

## 复方茵虎汤对实验性肝损伤的保护作用

公衍玲<sup>1</sup>, 王宏波<sup>2</sup> (1. 青岛科技大学化工学院药理学系, 山东 青岛 266042 2 山东省即墨市人民医院, 山东 即墨 266200)

**摘要** 目的: 本实验研究复方茵虎汤(复方茵虎汤)对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用。方法: 以腹腔注射四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)建立小鼠肝损伤模型, 以复方茵虎汤作为受试药物, 以联苯双酯作为阳性对照药物, 以肝指数(LI)、血清中谷氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、肝组织匀浆中超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)水平为检测指标, 观察复方茵虎汤对肝损伤的保护作用。结果: 复方茵虎汤能够明显降低CCl<sub>4</sub>致小鼠肝损伤血清中ALT和AST水平, 升高肝组织中SOD水平, 降低肝组织中MDA水平, 减轻四氯化碳对肝脏细胞的病理损伤。结论: 复方茵虎汤对CCl<sub>4</sub>致小鼠急性肝损伤有一定的保护作用。

**关键词** 复方茵虎汤; 作用; 茵陈; 虎杖; 四氯化碳; 急性肝损伤

中图分类号: R289.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2009)02-0123-03

## Protective effect of compound Y inhu decoction on experimental liver injury

GONG Yan-ling<sup>1</sup>, WANG Hong-bo<sup>2</sup> (1. Pharmaceutical department College of Chemical Engineering Qingdao University of Science and Technology Qingdao 266042, China 2. Jin o of People's hospital, Jin o 266200, China)

**ABSTRACT Objective** To observe the protective effect of Compound Y inhu decoction on acute liver injury induced by carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) in mice. **Methods** Acute liver injury was established by intraperitoneal injection of CCl<sub>4</sub>. Compound Y inhu decoction was tested as subjects drug and bifendate as a positive control drug. The liver index (LI), the levels of serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), the superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) levels in the liver tissue were measured and the protective effect of Compound Y inhu decoction on liver injury was observed. **Results** Compound Y inhu decoction could significantly reduce serum ALT and AST levels, increase liver SOD level and decrease liver MDA level. It could also reduce the liver cell morphological injury. **Conclusions** Compound Y inhu decoction has some protective effect on acute liver injury induced by CCl<sub>4</sub> in mice.

**KEY WORDS** Compound Y inhu decoction effect; *Herba Artemisiae Scopariae*; *Rhizoma Polygoni Cuspidati*; carbon tetrachloride; acute liver injury

复方茵虎汤是民间常用验方, 由茵陈、虎杖、车前子、郁金组成。该方中茵陈具有清热利湿、利胆退黄之功效, 虎杖具有利湿退黄、清热解毒、活血行瘀等功能<sup>[1-4]</sup>。有学者应用该方治疗黄疸型肝炎取得了满意的疗效, 但关于该方的实验研究目前尚未见报道。本实验拟通过建立小鼠 CCl<sub>4</sub> 肝损伤模型, 检测复方茵虎汤对化学性肝损伤小鼠肝脏指数、血清谷氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)、肝组织匀浆中超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)水平的影响及肝组织病理改变, 以期为复方茵虎汤的临床疗效提供理论依据, 并初步探讨其作用机制。

### 1 材料与方法

作者简介: 公衍玲(1975), 女, 讲师。Tel (0532) 84023884 E-mail hanyu\_m@126.com

**1.1 实验药物** 复方茵虎汤由茵陈 50 g 虎杖 15 g 车前子 10 g 郁金 10 g 组成。茵陈、虎杖购自陇西县民安中药材饮片公司, 车前子、郁金购自安国市中药饮片厂。按处方比例水提取, 提取液浓缩至稠膏(1 g 生药 / mL), 4℃备用。联苯双酯滴丸, 批号 060801, 德州德药制药有限公司。

**1.2 主要试剂** 四氯化碳(CCl<sub>4</sub>) (批号 20061225 莱阳市康德化工有限公司); 2,4-二硝基苯胍(AR) (批号 20020925), 上海三爱思试剂有限公司; DL-丙氨酸(批号 011013 山东省济宁市化工研究所); 丙酮酸钠(批号 20050416 中国惠生化试剂有限公司); α-酮戊二酸(批号 200612 上海试剂三厂); SOD、MDA 和总蛋白定量测试药盒(批号 20070315 南京建成生物工程研究所)。其它试剂均为市售分析纯。

