPF 级昆明种小鼠,雌雄不限,由右江民族医学院实验动物中心提供,动物生产许可证号:SCXK(桂)2014-0010。

1.1.3 试剂 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)试剂盒均购自于南京建成生物工程研究所,批号 20140716、20140702、20140713、20140711;四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)(分析纯),广东西陇化工厂,批号 20140529;联苯双酯滴丸,浙江医药股份有限公司新昌制药厂生产,批号 140113;花生油为食用油。

1.1.4 仪器 UV-2401 紫外分光光度计(日本津岛公司),FA-2007 型电子分析天平,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)。

### 1.2 方法

1.2.1 扁担藤醇提物制备 扁担藤生药干燥粉碎 324 g,加 1.2 L 石油醚连续回流脱脂 2 次,每次 1 h;脱脂后的药物干重 300 g,用 75%乙醇回流提取 2 次,每次 2 h,减压抽滤,取滤液;滤液用 RE-52AA 旋转蒸发器浓缩至无明显蒸发,浓缩液放入烘箱烘干得浸膏 7.85 g。

1.2.2 扁担藤各剂量组混悬液制备 取适量浸膏和蒸馏水,配置成高(15 g·kg<sup>-1</sup>)、中(10 g·kg<sup>-1</sup>)、低(5 g·kg<sup>-1</sup>)受试液,于 4℃ 冷藏备用。

1.2.3 动物造模与给药 将 60 只昆明种小鼠随机平分为 6 组,分别为正常对照组,模型组,联苯双酯组(0.12 g·kg<sup>-1</sup>),扁担藤醇提物高剂量组(15 g·kg<sup>-1</sup>)、中剂量组(10 g·kg<sup>-1</sup>)和低剂量组(5 g·kg<sup>-1</sup>)。各组均定时给药灌胃,连续 7 d,其中正常对照组、模型组给予同容量的生理盐水。于末次给药后 1 h,正常对照组腹腔注射生理盐水 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,断椎处死小白鼠,取血液和肝脏。

1.2.4 生化指标检测 断椎处死小白鼠前,摘眼球取血,所得血液在离心机以 3 500 r/min,离心 20 min 分离血清。血清按试剂盒说明检测其天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)两项指标。摘眼球取血后,立即处死取小鼠肝脏,称重记录后,取一部分加生理盐水,用组织匀浆器,制备成 10%肝匀浆,并按试剂盒说明检测其丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和蛋白含量三项指标。

1.2.5 肝脏指数 肝脏指数 = 肝质量(g)/体重(g) × 100%。

1.2.6 形态病理切片分析 小鼠肝脏称重后取一小块(10 mm × 5 mm)组织用 10%甲醛溶液固定,蜡包埋制片,HE 染色,在光学显微镜下进行组织学观察。

1.2.7 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 19.0 进行单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 扁担藤醇提物对急性肝损伤小鼠血清生化指标的影响 如表 1 所示,与正常对照组比较,CCl<sub>4</sub> 模型组能使血清中 ALT、AST 显著升高( $P < 0.01$ ),说明本次造模成功;与模型组比较,联苯双酯组、扁担藤各剂量组均能使血清中 ALT、AST 显著降低( $P < 0.01$ ),且扁担藤各剂量组降低小鼠血清 ALT、AST 水平,明显呈剂量依赖效应。

表 1 扁担藤对 CCl<sub>4</sub> 肝损伤小鼠血清生化指标的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	数量	剂量 (g·kg <sup>-1</sup> )	ALT (U·L <sup>-1</sup> )	AST (U·L <sup>-1</sup> )
正常对照组	10	—	154.36 ± 44.72	23.97 ± 11.36
模型组	10	—	290.42 ± 31.47 <sup>a</sup>	332.51 ± 59.32 <sup>a</sup>
联苯双酯组	10	0.12	81.98 ± 4.07 <sup>b</sup>	151.92 ± 6.26 <sup>b</sup>
扁担藤高剂量组	10	15	74.63 ± 5.27 <sup>b</sup>	152.54 ± 6.61 <sup>b</sup>
扁担藤中剂量组	10	10	88.96 ± 5.46 <sup>b</sup>	187.97 ± 8.19 <sup>b</sup>
扁担藤低剂量组	10	5	97.01 ± 4.49 <sup>b</sup>	218.44 ± 8.37 <sup>b</sup>

注:与正常对照组比较,a: $P < 0.01$ ;与模型组比较,b: $P < 0.01$

2.2 扁担藤醇提物对急性肝损伤小鼠肝脏生化指标的影响 与正常对照组相比,模型组的 MDA 水平明显升高而 SOD 活性则明显降低;而扁担藤高、中剂量组及联苯双酯组与模型组相比,MDA 和 SOD 活性差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。与正常对照组相比,模型组的肝指数显示升高;而与模型组相比,联苯双酯组及扁担藤高、中剂量组肝指数明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),且显示一定的剂量依赖性。见表 2。

