

玄参中苯丙素苷对肝细胞损伤保护作用的研究

孙奎¹, 姜华² (1. 第四军医大学吉林军医学院基础部生化教研室, 吉林市 132013; 2. 第二军医大学基础部新药评价中心, 上海 200433)

摘要 目的:研究苯丙素苷对肝细胞损伤的保护作用。**方法:**通过 D-氨基半乳糖造成体外和体内肝细胞损伤, 观察苯丙素苷对肝细胞存活率、LDH、ALT 和 AST 的影响。**结果:**苯丙素苷在体外能提高肝原代培养细胞的存活率, 降低 LDH 水平。在体内能降低肝衰竭大鼠 ALT 和 AST 水平。**结论:**苯丙素苷对 D-氨基半乳糖造成肝细胞损伤具有明显的保护作用。

关键词 苯丙素苷; D-氨基半乳糖; LDH; ALT; AST

中图分类号: R96 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2002)04-0234-02

The protective activity to hepatocytes of phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia Ningpoensis*

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the hepatoprotective activity of phenylpropanoid glycosides **METHODS:** The hepatocytes injury was induced by D-Gal in vivo and vitro and the cell survival rate, LDH, ALT, AST were measuremented. **RESULTS:** phenylpropanoid glycosides can elevated the survival rate of hepatocytes and inhibition the LDH leakage to medium in vitro. It also can suppress the elevation of serum ALT and AST induced by D-Gal in vivo. **CONCLUSION:** phenylpropanoid glycosides have significant protective effect to hepatocytes injury induced by D-Gal.

KEY WORDS phenylpropanoid glycosides; D-Gal; LDH; ALT; AST

玄参属 (*Scrophularia L.*) 是玄参科 (*Scrophulariaceae*) 的一个大属, 世界上共有 200 种以上, 分布于欧、亚大陆的温带, 地中海地区尤多, 美洲只有少数种, 我国约有 40 种^[1]。玄参属植物有许多作为民间药物治疗各种疾病, 常用于治疗热病烦渴、发斑、齿龈炎、扁桃体炎等疾病。国内对其抗菌、抗炎、抗血小板聚集等药理作用都有报道^[2], 而对其保护肝脏的作用未见报道。本研究主要观察其对 D-氨基半乳糖造成肝损伤的保护作用。

1 材料和方法

1.1 动物和试剂

SD 大鼠, 体重 220 ~ 250g, 由第二军医大学实验动物中心提供。D-氨基半乳糖由重庆医科大学提供。

1.2 玄参单体成分的提取与分离

10kg 玄参根 (采自浙江) 粗粉经 95%, 60% 乙醇回流提取后, 减压浓缩, 浓缩液加水后分别用乙醚及正丁醇萃取, 再经大孔吸附树脂柱, 硅胶柱层析。

Sephadex-LH₂₀ 柱层析及 C₁₈ 反相柱色谱等步骤, 分得单体化合物。

1.3 大鼠肝原代细胞培养^[3]

大鼠断头处死, 取出肝脏, 用 1640 培养基反复冲洗, 然后制成单细胞悬液, 离心, 细胞用培养基洗 2 ~ 3 次, 最后收集细胞约 $1.5 \times 10^4 \cdot \text{ml}^{-1}$ 接种于 96 孔培养板中。

1.4 D-氨基半乳糖对肝原代培养细胞的毒性作用

肝原代细胞培养 2h 后, 加入含有 2mM D-氨基半乳糖的培养基, 同时加入不同浓度的玄参提取物, 培养 24h, 用常规法测定 LDH, 用 MTT 法^[4] 测定细胞的存活率。

1.5 D-氨基半乳糖肝衰竭模型的制备及玄参提取物的治疗作用

取健康 SD 大鼠, 随机分成 3 组, 一组腹腔注射生理盐水, 另两组均腹腔注射 $600\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 D-氨基半乳糖, 此两组饲养 12 h 后, 一组腹腔注射

10mg · kg⁻¹ 玄参提取物,另一组作为对照注射生理盐水进行治疗,再饲养 12 h 后大鼠眼球取血,分离血清,用常规法测血清谷丙转氨酶(ALT)和天门冬酰基转氨酶(AST)。

