

葛花枳椇子及其配伍采用水提和醇提对酒精性肝损伤大鼠肝脏功能的影响

柳海艳, 钟赣生, 王茜, 李怡文, 刘佳, 陈绍红, 欧丽娜

北京中医药大学基础医学院, 北京 100029

摘要 为了观察葛花、枳椇子不同比例配伍对酒精性肝损伤大鼠肝脏功能的影响,同时探讨葛花枳椇子及其配伍组采用不同的提取方法即水提和醇提是否会对药物的疗效产生影响,将 Wistar 大鼠,按体重随机分为空白组,模型组,东宝肝泰对照组,葛花组,枳椇子组,葛花枳椇子配伍 1:1,1:2 和 2:1(质量比)8 组,连续灌胃 8 周,于 8 周末取材,麻醉后腹主动脉取血,摘取肝脏,称重计算肝脏指数,同时检测血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)的含量。结果显示,造模成功,各个给药组对于肝功能均有一定的改善作用,同时可以看出水提的效果整体上优于醇提。由此表明,大量饮酒可以导致肝脏受到损伤,葛花与枳椇子不同比例配伍对酒精性肝损伤大鼠肝脏具有一定的保护作用,且实验中采用的药物应用传统水提的效果优于醇提。

关键词 葛花;枳椇子;酒精性肝损伤;肝功能

中图分类号 R285.5,R575.5

文献标识码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2012.h1.011

Effects of *Flos Puerariae* and Seeds of *Hovenia Dulcis* Thunb and Compatibility Groups Extracted by Water and Alcohol on Experimental Alcoholic Liver Disease of Rats

LIU Haiyan, ZHONG Gansheng, WANG Xi, LI Yiwen, LIU Jia, CHEN Shaohong, OU Lina

College of Preclinical Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract In order to observe the antioxidant effect of different proportions of *flos puerariae lobatae* and *hoveniae semoveniae semen* extracted by alcohol and water, at the same time to determine whether different methods of extraction will have different effects and which method is better, alcoholism rat models were induced by administrating wine and Wistar rats were randomly divided into the normal group, the model group, the positive group, the *flos puerariae* group, the group of seeds of *hovenia dulcis* Thunb, and the groups of different ratios of compatibility. All rats were killed and their livers and blood were taken to examine the serum alanine aminotransferase (ALT), the serum aspartate aminotransferase (AST) and the Alkaline Phosphatase Kit (ALP). It is shown that the model test is successful and each treatment group sees a certain improvement of the liver function, and the water extraction on the whole is better than the alcohol extract as far as the effect is concerned. It is suggested that the heavy drinking can cause liver damage, the Gehua with the seeds of *hovenia* different proportion on the alcoholic liver injury in the rat liver has a protective effect, and the traditional water extraction of the drug application used in the experiment is better than the alcohol one.

Keywords *flos puerariae lobatae*; *hoveniae semoveniae semen*; alcoholic liver disease; liver function

酒精性肝损伤(Alcoholic Liver Disease, ALD)是由于长期大量饮酒所引起的肝脏损害。主要包括酒精性脂肪肝,酒精性肝炎,酒精性肝纤维化,酒精性肝硬化,这几种病理形式可以单独存在也可以两种或多种相兼存在^[1]。对于酒精性肝损

伤的治疗,国内外都进行了大量的临床及实验研究,但是只局限于几个方面,也缺少安全有效的药物。而中医无论在治疗手段,药物应用方面都有自己的独特优势。葛花和枳椇子是两味传统的解酒中药,据古代文献记载葛花能“解酒毒”,

收稿日期:2012-05-28;修回日期:2012-08-15

项目基金:北京市自然科学基金项目(7092055)

作者简介:柳海艳,博士研究生,研究方向为中药防治酒精性肝病,电子信箱:liuhaiyan521@126.com;钟赣生(通信作者),教授,研究方向为中药防治酒精性肝病,电子信箱:zhonggansheng@sohu.com

枳椇子能“败酒味”,二者均主治醉酒。近年来有关二者的文献报道^[2-4]则多侧重于对单味葛花或枳椇子对急性酒精中毒的影响,对于慢性酒精性肝损伤的治疗则多应用包含葛花和(或)枳椇子的复方制剂,而对于葛花和枳椇子配伍后对酒精性肝损伤的作用研究较少。因此,本研究选择文献大量记载的两味解酒专药——葛花和枳椇子为目标,以酒精性肝损伤为研究内容,通过借助现代科学技术方法与手段,一方面探讨二者不同比例配伍后能否发挥协同作用,产生“1+1>2”的增效作用;另一方面探讨葛花、枳椇子及其配伍组采用不同的提取方法即醇提和传统水提,是否会对药物的疗效产生影响,哪一种提取方法对于酒精性肝损伤的治疗效果会更好。