表2 扁担藤对 CCl<sub>4</sub> 肝损伤小鼠肝脏匀浆生化指标的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	数 量	剂 量 (g · kg <sup>-1</sup> )	MDA (U · L <sup>-1</sup> )	SOD (U · L <sup>-1</sup> )	肝指数 (%)
正常对照组	10	—	6.52 ± 1.25	537.77 ± 100.43	4.86 ± 0.50
模型组	10	—	13.33 ± 4.29 <sup>a</sup>	189.33 ± 82.99 <sup>a</sup>	5.57 ± 0.66 <sup>a</sup>
联苯双酯组	10	0.12	8.06 ± 1.59 <sup>c</sup>	416.18 ± 88.40 <sup>c</sup>	4.87 ± 0.41 <sup>c</sup>
扁担藤高剂量组	10	15	8.16 ± 1.58 <sup>c</sup>	533.28 ± 127.29 <sup>c</sup>	4.71 ± 0.36 <sup>c</sup>
扁担藤中剂量组	10	10	10.67 ± 2.00 <sup>b</sup>	368.58 ± 110.79 <sup>c</sup>	4.59 ± 0.52 <sup>c</sup>
扁担藤低剂量组	10	5	11.72 ± 2.13	308.81 ± 116.03 <sup>b</sup>	5.48 ± 0.52

注:与正常对照组比较,a:  $P < 0.01$ ;与模型组比较,b:  $P < 0.05$ ,c:  $P < 0.01$

2.3 扁担藤醇提物对小鼠肝损伤的观察 在光学显微镜下,CCl<sub>4</sub> 模型组小鼠肝小叶结构混乱,肝索排列紊乱,细胞界限模糊,其中多见块状炎症细胞浸润,点状组织坏死,中央静脉淤血和细胞水肿样变性;与模型组比较,扁担藤各剂量组、联苯双酯组均对以上肝组织损伤有明显改善作用。

### 3 讨论

CCl<sub>4</sub> 是一种对肝细胞有严重毒性作用的化学物质<sup>[3]</sup>,其作用机制为 CCl<sub>4</sub> 在肝内导致肝微粒体细胞色素 P450 分解活化,生成三氯甲基自由基和氯自由基,导致肝微粒体的脂质过氧化,自由基增加,使得质膜磷脂分子过氧化,增加细胞膜通透性,使肝细胞内大量转氨酶 ATL 和 AST 进入血液中;同时当肝细胞持续受到自由基攻击时,SOD 过度消耗而表现为活性降低,失去了对自由基启动脂质过氧化反应的抑制,导致 MDA 大量产生,破坏细胞膜,致细胞破裂,变性坏死<sup>[4-5]</sup>。因此自由基和活性氧化物是引起肝损伤的重要因素之一,故清除自由基是抗肝损伤的重要途径<sup>[5]</sup>。本次结果亦显示扁担藤醇提物能够显著降低 CCl<sub>4</sub> 肝损伤小鼠血清 ALT 和 AST 的活性,能显著增加血清

SOD 并减少血清 MDA 含量,前期我们研究发现扁担藤就有较高的抗氧化活性<sup>[2]</sup>,说明扁担藤醇提物对 CCl<sub>4</sub> 急性肝损伤小鼠的保护作用与其抗氧化密切相关,这为我们进一步研究扁担藤的有效成分奠定基础。

### 参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海人民出版社, 1986:1744.
- [2] 潘乔丹,熊圆圆,陈文东,等. 扁担藤不同极性成分抗氧化活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1): 232—235.
- [3] 胡宗礼,黄晓萍. 虎杖方剂对四氯化碳致大鼠肝损伤的保护作用研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(3): 657—658.
- [4] 闫冰,丁安伟,张丽. 二至丸提取物对小鼠四氯化碳急性肝损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(22): 3080—3083.
- [5] 周军,张福华. 桑黄酮对四氯化碳诱导的小鼠急性肝损伤保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(15): 269—272.

收稿日期:2015-10-19;修回日期:2015-12-28

(上接第13页)

究半夏泻心汤根治 Hp MDR 的作用机制,为研制和应用半夏泻心汤系列产品提供有力的实验依据。

### 参考文献:

- [1] 刘晓群,陈元旺,谢勇. 细菌 AcrAB-TolC 外排泵在幽门螺杆菌耐药中的作用[J]. 中华消化杂志, 2015, 35(1): 68—70.
- [2] 李晓华,黄赞松,黄衍强,等. 桂西地区幽门螺杆菌多重耐药现状和治疗方案分析[J]. 重庆医学, 2013, 42(14): 1578—1579.
- [3] 刘刚. 半夏泻心汤辨证要点及应用发挥探讨[J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(12): 33—35.
- [4] CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility

Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition[S]. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

- [5] 贺万涛,李艳蓉,魏文玲. 半夏泻心汤的临床应用[J]. 中医临床研究, 2014, 6(23): 49—50.
- [6] 秦立伟,刘桂英. 半夏泻心汤加减治疗慢性胃炎 62 例[J]. 光明中医, 2010, 25(12): 2228—2229.
- [7] 张琳,杨连文,杨李君,等. 幽门螺杆菌与慢性萎缩性胃炎发病关系及防治研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1992, 12(9): 521—523.
- [8] 毛亮,李中宇. 李中宇教授应用半夏泻心汤治疗胃脘痛经验[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(10): 2307—2308.

收稿日期:2015-11-23;修回日期:2015-12-31