1.6 数据处理

数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。统计学处理采用方差分析。

2 结果

2.1 化合物的结构鉴定

通过各种层析方法,共分得 11 种玄参主要水溶性成分,运用多种光谱方法鉴定了它们的结构,其中 6-O-反式肉桂酰基-1-O-a-D 呋喃葡萄糖、4-O-咖啡

酰基-3-O-a-L-吡喃鼠李糖基-D-吡喃葡萄糖、angtoside、cistanoside、cistanoside、acteoside、decaffeoylacteoside 等为苯丙素苷,本研究用 acteoside 成分进行药理试验。

2.2 acteoside 对 D-氨基半乳糖造成的肝原代培养细胞中毒的影响

肝原代培养细胞加入 D-氨基半乳糖后,细胞存活率降低,而培养液中 LDH 浓度升高,加入不同浓度 acteoside 后,细胞存活率明显提高,当 acteoside 浓度达到 200 μM 时,LDH 浓度也有非常显著下降。具体结果见表 1。

表 1 acteoside 对 D-氨基半乳糖致肝原代培养细胞中毒的保护作用

Tab 1 Protective effects of acteoside on D-galactosamine-induced cytotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Group	Concentration (μM)	Cell survival rate (% of normal)	LDH in medium (% of normal)
Norma Control	—	100.0 ± 6.5	61.2 ± 12.4
	50	43.7 ± 6.8	100.0 ± 9.8
	100	52.3 ± 3.3 *	96.5 ± 5.3
	200	60.2 ± 8.1 **	94.3 ± 6.9
		87.3 ± 7.5 **	73.2 ± 6.7 **

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs control

2.3 acteoside 对肝衰竭大鼠血清 ALT 和 AST 的影响

肝衰竭大鼠经 HSS 治疗后,血清 ALT 和 AST 水平较对照组有明显下降(表 2),说明 acteoside 对 D-氨基半乳糖肝造成的肝损伤有一定的治疗作用。

表 2 acteoside 对肝衰竭大鼠血清中 ALT 和 AST 的影响

Tab 2 Effects of acteoside on the level of serum ALT and AST in rats with liver failure($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Group	ALT(λ _B /U. ml ⁻¹)	AST(λ _B /U. ml ⁻¹)
normal	16.3 ± 2.7	17.5 ± 3.2
D-Gal	60.1 ± 5.6	58.3 ± 6.2
A + D-Gal	28.7 ± 3.4 **	32.1 ± 4.5 **

** P < 0.01 vs D-Gal Group

3 讨论

D-氨基半乳糖能选择性地破坏肝细胞中的尿苷酸,阻止蛋白的合成和转运,导致肝细胞的坏死,因此 D-氨基半乳糖诱导的肝细胞损伤常作为寻找保护肝脏药物的模型。玄参中 acteoside 成分在体外能明显提高受损伤肝细胞的存活率,达到一定浓度

时还能降低 LDH 水平。在体内能显著降低肝衰竭大鼠的 AST、ALT 水平,证明其对肝脏具有很好的保护作用。

玄参属的中药多具有清热解毒作用,民间常用于治疗肝炎。Oarg 等在硫乙酰氨(TAA)诱导的大鼠肝损伤模型中,发现玄参的氯仿提取物,以及进一步分离的某些成分有较好的保肝作用。本研究则证明了玄参中苯丙素苷对肝损伤的保护作用。

参考文献:

[1] 中科院植物研究所. 中国植物志(67 卷) [M]. 第 2 分册. 北京:科学出版社,1997:46.
 [2] 李医明,蒋山好,朱大元. 玄参属植物化学成分与药理活性研究进展[J]. 中草药,1999,30(4):307.
 [3] Williams GM. Detection of chemical carcinogens by unscheduled DNA synthesis in rat liver primary cell cultures [J]. Cancer Res. 1977,37(6):1845.
 [4] Szabo C, Aalzman A L. Endogenous peroxynitrite is involved in the inhibition of mitochondrial respiration in immuno-stimulated [J]. Biochem Biophys Res Commun. 1995,209:739.