

葛花对酒后血中乙醇浓度和肝中乙醇脱氢酶活性的影响

李萍¹, 钟赣生²

1. 艾美仕市场调研咨询(上海)有限公司北京分公司, 北京 100020
2. 北京中医药大学基础医学院, 北京 100029

摘要 为了探讨葛花对急性酒精中毒的防治作用, 将雄性小鼠随机分为空白组、模型组、葛花提取物组。给药 30 min 后, 模型组与葛花组灌酒 0.10 mL/10 g⁻¹, 在灌酒后 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 h 分别摘眼球取血和取肝组织。采用生化酶法测定小鼠酒后不同时间内血中乙醇浓度和肝中乙醇脱氢酶(ADH)活性。结果显示, 小鼠血中乙醇浓度在酒后 0.5~2 h 达到高峰, 与模型组相比, 葛花提取物组 0.5~3 h 内的血中乙醇浓度数值降低。葛花提取物组对小鼠酒后 0.5~1 h 肝中 ADH 的影响较为明显, 使其活性增加; 酒后 1.5~3 h 肝中 ADH 活性虽然也增强, 但与模型组比较无显著差异。结果显示, 葛花提取物可降低酒后血中乙醇浓度, 增强肝中 ADH 活性, 其机制可能是通过抑制消化道对乙醇的吸收, 从而起到有效的降醇解酒作用。

关键词 葛花; 酒精中毒; 解酒; 乙醇浓度; 乙醇脱氢酶活性

中图分类号 R285.5

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2009)23-0082-04

Effects of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi on Alcohol Content in Blood and Activity of Alcohol Dehydrogenase (ADH) of Animals After Drinking Alcohol

LI Ping¹, ZHONG Gansheng²

1. IMS Marketing Research Consulting (shanghai) Co. Ltd. Beijing Branch, Beijing 100020, China
2. College of Preclinical Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract To observe the effect of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi on relief of alcohol toxicity by animal experiments, female NIH mice were ovariectomized and randomly divided into 5 groups. The animal models of acute alcoholism were duplicated by force-feeding them with liquor "er guo tou". The influence of aqueous extract of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi on the alcohol concentration in blood within 0.5~3 hours was studied by methods of biochemistry.

The alcohol concentration in blood took the highest value in 0.5~1.5 hours. Compared to the model group, the alcohol concentration in blood for the group of aqueous extract of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi is decreased in 0.5~3 hours; the activity of ADH in the liver is increased in 2~3 hours ($P>0.05$), while it is significantly increased in the first 0.5~1 hours ($P<0.05$). The aqueous extract of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi could reduce the alcohol concentration in blood of animals after being fed with alcohol and increase the activity of ADH. It relieves alcohol toxicity and prevents drunkenness by restraining the absorption of alcohol in the gastrointestinal tract and promoting the metabolism of alcohol in the liver.

Keywords *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi; alcoholism; relieving alcohol; alcohol concentration; activity of alcohol dehydrogenase

0 引言

中药葛花是一味传统的以解酒为主要功效的解酒专药。其味甘性凉。自《名医别录》记载其具“消酒”功效以后, 历代本草方书多以此为解酒之专药而极少用于其他疾病的治疗。金元医家李杲在其名著《脾胃论》中载“葛花解酲汤”, 因疗效卓越, 至今仍作为解酒的代表方, 为临床治疗醉酒、酒病所常用。而《滇南本草》将葛花专列一条, 谓其“解酒醒脾, 酒毒酒痢, 饮

收稿日期: 2009-09-25

作者简介: 李萍, 研究方向为葛花解酒的实验学研究, 电子信箱: liping_1031@sohu.com; 钟赣生(通信作者), 教授, 研究方向为醉酒灵对急性酒精中毒的药效学研究, 电子信箱: zhonggansheng@sohu.com

食不思,胸膈饱胀发呃,呕吐酸痰,酒毒伤胃,吐血呕血。消热,解酒毒。”从古至今,以葛花为主药的解酒方多不胜数,葛花不仅可以治疗饮酒过量的醉酒急症,对于酒毒蓄积体内,损伤血脉引起的吐血、呕血等酒病重证亦可治疗。