1 材料和方法

1.1 药物采用醇提实验的材料和方法

1.1.1 实验动物

雄性 Wistar 大鼠 160 只,体重 150—200g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证编号为 SCXK(京)2006-0009。

1.1.2 实验药物

葛花为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi、甘葛藤 *Pueraria thomsonii* Benth. 的花。枳椇子为鼠李科植物枳椇 *Hovenia dulcis* Thunb 的干燥成熟带肉质果柄的果实或种子。两种药材均购自北京本草方源药业有限公司,批号分别为 20090911 和 20090309。经北京中医药大学基础医学院方药学系李伟老师鉴定均为优质药材。

葛花提取物:取药材葛花,60%乙醇浸泡 2h,回流提取 2 次,第 1 次加 10 倍量 60%乙醇回流提取 1.5h,第 2 次加 8 倍量 60%乙醇回流提取 1h。过滤,合并滤液,回收乙醇并浓缩至相对密度为 1.05,加蒸馏水配制所需浓度的溶液备用。临用时,葛花提取物加 0.5%羧甲基纤维素钠(CMC)配制所需浓度的溶液使用,即含生药 0.4g/mL,给药体积为 1mL/100g,相当于临床人用量的 10 倍(4g/kg)。

枳椇子提取物:取枳椇子加水浸泡 8h,再加水煎煮 2 次,第 1 次加 4 倍量水,煎煮 2h,第 2 次加 2 倍量水,煎煮 1h,煎液合并,滤过,浓缩至相对密度为 1.10,加乙醇使含醇量为 60%,静置过夜,取上清液回收乙醇至无醇味。临用时,枳椇子提取物加 0.5% CMC 配制所需浓度的溶液使用,即含生药 0.25g/mL,给药体积为 1mL/100g,相当于临床人用量的 10 倍(2.5g/kg)。

葛花、枳椇子不同比例配伍药液的制备:上述两种葛花和枳椇子醇提药液按不同比例(葛花和枳椇子质量比分别为 1:1、1:2 和 2:1)加 0.5% CMC 配制所需浓度的溶液,1:1 组药液浓度为 0.8g/mL,给药体积为 1mL/100g;1:2 组药液的浓度为 1.2g/mL,给药体积为 1mL/100g;2:1 组药液的浓度为 1.2g/mL,给药体积为 1mL/100g。

东宝甘泰药液的制备:东宝甘泰片,吉林通化东宝药业

股份有限公司生产,批号 090503。规格:每盒 12×4 片,基片重为 0.4g。本药由蛋氨酸、重酒石酸胆碱及维生素 B12 等 9 种药物组成,临床用于治疗急性肝炎、慢性肝炎、脂肪肝、肝硬化等病。用蒸馏水和 0.5% CMC 配成浓度为 0.036g/mL 的溶液,相当于临床成人用量的 6 倍。

1.1.3 实验试剂

56°红星二锅头酒:购自北京红星酿酒股份有限公司;生理盐水:山东齐都药业有限公司,生产批号为 1D09090302;丙氨酸氨基转移酶(ALT)测定试剂盒:中生北控生物科技股份有限公司生产,批号为 091211:200907;天门冬氨酸氨基转移酶(AST)测定试剂盒:中生北控生物科技股份有限公司生产,批号为 090591:200908;碱性磷酸酶(ALP)测定试剂盒:中生北控生物科技股份有限公司生产,批号为 090381:200908。

1.1.4 实验分组及给药方法

wistar 大鼠按体重随机分成空白组、模型组、东宝甘泰对照组、单味葛花组、单味枳椇子组、葛花枳椇子 1:1 配伍组、葛花枳椇子 1:2 配伍组、葛花枳椇子 2:1 配伍组,空白组 15 只动物,模型组 25 只动物,其余各组各 20 只动物。除正常喂养外,每日上午按 1mL/100g 分别灌胃:除空白组外,其余各组以白酒灌胃(56°红星二锅头),空白组灌胃蒸馏水。各给药组每日下午按 1mL/100g 分别灌胃给药,空白组和模型组给予灌胃蒸馏水,连续 8 周,每周给大鼠称重,自由进食进水。

1.1.5 主要实验仪器

精密电子天平:型号为 JJ300Y,美国双杰兄弟(集团)有限公司常熟双杰测试仪器厂;电子分析天平:型号为 AEL-160,由日本岛津制作所生产;台式高速冷冻离心机:型号为 TGL-16A,长沙平凡仪器仪表有限公司;半自动生化分析仪:型号为 A-6,北京松上技术有限公司;恒温水浴锅:北京光明医疗仪器厂;快速混匀器:型号为 SK-1,江苏国华仪器厂;微量移液器:北京青云航空仪表有限公司。