**1.3 实验动物** 昆明种小鼠 18~25 g 雌雄各半, 共 60 只, 由青岛市药检所提供。

**1.4 实验方法** 取小鼠 60 只, 称重, 随机分为 6

组,即正常对照组、模型组、联苯双酯阳性对照组、茵虎汤小、中、大剂量组,每组 10只。正常对照组及模型组灌胃 0.9% NaCl 0.2 mL/10 g 联苯双酯组给予等量联苯双酯,茵虎汤小、中、大剂量组分别给予复方茵虎汤 0.1、0.2和 0.3 mL/10 g 均为 1次/d,各组连续灌胃 7 d 于最末一次给药后 1 h 除正常对照组腹腔注射 0.9% NaCl 0.1 mL/10 g 外,其余各组均腹腔注射 0.1%  $CCl_4$  花生油溶液 0.1 mL/10 g 禁食不禁水,16 h 后摘眼球取血处死,3 000 r/min 离心 10 min 分离血清待 ALT 和 AST 测定。小鼠处死后立即解剖取出肝脏,用滤纸吸干血液,称重,记录,计算肝脏指数。取肝右叶相同部位的一小块肝组织于甲醛溶液中固定待做肝组织切片进行病理改变观察。剩余肝组织制备 10% 肝组织匀浆,待 SOD 和 MDA 检测。

肝脏指数的计算: 肝脏指数 (%) = 肝脏重量 (g) / 体重 (g) × 100%; ALT 和 AST 活性测定按文献<sup>[5]</sup>操作; SOD 活性和 MDA 测定按试剂盒说明书操作; 肝组织病理学检查,按常规固定,石蜡包埋,超薄切片,HE 染色,光镜下观察。

**1.5 数据统计处理** 实验数据以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。应用 SPSS 13.0 统计软件对实验结果采用方差分析处理,  $P < 0.05$  认为组间差异具有显著性,  $P < 0.01$  认为组间差异具有高度显著性。

## 2 实验结果

**2.1 复方茵虎汤对  $CCl_4$  致肝损伤小鼠的肝指数的影响** 见表 1。

表 1 复方茵虎汤对  $CCl_4$  致肝损伤小鼠的肝指数的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量 (mL/10 g)	肝脏指数 (%)
正常对照组	—	4.70 ± 0.50
模型组	—	6.11 ± 0.57 <sup>1)</sup>
联苯双酯组	0.2	5.35 ± 0.58 <sup>2)</sup>
茵虎汤小剂量组	0.1	5.66 ± 0.53
茵虎汤中剂量组	0.2	5.52 ± 0.65 <sup>3)</sup>
茵虎汤大剂量组	0.3	5.72 ± 0.57

<sup>1)</sup>  $P < 0.01$  与正常对照组比较; <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  <sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , 与模型组比较。

结果显示,各组肝指数具有高度显著性差异 ( $P < 0.01$ )。与正常组比较,模型组肝指数增大且二者之间的差异具有高度显著性 ( $P < 0.01$ ),说明  $CCl_4$  可造成小鼠肝肿大。与模型组相比,复方茵虎汤中剂量组肝指数明显减小 ( $P < 0.05$ ),说明一定剂量的复方茵虎汤可降低肝指数。

**2.2 复方茵虎汤对  $CCl_4$  致肝损伤小鼠的血清 ALT**

和 AST 的影响 见表 2。

表 2 复方茵虎汤对  $CCl_4$  致肝损伤小鼠的血清 ALT 和 AST 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量	ALT 水平 (U/L)	AST 水平 (U/L)
正常对照	—	14.42 ± 3.93	103.98 ± 8.0
模型组	—	170.05 ± 12.75 <sup>1)</sup>	218.69 ± 16.5 <sup>1)</sup>
联苯双酯组	0.2	99.94 ± 27.57 <sup>2)</sup>	169.10 ± 19.3 <sup>2)</sup>
茵虎汤小剂量组	0.1	126.68 ± 8.08 <sup>2)</sup>	171.50 ± 8.6 <sup>2)</sup>
茵虎汤中剂量组	0.2	119.87 ± 12.65 <sup>2)</sup>	114.70 ± 17.5 <sup>2)</sup>
茵虎汤大剂量组	0.3	131.25 ± 10.17 <sup>2)</sup>	204.20 ± 14.6 <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>  $P < 0.01$  与空白对照组比较; <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  <sup>3)</sup>  $P < 0.05$  与模型组比较。