有文献报道葛花对小鼠急性酒精中毒有治疗作用,它能降低体内乙醇浓度,降低乙醇毒性,并使乙醇过量造成的小鼠死亡率降至 10%,还可大幅降低乙醇中毒小鼠血清 ALT、AST 的活性,改变小鼠因醉酒而引起的定向力降低^[1],对急性酒精中毒所致小鼠肝损伤有预防作用^[2],并能显著提高小鼠肝脏乙醇脱氢酶的活性^[3-4]。而本研究采用动态连续观察的方法,进一步研究葛花对乙醇在体内吸收和分解过程的影响,探讨葛花解酒的药效及作用机制,便于对葛花的进一步开发利用,以及为中医药治疗急性酒精中毒提供可信依据。

1 材料与方法

1.1 动物

NIH 雄性小鼠,体重 18~22 g,由卫生部生物制品研究所动物室提供。

1.2 药材制备

葛花,购自北京市东四同仁堂参茸药店,产地为河南省,经北京中医药大学基础医学院中药教研室鉴定,为豆科植物野葛(*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi)的花。

药材葛花以 10 倍量 60%乙醇浸泡 12 h,回流提取 2 次,第一次为 2 h,第二次为 1 h。回流完毕,过滤,收醇,浓缩,真空干燥,研细,过 40 目筛,置于阴凉干燥处保存。使用时,葛花提取物加蒸馏水配制成所需浓度的溶液使用。其中,高、中、低剂量制剂含生药分别为 0.8、0.4 和 0.2 g/mL,相当于成人用量的 20、10 和 5 倍。

1.3 实验方法

1.3.1 对急性酒精中毒小鼠血中乙醇浓度的影响

1.3.1.1 制作乙醇标准曲线

1) 小鼠摘眼球取血,放入用肝素钠抗凝的试管内。从每管中取出 0.25 mL,配成乙醇含量分别为 250、500、750、1 000 和 1 500 mg/L 的溶液。

2) 上述每管各加 3.4%高氯酸 4 mL,混匀,于 3 000 r/min 离心 5 min,上清液作为标准液。

3) 取 6 个试管,分别加入乙醇脱氢酶(ADH)-氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)液 4.9 mL;继续往其中一个加蒸馏水 0.1 mL,作为对照,其余 5 个各加 0.1 mL 标准液,室温放置 60 min。用 752-C 紫外-可见分光光度计(上海第三分析仪器厂)于 340 nm 测上述各管吸光度,绘制标准曲线^[5](见表 1 和图 1)。

回归方程为 $C=1179.24-10.644;r=0.9978$ 。

1.3.1.2 样品测试

小鼠 300 只,随机分为 6 组(按时间段动态观察组),每组 50 只,再均分为空白组,模型组,葛花高、中、低剂量组。实验前 12 h 禁食不禁水。实验时,空白对照组按 0.20 mL·10 g⁻¹ 给