1.1.6 观察指标

每周末对大鼠进行称重,在 8 周末末次给药后称重,记录体重,末次给药后,所有大鼠在取材前一天晚上 8 点禁食,禁食 12h,次日用水合氯醛麻醉,腹主动脉取血后取出整个肝脏,生理盐水清洗后,用滤纸吸干,然后称取肝脏的称重,计算其肝脏指数。

所有大鼠于 8 周末用水合氯醛麻醉,腹主动脉取血。取新鲜血液,用高速冷冻离心机 3000r/min,离心 10min,分离血清。用半自动生化分析仪测定血清 ALT、AST、ALP 的活性。

按试剂盒说明书操作,将血清与所需试剂混匀,室温放置 1min,在 520nm 波长处,以空白管调零,读取数值。

1.1.7 统计方法

数据采用均值±标准差表示,应用 SPSS 11.0 软件进行方差分析。

1.2 药物采用水提实验的材料和方法

1.2.1 实验动物

雄性 Wistar 大鼠 170 只,体重 150—200g,由北京维通利

华实验动物技术有限公司提供,许可证编号:SCXK(京)2006-0009。

1.2.2 实验药物

葛花和枳椇子均购自北京本草方源药业有限公司,批号分别为 20100416 和 20100908。经北京中医药大学基础医学院药理学系李伟老师鉴定均为优质药材。

葛花提取物:取药材葛花加 10 倍量水浸泡 2h,煎煮 2 次,第 1 次煎煮提取 1.5h,第 2 次加 8 倍量水煎煮提取 1h。滤过,合并滤液,将葛花药液浓缩至 1.2g/mL。临用时加蒸馏水配制成所需浓度的溶液使用,即葛花含生药 0.4g/mL,给药体积为 1mL/100g,相当于临床人用量的 10 倍(4g/kg)。

枳椇子提取物:取枳椇子加 6 倍量水浸泡 8h,煎煮 2 次,第 1 次煮开后再煎煮 1.5h,第 2 次加 4 倍量水,煮开后再煎煮 1h,煎液合并,滤过,浓缩至 1g/mL。临用时加蒸馏水配置成所需浓度使用,即含生药 0.25g/mL,给药体积为 1mL/100g,相当于临床人用量的 10 倍(2.5g/kg)。

葛花枳椇子 1:1 药物的提取:将葛花和枳椇子按质量比 1:1 混合,加 10 倍量水浸泡 8h,煎煮 2 次,第 1 次煮开后再煎煮 1.5h,取出药液,再加 8 倍量水,煮开后再煎煮 1h,将 2 次药液过滤合并,浓缩至 1.6g/mL。临用时加蒸馏水配置成所需浓度使用,给药浓度为 0.8g/mL,给药体积为 1mL/100g。

葛花枳椇子 1:2 药物提取:将葛花和枳椇子按质量比 1:2 混合,加 10 倍量水浸泡 8h,煎煮 2 次,第 1 次煮开后再煎煮 1.5h,取出药液,再加 8 倍量水,煮开后再煎煮 1h,将 2 次药液过滤合并,浓缩至 2.4g/mL。加蒸馏水配置成所需浓度使用,给药浓度为 1.2g/mL,给药体积为 1mL/100g。

葛花枳椇子 2:1 药物提取:将葛花和枳椇子按 2:1 混合,加 10 倍量水浸泡 8h,煎煮 2 次,第 1 次煮开后再煎煮 1.5h,取出药液,再加 8 倍量水,煮开后再煎煮 1h,将 2 次药液过滤合并,浓缩至 2.4g/mL。临用时加蒸馏水配置成所需浓度使用,给药浓度为 1.2g/mL,给药体积为 1mL/100g。

东宝甘泰药液的制备:东宝甘泰片,吉林通化东宝药业股份有限公司生产,批号 100411。规格:每盒 12×4 片,基片重为 0.4g。本药由蛋氨酸、重酒石酸胆碱及维生素 B12 等 9 种药物组成,临床用于治疗急性肝炎、慢性肝炎、脂肪肝、肝硬化等病。用蒸馏水和 0.5% CMC 配成浓度为 0.036g/mL 的溶液,相当于临床成人用量的 6 倍。

1.2.3 实验试剂

56°红星二锅头酒:购自北京红星酿酒股份有限公司;生理盐水:山东齐都药业有限公司,批号为 1D09090302;丙氨酸氨基转移酶(ALT)测定试剂盒:中生北控生物科技股份有限公司生产,批号为 101521.201011;天门冬氨酸氨基转移酶(AST)测定试剂盒:中生北控生物科技股份有限公司生产,批号为 100741.201010;碱性磷酸酶(ALP)测定试剂盒:中生北控生物科技股份有限公司生产,批号为 100441.201011。