结果显示,与正常对照组比较,模型组小鼠血清中 ALT 和 AST 水平明显增大 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较,联苯双酯组血清中 ALT 和 AST 值明显减小 ( $P < 0.01$ ),复方茵虎汤各剂量组血清中 ALT 和 AST 值也有不同程度的降低,与模型组相比差异有显著性 ( $P < 0.05$ ),其中以中剂量组作用最强 ( $P < 0.01$ )。

**2.3 复方茵虎汤对  $CCl_4$  致肝损伤小鼠的肝组织 SOD 和 MDA 的影响** 见表 3。

表 3 复方茵虎汤对  $CCl_4$  致肝损伤小鼠的肝组织 SOD 和 MDA 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量	SOD 活力 (U/mgprot)	MDA 水平 (nmol/mgpro)
正常对照组	—	226.62 ± 88.35	0.965 ± 0.19
模型组	—	60.52 ± 17.49 <sup>1)</sup>	1.72 ± 0.47 <sup>1)</sup>
联苯双酯组	0.025 g/kg	137.51 ± 33.74 <sup>2)</sup>	1.18 ± 0.34 <sup>2)</sup>
茵虎汤小剂量组	0.125 mL/10g	80.92 ± 17.02 <sup>2)</sup>	1.20 ± 0.18 <sup>2)</sup>
茵虎汤中剂量组	0.25 mL/10g	104.60 ± 40.65 <sup>2)</sup>	1.15 ± 0.13 <sup>2)</sup>
茵虎汤大剂量组	0.5 mL/10g	112.80 ± 34.09 <sup>2)</sup>	1.20 ± 0.15 <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>  $P < 0.01$  与空白对照组比较; <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  <sup>3)</sup>  $P < 0.05$  与模型组比较。

结果显示,与正常组比较,模型组 SOD 活性显著降低,MDA 水平显著升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较,联苯双酯组 SOD 活性显著升高 ( $P < 0.01$ ),MDA 水平明显下降 ( $P < 0.05$ ); 复方茵虎汤各剂量组 SOD 活性显著升高 ( $P < 0.01$ ),且呈现出一定的剂量依赖关系; 复方茵虎汤各剂量组 MDA 水平均降低 ( $P < 0.05$ ),各剂量组之间无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

**2.4 复方茵虎汤对  $CCl_4$  致肝损伤小鼠的肝组织病理的影响** 肝脏病理结果显示,正常组小鼠肝脏颜色正常,红色,湿润,有光泽,富于弹性; 光学显微镜下可见肝小叶结构完整,肝细胞排列整齐,肝细胞胞质丰富,含嗜碱性物质较多,核大而圆,核仁清晰。模型组的肝脏病理改变明显,肉眼可见灰黄色点状坏死灶,肝脏表面无光泽,质地稍脆; 光学显微镜下可见病变广泛存在,肝小叶结构破坏,肝细胞肿胀,