表 1 乙醇标准曲线
 Table 1 Alcohol concentration standard curve

乙醇浓度/(mg·dL ⁻¹)	吸光度
0	0
100	0.107
200	0.172
300	0.266
400	0.354
600	0.512

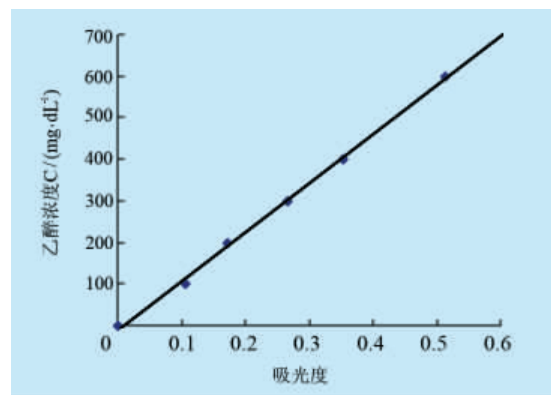


图 1 乙醇标准曲线

Fig. 1 Alcohol concentration standard curve

予生理盐水,模型组给予等量生理盐水,葛花高、中、低剂量组按 0.1 mL·10 g⁻¹ 分别给予不同浓度葛花提取物。30 min 后,模型组与葛花组分别灌酒 0.10 mL·10 g⁻¹。6 大组小鼠分别在灌酒后 0.5、1、1.5、2、2.5 和 3 h 摘眼球取血(肝素钠抗凝)。在取血同时另取左肝叶边缘肝脏组织备用,大小为 2 mm×2 mm×2 mm(空白对照组小鼠只摘取肝脏组织备用)。从每管抗凝血中取出 0.25 mL,加生理盐水 0.75 mL,以后各步骤同制作标准曲线的步骤 2)~3)。根据吸光度值,用标准曲线求出各样品的乙醇含量(mg/dL)。

1.3.2 对急性酒精中毒小鼠肝中乙醇脱氢酶活性的影响

用生理盐水冲洗上述实验取出的肝脏,滤纸吸净后称重,在冰浴中用玻璃匀浆器制备匀浆,3 000 r/min 低温离心 5 min,上清液备检测。在 1 cm 比色杯内加 0.002 1 mol/L NAD 2.8 mL,空白管加蒸馏水 0.2 mL,样品管加 0.3 mol/L 乙醇和上清液各 0.1 mL,混匀后于 340 nm 测上述各管吸光度,观测其 5 min 内变化率 $\Delta A/\text{min}$ 。

ADH 活性计算^[6]

ADH 活性(U·g⁻¹)/肝组织=

$$\frac{\Delta A/\text{min}}{a_m \cdot l} \cdot \frac{3}{0.1} \times 10^6 / \frac{\text{肝重}(g)}{\text{肝匀浆体积}(mL)} \times 10^3$$

式中, a_m 为摩尔消光系数,NADH 的 $a_m=6.22 \times 10^3$, l 为比色杯厚度(1 cm)。

1.3.3 数据处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 11.0 统计软件进行方差分析。

2 结果

2.1 对急性酒精中毒小鼠血中乙醇浓度的影响

与模型组相比,酒后 0.5 h,低剂量组无显著性差异 ($P>0.05$);中、高剂量组降低,有显著性差异 ($P<0.05,P<0.01$)。酒后 1 h,低剂量组无显著性差异 ($P>0.05$);中、高剂量组均降低,有显著性差异 ($P<0.05,P<0.01$)。酒后 1.5 h,低、中、高剂量组均降低,有显著性差异 ($P<0.05,P<0.01,P<0.001$)。酒后 2 h,低、中、高剂量组均降低,有显著性差异 ($P<0.01,P<0.001,P<0.001$)。酒后 2.5 h,低、中、高剂量组均降低,有显著性差异 ($P<0.001,P<0.001,P<0.001$)。酒后 3 h,低、中、高剂量组均降低 ($P<0.05,P<0.001,P<0.001$) (见图 2 和表 2)。

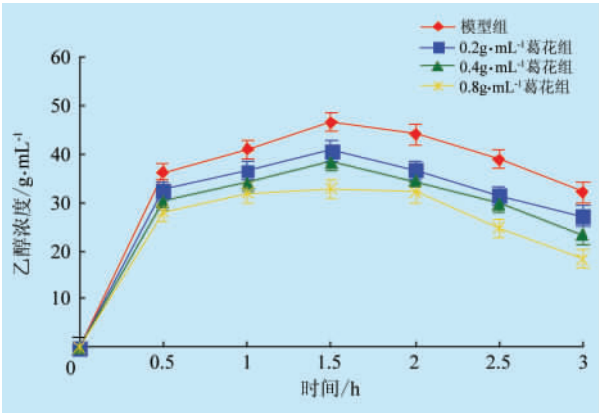


图 2 急性酒精中毒小鼠血中乙醇浓度-时间曲线
Fig. 2 Blood alcohol concentration-time curve of acute alcoholism mice