1.2.4 实验分组及给药方法

Wistar 大鼠按体重随机分成空白组、模型组、东宝甘泰对

照组、单味葛花组、单味枳椇子组、葛花枳椇子 1:1 配伍组、葛花枳椇子 1:2 配伍组、葛花枳椇子 2:1 配伍组,空白组 25 只动物,模型组 25 只动物,其余各组各 20 只动物。灌酒及给药方法同第 1.1.4 节。

1.2.5 实验仪器

同第 1.1.5 节。

1.2.6 观察指标

同第 1.1.6 节。

1.2.7 统计方法

同第 1.1.7 节。

2 结果与分析

2.1 葛花、枳椇子及其配伍采用醇提和水提对酒精性肝损伤大鼠肝脏指数影响

2.1.1 葛花、枳椇子及其配伍组醇提物对酒精性肝损伤大鼠肝指数的影响

由表 1 可以看出,至第 8 周末,各组药物采用乙醇提取方法的实验中模型组与空白组相比,肝指数显著增加 ($P < 0.001$),各给药组中 2:1 组显著高于模型组 ($P < 0.001$),1:1 组

表 1 葛花枳椇子及其配伍组醇提物对酒精性肝损伤大鼠肝指数的影响

Table 1 Effect of different proportion of *flos puerariae lobatae* and *hoveniae semoveniae semen* extracted by alcohol on the liver index of rats with alcoholic liver injury

组别	药物剂量/(g·kg ⁻¹)	动物只数	肝指数/(g·g ⁻¹ ×100%)
空白组	—	15	2.34±0.23
模型组	—	13	2.75±0.22***
东宝甘泰组	0.36	11	2.80±0.11
葛花组	4	11	2.86±0.12
枳椇子组	2.5	10	2.75±0.14
1:1 组	8	11	2.68±0.16*
1:2 组	12	9	2.79±0.10
2:1 组	12	10	3.01±0.20****

注:与空白组比较,*表示 $P < 0.05$;**, $P < 0.01$;***, $P < 0.001$;与模型组比较,#表示 $P < 0.05$;##, $P < 0.01$;###, $P < 0.001$;与葛花组比较,☆表示 $P < 0.05$;☆☆, $P < 0.01$;☆☆☆, $P < 0.001$;与枳椇子组比较,★表示 $P < 0.05$;★★, $P < 0.01$;★★★, $P < 0.001$ 。下表同。

Notes: Compared with the normal group, * means a difference with significance ($P < 0.05$); **, a difference with significance ($P < 0.01$); ***, a difference with significance ($P < 0.001$); compared with the model group, # means a difference with significance ($P < 0.05$); ##, a difference with significance ($P < 0.01$); ###, a difference with significance ($P < 0.001$); compared with the *flos puerariae* group, ☆ means a difference with significance ($P < 0.05$); ☆☆, a difference with significance ($P < 0.01$); ☆☆☆, a difference with significance ($P < 0.001$); compared with the seeds of *hovenia dulcis* Thunb group, ★ means a difference with significance ($P < 0.05$); ★★, a difference with significance ($P < 0.01$); ★★★, difference with significance ($P < 0.001$). The same is applied in other tables below.

与葛花组相比肝指数增加($P<0.05$), 2:1 组肝指数明显高于枳椇子组($P<0.01$)。

2.1.2 葛花枳椇子及其配伍组水提物对酒精性肝损伤大鼠肝指数的影响

由表 2 可以看出, 至第 8 周末, 实验结束时, 各组药物采用水提取方法的实验中, 模型组与空白组相比, 肝指数明显增加($P<0.01$)。在各给药组中, 葛花组肝指数明显低于模型组($P<0.01$), 枳椇子组肝指数低于模型组且有统计学意义($P<0.05$), 1:2 组低于模型组($P<0.05$), 2:1 组肝指数明显高于葛花组($P<0.01$), 且 2:1 组肝指数也高于枳椇子组($P<0.05$)。

表 2 葛花枳椇子其配伍组水提物及对酒精性肝损伤大鼠肝指数的影响

Table 2 Effect of different proportions of *flos puerariae lobatae* and *hoveniae semovoniae semen* extracted by water on the liver index of rats with alcoholic liver injury