肝细胞变性,部分标本肝细胞坏死明显。联苯双酯组和复方茵虎汤各剂量组肝脏较模型组有明显改

观,肝小叶结构基本正常,肝细胞排列较整齐,肝细胞变性坏死明显减轻。

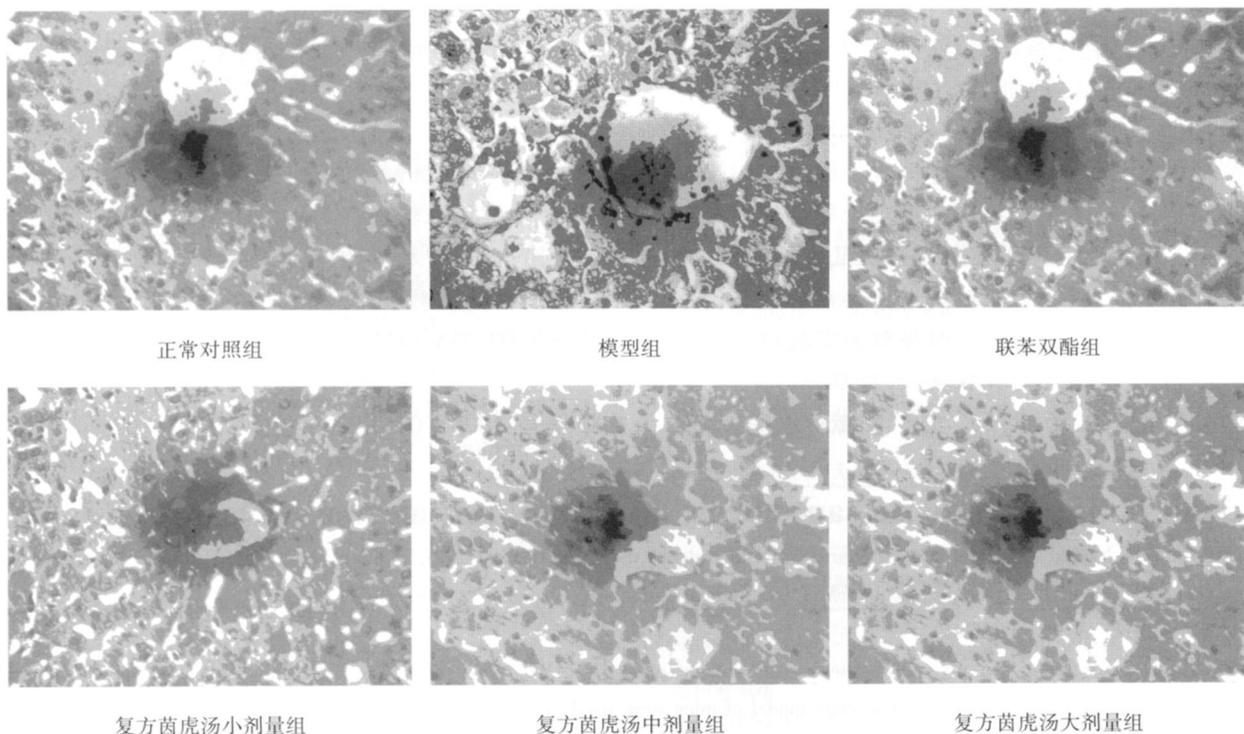


图 1 复方茵虎汤对  $CCl_4$  致肝损伤小鼠肝组织病理的影响 (HE染色, 400 $\times$ )

### 3 讨论

四氯化碳 ( $CCl_4$ ) 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。 $CCl_4$  经肝脏细胞色素 P450 激活, 生成三氯甲基自由基, 造成生物膜结构和功能损伤, 表现为肝小叶中央区肝细胞坏死脂变, 反应性增生, 脂质的过氧化反应可促进肝纤维化, 急性损伤小叶中央区见气球样变, DNA 片段及巨噬细胞提示细胞凋亡参与肝损伤<sup>[6,7]</sup>。因此,  $CCl_4$  是肝脏毒理学中研究的亲肝性毒物, 常用于制作肝损伤动物模型。

复方茵虎汤方中茵陈为君药, 具有清利湿热、退黄疸的功效; 虎杖为臣药, 具有清热利湿、活血祛瘀的功效; 郁金和车前子共为佐药, 可行气解郁、清肝明目、利胆退黄。上述诸药使用, 共奏清热利湿、利胆退黄之功效, 可用于湿热黄疸的治疗。

本实验研究发现, 模型组肝指数明显升高, 血清 ALT 和 AST 水平明显升高, 肝组织 SOD 水平下降, 肝组织 MDA 水平明显升高, 肝组织病理检查显示肝细胞损害, 说明成功建立了肝损伤动物模型。复方茵虎汤各剂量组对上述指标的变化均有不同程度

地抑制作用, 表现出对肝损伤的保护作用, 这种保护作用可能与其抑制脂质过氧化损伤作用有关。本研究为复方茵虎汤的临床应用提供了理论依据。但由于茵陈、虎杖等含有复杂的化学成分, 有必要对其保肝作用的有效成分、有效部位及配伍机理做进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 曹宜, 董自波, 朱荃. 茵陈蒿汤对小鼠肝损伤的保护作用 [J]. 浙江中医学院学报, 2002, 26(1): 41.
- [2] 谢韬, 梁敬钰, 刘净. 茵陈化学成分和药理作用研究进展 [J]. 海峡药学, 2004, 16(1): 8.
- [3] 裴莲花, 吴学, 金光洙. 虎杖化学成分及药理作用研究现状 [J]. 延边大学医学学报, 2006, 29(2): 147.
- [4] 刘蕾, 李丽, 张蕊, 等. 虎杖对小鼠  $CCl_4$  性肝损伤的保护作用 [J]. 黑龙江医药科学, 2001, 24(3): 20.
- [5] 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002 1346.
- [6] Shi J, Aisaki K, Kawa Y, et al. Evidence of hepatocyte apoptosis in rat liver after the administration of carbon tetrachloride [J]. Am J Pathol 1998, 153(2): 515.
- [7] 宋正己, 杨晋辉. 实验性肝损伤模型的建立和研究进展 [J]. 医学综述, 2004, 10(5): 278.