

龙胆对实验性肝损伤的影响

徐丽华 徐强*

(江苏省中药学校专业一室 镇江 212003,
*中国药科大学中药药理教研室 南京 210009)

提要 龙胆水提取物对四氯化碳 (CCl₄)、硫代乙酰胺、迟发型变态反应机制所致的小鼠肝损伤,有降低 SGPT 和 SGOT 的作用。口服龙胆后的小鼠血清与腹腔注射 CCl₄ 后的小鼠血清在体外温孵对后者的高 SGPT 活性无影响。龙胆对苯巴比妥钠所致正常小鼠的睡眠有协同作用,但对 CCl₄ 中毒小鼠则显著缩短苯巴比妥钠睡眠时间,及延长翻正反射消失的时间。龙胆还显著增加小鼠碳粒廓清速率。以上结果提示,龙胆水提取物具有明显的保肝作用,其机制似非直接抑制血清中转氨酶的活性,而可能与肝细胞膜保护作用、抑制在肝脏发生的免疫反应及促进吞噬细胞的吞噬功能或在肝损伤状态下刺激肝药酶的活性而加强对异物的处理等有关。

关键词 龙胆;肝损伤;保肝作用

龙胆为龙胆科植物龙胆 (*Gentiana scabra* Bge) 的根。现代药理研究证实具有保肝、利胆、抗菌、抗肿瘤等作用⁽¹⁾,作者的前报还发现龙胆能显著抑制 picryl chloride (PC) 所致的迟发型变态反应 (PC-DTH),其机制可能包括抑制效应 T 细胞的形成及淋巴因子的释放,但本身无抗炎作用⁽²⁾。本研究主要观察了龙胆对不同机制诱导的实验性肝损伤的影响,并对其保肝机制作了初步探讨。

1 材料

1.1 药品与试剂 龙胆 (*Radix Gentianae*, RG) 购自镇江丹徒药材公司,各用 10 倍量水煎煮 2 次,过滤,合并滤液,浓缩,得干燥提取物粉末,收率为 12.2%,实验所用剂量均按该粉末计算。联苯双酯 (广州兴华制药厂);苯巴比妥钠 (镇江医学院提供);2,4,6-三硝基氯苯 (picryl chloride, PC) (东京化成工业株式会社);硫代乙酰胺 (上海试剂二厂);氢化泼尼松 (上海第九制药厂)。

1.2 动物 4~6 周龄 (18~25g) 的昆明种小鼠,由镇江医学院及镇江市第二制药厂动物室提供。

2 方法

2.1 四氯化碳及硫代乙酰胺致小鼠肝损伤 给小鼠腹腔注射 0.2% CCl₄ 的橄榄油溶液 0.2ml/20g 体重或 0.5% 硫代乙酰胺水溶液 0.2ml/20g 体重, 16

小时后取血测 SGPT、SGOT 活性。

2.2 PC-DTH 机制致小鼠肝损伤⁽³⁾ 取小鼠,剃去腹部之毛,涂 1% PC 的乙醇溶液 100μl 致敏,5 天后以同样量再次致敏,再 6 天后用 0.5% PC 的橄榄油溶液 10μl 肝穿刺攻击,18 小时后眼眶取血,测 SGPT 和 SGOT 活性。

2.3 催眠试验 给小鼠腹腔注射苯巴比妥钠 120mg/kg,记录小鼠出现翻正反射消失的时间及睡眠时间 (自翻正反射消失至恢复)。

2.4 碳粒廓清试验 按文献⁽⁴⁾所述进行。

3 结果

3.1 对 CCl₄ 致小鼠肝损伤的影响

取小鼠,连续 5 天经口给予龙胆 50、100mg/kg、联苯双酯 150mg/kg。末次给药后立即注射 CCl₄。结果,与对照组相比,龙胆 50mg/kg、联苯双酯 150mg/kg 显著降低了 SGPT 和 SGOT 水平 (表 1)。

表 1 龙胆及联苯双酯对四氯化碳致小鼠肝损伤影响

组别	鼠数 (只)	剂量 (mg/kg)	SGPT (活力单位 u)	SGOT (活力单位 u)
对照	8		819±109.9	991±75.7
龙胆	8	50×5	719±75.2*	861±109.6**
龙胆	8	100×5	817±77.8	921±90.9
联苯双酯	8	150×5	634±123.2**	716±73.9***

$\bar{x} \pm SD$, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 (下同)

3.2 对硫代乙酰胺所致小鼠肝损伤的影响

取小鼠,连续5天经口给予龙胆50、100mg/kg,末次给药后立即注射硫代乙酰胺。结果,与对照组相比,两剂量组均显著抑制SGPT和SGOT活性(表2)。

表2 龙胆对硫代乙酰胺致肝损伤的影响

组别	鼠数 (只)	剂量 (mg/kg)	SGPT (活力单位u)	SGOT (活力单位u)
对照	8		472±65.4	551±85.4
龙胆	8	50×5	370±51.5**	412±71.3**
龙胆	8	100×5	392±67.8*	460±64.5*