组别	药物剂量/(g·kg ⁻¹)	动物只数	肝指数/(g·g ⁻¹ ×100%)
空白组	—	18	2.51±0.341
模型组	—	11	2.74±0.25**
东宝甘泰组	0.36	10	2.64±0.149
葛花组	4	15	2.49±0.191#
枳椇子组	2.5	16	2.55±0.157#
1:1 组	8	12	2.65±0.161
1:2 组	12	15	2.54±0.137#
2:1 组	12	9	2.76±0.149***

2.2 葛花枳椇子及其配伍采用醇提和水提对酒精性肝损伤大鼠血清 ALT、AST、ALP 的影响

2.2.1 葛花枳椇子及其配伍采用醇提对酒精性肝损伤大鼠血清 ALT、AST、ALP 的影响

由表 3, 表 4 和表 5 可以看出, 葛花枳椇子及其配伍组采用醇提时, 模型组 ALT 显著高于空白组($P<0.001$), 各给药组与模型组相比无统计学差异, 但东宝甘泰组, 葛花枳椇子 1:1 组和 1:2 组与模型组相比有升高趋势。模型组 AST 与空白组

表 3 葛花枳椇子及其配伍组醇提物对酒精性肝损伤大鼠血清中 ALT 的影响

Table 3 Effect of different proportions of *flos puerariae lobatae* and *hoveniae semovoniae semen* extracted by alcohol on the ALT of rats with alcoholic liver injury

组别	药物剂量/(g·kg ⁻¹)	动物只数	ALT/(U·L ⁻¹)
空白组	—	15	31.81±8.00
模型组	—	13	44.91±12.63***
东宝甘泰组	0.36	12	50.43±8.38
葛花组	4	11	41.21±7.91
枳椇子组	2.5	10	40.73±8.61
1:1 组	8	12	46.83±8.00
1:2 组	12	9	42.71±7.10
2:1 组	12	9	48.54±10.44

相比无统计学差异, 各给药组与模型组相比也无统计学差异。模型组碱性磷酸酶显著高于空白组($P<0.01$), 各给药组与模型组相比均具有统计学差异, 其中葛花组, 葛花枳椇子 1:2 组与模型组相比具有显著差异($P<0.01$), 东宝甘泰组, 枳椇子组, 葛花枳椇子 1:1 和 2:1 组与模型组相比有统计学差异($P<0.05$)。

表 4 葛花枳椇子及其配伍组醇提物对酒精性肝损伤血清中 AST 的影响

Table 4 Effect of different proportions of *flos puerariae lobatae* and *hoveniae semovoniae semen* extracted by alcohol on the AST of rats with alcoholic liver injury

组别	药物剂量/(g·kg ⁻¹)	动物只数	ALT/(U·L ⁻¹)
空白组	—	14	117.72±22.21
模型组	—	13	112.64±19.72
东宝甘泰组	0.36	12	129.28±23.40
葛花组	4	11	113.26±26.11
枳椇子组	2.5	10	113.88±24.95
1:1 组	8	12	125.41±26.58
1:2 组	12	11	127.03±31.86
2:1 组	12	9	117.74±15.03

表 5 葛花枳椇子及其配伍组醇提物对酒精性肝损伤大鼠血清中 ALP 的影响

Table 5 Effect of different proportions of *flos puerariae lobatae* and *hoveniae semovoniae semen* extracted by alcohol on the ALP of rats with alcoholic liver injury

组别	药物剂量/(g·kg ⁻¹)	动物只数	ALP/(U·L ⁻¹)
空白组	—	15	27.13±6.09
模型组	—	13	35.02±9.22**
东宝甘泰组	0.36	12	29.26±8.04#
葛花组	4	13	27.67±5.61#
枳椇子组	2.5	11	28.35±3.99#
1:1 组	8	13	29.53±6.97#
1:2 组	12	11	25.06±5.93#
2:1 组	12	9	28.21±4.38#

2.2.2 葛花枳椇子及其配伍采用水提对酒精性肝损伤大鼠血清 ALT、AST、ALP 的影响

由表 6, 表 7 和表 8 可以看出, 葛花枳椇子及其配伍组采用水提时, 模型组 ALT 高于空白组, 且具有非常显著的差异($P<0.001$), 在各给药组中, 葛花组与模型组相比具有显著差异($P<0.01$), 枳椇子组与模型组相比具有统计学差异($P<0.05$), 其他各给药组与模型组相比没有统计学差异, 但与模型组相比都具有降低的趋势。模型组 AST 显著高于空白组($P<0.001$), 各给药组中, 除阳性对照药东宝甘泰组外, 其他各组与模型组相比均具有统计学差异, 其中枳椇子组和 2:1 组显著低于模型组($P<0.001$), 葛花组, 1:1 组和 1:2 组与模型组相比也具有显著差异($P<0.01$)但配伍组与葛花和枳椇子单味