表 2 不同组急性酒精中毒小鼠血中乙醇浓度 (单位: $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
Table 2 Blood alcohol concentration of acute alcoholism mice (unit: $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

时间/h	模型组	0.2 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 葛花组	0.4 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 葛花组	0.8 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 葛花组
0	0	0	0	0
0.5	36.1±5.45	32.5±6.03	30.2±5.95*	28±5.87**
1.0	41±6.22	36.5±4	34±4.77*	31.9±4.01**
1.5	46.6±5.45	40.7±4.06*	38.4±3.2**	32.8±4.65***
2.0	44±5.18	36.7±5.21**	34.4±4.67***	32±4.24***
2.5	38.8±2.84	31.4±3.85***	29.7±4.01***	24.6±3.82***
3.0	32±4.01	27.2±5.08*	23.3±5.38***	18.2±4.52***

注: * 为有显著性差异 ($P<0.05$), ** 为显著性差异 ($P<0.01$), *** 为极显著性差异 ($P<0.001$)。
Notes: *, difference with significance ($P<0.05$); **, difference with significance ($P<0.01$); ***, difference with significance ($P<0.001$).

2.2 对急性酒精中毒小鼠肝中乙醇脱氢酶活性的影响

分别测定酒后 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 和 3 h 小鼠肝中 ADH 活性。酒后 0.5 h, 与空白组比较, 模型组肝中 ADH 活性升高, 有显著性差异 ($P<0.05$); 与模型组比较, 不同浓度葛花提取物组肝中 ADH 活性升高, 中、低剂量组无显著性差异 ($P>0.05$); 高剂量组有显著性差异 ($P<0.001$)。酒后 1 h, 与空白组比较, 模型组肝中 ADH 活性明显升高, 有显著性差异 ($P<0.05$); 与模型组比较, 不同浓度葛花提取物组肝中 ADH 活性升高, 中、低剂量组无显著性差异 ($P>0.05$); 高剂量组有显著性差异 ($P<0.001$)。酒后 1.5 h, 与空白组比较, 模型组肝中 ADH 活性明显升高, 有显著性差异 ($P<0.01$); 与模型组比较, 不同浓度葛花提取物组肝中 ADH 活性升高, 但无显著性差异 ($P>0.05$)。酒后 2 h, 与空白组比较, 模型组肝中 ADH 活性明显升高, 有显著性差异 ($P<0.05$); 与模型组比较, 不同浓度葛花提取物组肝中 ADH 活性升高, 但无显著性差异 ($P>0.05$)。酒后 2.5 h, 与空白组比较, 模型组肝中 ADH 活性明显升高, 有显著性差异 ($P<0.05$); 与模型组比较, 不同浓度葛花提

取物组肝中 ADH 活性无显著性差异 ($P>0.05$)。酒后 3 h, 与空白组比较, 模型组肝中 ADH 活性明显升高, 有显著性差异 ($P<0.05$); 与模型组比较, 不同浓度葛花提取物组肝中 ADH 虽然有所升高, 但无显著性差异 ($P>0.05$) (见图 3 和表 3)。

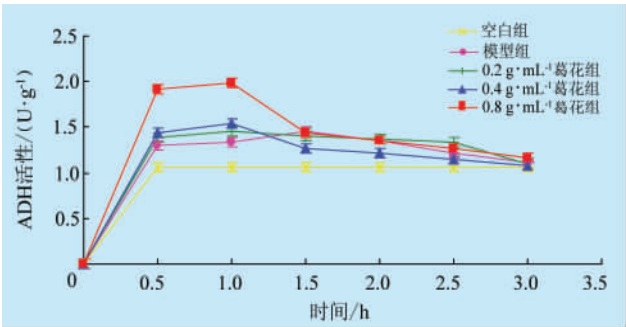


图 3 急性酒精中毒小鼠肝中乙醇脱氢酶活性变化曲线
Fig. 3 Change curve of ADH activity in liver acute alcoholism mice