药组相比,并未显示出哪组效果相对较好。模型组 ALP 与空白组相比无统计学差异,但各给药组中除阳性对照药东宝甘泰组外,其他各组与模型组相比均具有降低趋势,且 1:2 组低于模型组,具有统计学差异($P<0.05$)。

表 6 葛花枳椇子及其配伍组水提物对酒精性肝损伤大鼠血清中 ALT 的影响

Table 6 Effect of different proportions of *flos puerariae lobatae* and *hoveniae semovoniae semen* extracted by water on ALT of rats with alcoholic liver injury

组别	药物剂量/(g·kg ⁻¹)	动物只数	ALT/(U·L ⁻¹)
空白组	—	18	41.91±6.34
模型组	—	11	59.09±11.10***
东宝甘泰组	0.36	10	57.59±10.86
葛花组	4	15	49.64±6.79##
枳椇子组	2.5	16	51.87±6.62#
1:1 组	8	13	56.16±9.99*
1:2 组	12	15	54.26±7.47
2:1 组	12	9	52.49±7.41

表 7 葛花枳椇子及其配伍组水提物对酒精性肝损伤大鼠血清中 AST 的影响

Table 7 Effect of different proportions of *flos puerariae lobatae* and *hoveniae semovoniae semen* extracted by water on AST of rats with alcoholic liver injury

组别	药物剂量/(g·kg ⁻¹)	动物只数	ALT/(U·L ⁻¹)
空白组	—	16	126.98±13.96
模型组	—	11	161.98±21.04***
东宝甘泰组	0.36	10	161.40±29.06
葛花组	4	14	133.65±21.52##
枳椇子组	2.5	17	121.11±21.55###
1:1 组	8	12	130.26±22.72###
1:2 组	12	15	132.66±34.90###
2:1 组	12	9	125.39±18.12###

表 8 葛花枳椇子及其配伍组水提物对酒精性肝损伤大鼠血清中 ALP 的影响

Table 8 Effect of different proportions of *flos puerariae lobatae* and *hoveniae semovoniae semen* extracted by water on ALP of rats with alcoholic liver injury

组别	药物剂量/(g·kg ⁻¹)	动物只数	ALT/(U·L ⁻¹)
空白组	—	18	45.22±8.89
模型组	—	11	48.00±12.56
东宝甘泰组	0.36	10	50.07±16.07
葛花组	4	14	43.39±10.94
枳椇子组	2.5	17	42.61±9.07
1:1 组	8	13	39.72±9.91
1:2 组	12	13	37.79±7.04#
2:1 组	12	9	43.78±6.69

3 讨论

3.1 关于葛花枳椇子及其配伍采用醇提和水提对酒精性肝损伤大鼠肝脏指数的影响比较

肝指数是肝脏的湿重与大鼠体重的比值,在本实验中以百分比来表示。酒精性肝损伤时肝脏病理上可见到肝细胞肿大,呈水样变性;而当肝细胞微管受损,分泌功能障碍时,会导致分泌性蛋白贮留,肝细胞出现气球样变性;当肝脏出现脂质代谢紊乱时,肝细胞内会出现脂肪堆积,导致肝细胞出现脂肪变性,进一步出现肝脏肿大,体积增大,质量增加,肝指数升高^[5]。肝指数可反映肝脏的病变情况,如果肝脏受到损伤,肝指数将发生明显的变化^[6]。从两次实验结果都能看出模型组的肝指数明显高于空白组,说明模型组大鼠的肝脏损伤比较严重。在各组药物采用醇提的实验中,2:1 组大鼠肝指数显著高于模型组,其余各给药组与模型组相比不具有统计学差异。而在各组药物采用水提的实验中,葛花组、枳椇子组及葛花枳椇子 1:2 组与模型组比较都具有统计学差异,其中以葛花组的效果最好,且葛花组比 2:1 组的效果好,具有统计差异,枳椇子也较 2:1 组的效果好。因此从两次实验的总体效果可以看出,葛花枳椇子及其配伍组采用水提对于降低酒精性肝损伤大鼠肝指数的效果优于醇提。原因可能如下:(1) 药物采用乙醇回流提取的方法,会提取出大量只溶于醇而不溶于水的物质,导致药物进入大鼠体内不容易消化,因此使动物产生胃肠胀气,一方面增加了动物的死亡量,另一方面也影响药物在动物体内的消化利用。(2) 姚美村等^[7]的研究显示,用不同浓度的乙醇提取 10g 葛花有效成分,乙醇浓度分别为 0、30%、50%、70%和 90%时,所得到的提取物的质量分别为 3.77、3.74、3.73、3.39 和 2.68g,由此可以看出,以水为提取溶剂时得到的提取物最多。而国外的一项研究表明,野葛的粗提取物可减少大鼠的乙醇摄入量,野葛的有效成分包括大豆苷、大豆苷元、葛根素、染料木苷等,但等剂量的粗提取物比单纯大豆苷药效强 10 倍^[8]。究其原因可能是粗提取物中的其他成分可提高大豆苷的生物利用度^[9]。而在本实验中水提相对于醇提,水提属于粗提,水提的效果优于醇提,其原因也可能是水提得到的是粗提取物,粗提取物中的其他成分提高了能够发挥主要疗效的有效成分的作用。

3.2 关于葛花枳椇子及其配伍采用醇提和水提对酒精性肝损伤大鼠肝脏 AST、ALT、ALP 的影响比较

肝脏内存在很多种酶类,当肝脏受到损伤时一些存在于肝脏的酶就会释放入血,因此通过测定血中各种酶类的变化,得知肝损伤的严重程度。酒精进入人体后,不能在体内储存,必须被代谢掉,其中有一小部分在胃内代谢,大部分在肝脏代谢,因此大量饮酒会导致肝脏的损伤,从而使一些酶释放入血,饮酒所引起的肝脏损伤,血清酶类变化以转氨酶变化最为明显,包括 ALT、AST。血清中的 ALT 和 AST 是肝损害的敏感指标,在肝细胞损害、坏死、甚至细胞变性,细胞膜通透性增加的情况下都会导致肝细胞内的 ALT 和 AST 进入细胞间质液和血液循环,其中含有 AST 的器官,由多到少分别

是肝、心肌、骨髓肌、肾、脑、胰腺、肺、白细胞和红细胞,而 ALT 几乎全存在于肝内^[10]。ALT、AST 作为肝细胞内酶,在氨基酸的合成与分解代谢中起重要作用^[11]。目前国内的大部分研究显示 ALT 主要存在于肝细胞浆,AST 主要存在于肝细胞浆和肝细胞的线粒体中,在正常情况下,只有极少量释放入血液中,故血清中 ALT 和 AST 的活性一般会很低。但是当肝组织受到损伤或各种原因导致细胞膜通透性增加时,这两种酶大量释放到血液中,使血清中这两种酶的活性显著增高^[12]。由此可见,当酒精引起的肝损害仅影响到肝细胞膜的通透性,使其通透性增加时,会导致主要存在于肝细胞浆内的 ALT 大量释放入血,则会使血中转氨酶以 ALT 升高为主,而当酒精引起的肝损伤累及肝细胞内的线粒体时,就会导致 AST 也大量释放入血,血清中会以 AST 升高为主。国内的一些学者认为酒精性脂肪肝时转氨酶仅轻至中度升高,当出现酒精性肝炎时,转氨酶则明显升高,但一般以 AST 升高为主,这可能与酒精能特异性损伤线粒体有关^[13]。

在葛花枳椇子及其配伍组采用醇提的实验中,模型组 ALT 显著高于空白组,而模型组 AST 与空白组相比无统计学差异,其原因可能是在此次实验中,酒精引起的肝损伤主要以肝细胞膜损伤为主,并未损伤线粒体,或线粒体损伤不严重,因此会导致 ALT 升高比 AST 升高明显。在葛花枳椇子及其配伍组均采用水提的实验中,模型组 ALT 显著高于空白组,模型组 AST 也显著高于空白组,总体上说以 AST 升高为主,其原因可能如上述文献[13]中所说。且对于降低 AST 来说,单味枳椇子组及葛花枳椇子 2:1 组的效果相对较好,其原因可能是这两组药物对于肝细胞线粒体具有更强的保护作用。

碱性磷酸酶是一组同工酶而不是单一的酶,其来源包括肝、骨、肠和胎盘,但以肝源性和骨源性最多。当肝内出现占位性病变如肿瘤,或者出现胆汁淤积时会导致血清中 ALP 显著升高,这是由于在淤积的胆汁,炎症或肿瘤的刺激下会导致肝内生成 ALP 的 mRNA 转录增加,进而使 ALP 合成增加,其中以胆汁淤积时最为明显,当胆汁淤积时胆汁酸会使 ALP 从脂性膜上洗脱下来,进而通过细胞膜进入血中^[13]。但也会出现血清中 ALP 升高不如转氨酶那样明显的时候,可能原因如下:一方面肝中的 ALP 浓度仅比血清中高 5—10 倍,明显低于肝中转氨酶与血清中转氨酶的梯度;另一方面,肝中的转氨酶与脂膜结合,不像转氨酶那样游离存在,因此不易释放入血;还有就是肝中的 ALP 主要位于胆管区,距离肝窦较远,因此即使肝损伤使 ALP 成为游离状态,也会导致其大量进入胆汁,而进入血中的会大量减少^[14]。

在葛花枳椇子及其配伍组采用醇提的实验中,模型组 ALP 显著高于空白组,其原因可能如上述文献[13]所说,由于酒精导致肝脏损伤的同时出现胆汁淤积,因此使 ALP 合成增加,进而出现血清中 ALP 明显升高。且各给药组与模型组相比均具有统计学差异,其中以葛花组以及葛花枳椇子 1:2 组的效果相对较好,其原因可能是各给药组均具有疏利肝胆,促进胆汁正常排泄,防止出现胆汁淤积的作用,而这种作用以单味葛花以及葛花枳椇子 1:2 组的作用最强。在葛花枳椇

子及其配伍组采用水提的实验中,模型组 ALP 与空白组相比不具有统计学差异,其原因可能如上述文献[14]所述。

4 结论

药物采用传统水提对于酒精性肝损伤的保护作用优于醇提,而当药物采用水提取时,通过肝功的结果可以看出以葛花枳椇子 2:1 的比例配伍时对于改善肝功的效果最佳。

参考文献 (References)

- [1] 王泰玲, 赵静波. 酒精性肝病的病理 [J]. 胃肠病学和肝脏病学杂志, 1997, 6(1): 4-8.
Wang Tailing, Zhao Jingbo. *Chinese Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 1997, 6(1): 4-8.
- [2] 雷红伟, 杨伟峰. 葛花对酒精性肝损伤保护作用的研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(2): 489-490.
Lei Hongwei, Yang Weifeng. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2010, 21(2): 489-490.
- [3] 梁赅, 詹莉, 汪晖, 等. 人参和枳椇子对小鼠乙醇急性中毒保护作用及其机制研究[J]. 医学新知杂志, 2006, 16(2): 82-83, 89.
Liang Gai, Zhan Li, Wang Hui, et al. *Journal of New Medicine*, 2006, 16(2): 82-83, 89.
- [4] 李雄. 枳椇子水提液对急性酒精中毒大鼠保护作用的实验研究[D]. 长沙: 中南大学, 2007.
Li Xiong. An experimental study of protective effect of hovenia dulcis thunb extracted liquid on acute alcoholism SD rats[D]. Changsha: Central South University, 2007.
- [5] 江正辉, 王泰龄. 酒精性肝损伤[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001.
Jiang Zhenghui, Wang Tailing. *Alcoholic liver disease*[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2001.
- [6] 辛晓林. 四氧嘧啶对小鼠肝指数和 MDA 含量的影响 [J]. 青海师范大学学报: 自然科学版, 2001(1): 53-54.
Xin Xiaolin. *Journal of Qinghai Normal University: Natural Science Edition*, 2001(1): 53-54.
- [7] 姚美村, 廖祎婷, 袁月梅, 等. 葛花不同工艺提取物的异黄酮成分含量比较研究[J]. 中国野生植物资源, 2010, 29(6): 33-37.
Yao Meicun, Liao Yiting, Yuan Yuemei, et al. *Chinese Wild Plant Resources*, 2010, 29(6): 33-37.
- [8] Keung W M, Lazo O, Kunze L, et al. Potentiation of the bioavailability of daidzin by an extract of *Radix puerariae*. [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1996, 93(9): 4284-4288.
- [9] McGregor N. *Pueraria lobata* (Kudzu root) hang-over remedies and acetaldehyde-associated neoplasms[J]. *Alcohol*, 2007, 41: 469-478.
- [10] 巫协宁. 临床肝胆系病学[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2002.
Wu Xiening. *Liver and biliary diseases*[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Literature Publishing House, 2002.
- [11] 夏小方, 周光耀. 保肝汤对大鼠酒精性肝损伤治疗的实验研究[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(5): 1095-1097.
Xia Xiaofang, Zhou Guangyao. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 2010, 28(5): 1095-1097.
- [12] 尹家乐, 李心, 张士侠, 等. 白首乌 C21 甾体酯苷对小鼠急性四氯化碳肝损伤的保护作用[J]. 安徽医药, 2007, 11(3): 195-200.
Yin Jiale, Li Xin, Zhang Shixia, et al. *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal*, 2007, 11(3): 195-200.
- [13] 权启镇, 孙自勤, 王要军. 新肝脏病学 [M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2003.
Quan Qizhen, Sun Ziqin, Wang Yaojun. *New hepatology* [M]. Jinan: Shandong Science and Technology Press, 2003.
- [14] 王宝恩, 张定凤. 现代肝脏病学[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
Wang Baoen, Zhang Dingfeng. *Modern hepatology* [M]. Beijing: Science Press, 2003.

(责任编辑 吴晓丽)