3.3 对PC-DTH致小鼠肝损伤的影响

小鼠自PC致敏当天起,连续11天经口给予龙胆50、100mg/kg,联苯双酯200mg/kg。结果,龙胆50mg/kg显著降低了SGPT和SGOT水平,联苯双酯有一定的降低作用(表3)。

表3 龙胆及联苯双酯对PC-DTH所致小鼠肝损伤的影响

组别	鼠数 (只)	剂量 (mg/kg)	SGPT (活力单位u)	SGOT (活力单位u)
对照	8		622±107.6	680±116.1
龙胆	8	50×11	503±115.2*	426±45.7**
龙胆	8	100×11	597±166.9	589±106.7
联苯双酯	8	200×11	572±82.3	588±57.7*
正常	8		261±121.9	328±97.8

3.4 对正常小鼠SGPT活性的影响

取小鼠,连续5天经口给予龙胆,末次给药后2小时取血测SGPT活性。结果,正常对照小鼠SGPT值为224±65.2(u),龙胆50mg/kg组为222±73.2(u),龙胆100mg/kg组为290±51.1(u)。给药组与正常对照组无显著差异。

3.5 体外温孵试验

取小鼠,连续5天经口给予龙胆50mg/kg,末次给药后2小时取血,分离血清;另取小鼠,腹腔注射CCl₄(0.2%,0.2ml/20g),16小时后取血,分离血清。各取血清0.025ml单独及相互混合,置37°C水浴温孵1小时后测SGPT活性(u)。结果给药组(n=8)为230±67.4;CCl₄组(n=8)为770±51.3;给药组与CCl₄组混合血清为751±73.8。可见混合血清与CCl₄组血清GPT活性无明显差异。

3.6 对苯巴比妥钠催眠作用的影响

取小鼠,连续5天经口给予龙胆50、100mg/kg,

末次给药后注射CCl₄(0.2%,0.2ml/20g),16小时后腹腔注射苯巴比妥钠。结果,龙胆对正常小鼠有缩短翻正反射消失时间及延长睡眠时间;CCl₄中毒小鼠虽翻正反射消失时间有所缩短,但对睡眠时间无明显影响;而龙胆+CCl₄在显著缩短睡眠时间的同时,还显著延长翻正反射消失的时间(表4)。

表4 龙胆对苯巴比妥钠催眠作用的影响

组别	剂量 (mg/kg)	翻正反射消失 时间(分钟)	睡眠时间 (分钟)
对照		26.4±9.7	284.4±25.5
龙胆	50×5	19.4±2.5	350.3±29.8
CCl ₄		20.6±3.8	282.0±15.5
龙胆+CCl ₄	50×5	37.1±4.9*△△△	152.3±9.8△△△
龙胆+CCl ₄	100×5	32.0±5.1△△△	160.0±11.2△△△

n=8 与CCl₄组比较△△△P<0.001

3.7 对小鼠吞噬功能的影响

小鼠在注射碳粒前5天,分别经口给予龙胆50、100mg/kg、肌注氢化泼尼松10mg/kg。结果,龙胆50mg/kg组明显增加了小鼠碳粒廓清速率和吞噬指数;龙胆100mg/kg组也有增加趋势;氢化泼尼松组则呈现抑制作用(表5)

表5 龙胆及氢化泼尼松对小鼠碳粒廓清反应的影响

组别	剂量 (mg/kg)	碳廓清速率 (K×100)	吞噬指数 (α)
对照		4.34±1.02	5.07±1.08
龙胆	50×5	6.72±1.30	6.83±0.90**
龙胆	100×5	4.96±2.34	5.79±1.02
氢化泼尼松	10×5	3.67±0.32*	4.61±0.88

n=8

4 讨论

本研究结果表明,龙胆水提取物对CCl₄、硫代乙酰胺及PC-DTH机制所致的SGPT和SGOT活性的上升有显著的抑制作用,表明其对肝脏有保护作用。龙胆给药后的小鼠血清在体外与含高GPT活性的CCl₄中毒小鼠血清一起温孵对后者的GPT活性无影响,提示给予龙胆后血液中含有能直接抑制GPT活性的物质,即其保肝机制并非通过抑制血液中GPT的活性。

CCl₄进入体内后,主要产生脂质过氧化反应,引起细胞膜结构功能的损害,使细胞内转氨酶溢进出入血液,导致SGPT活性的升高;硫代乙酰胺则是干

扰 RNA 从胞浆的转运过程,并且也能产生脂质过氧化反应,引起细胞膜结构的改变⁽⁹⁾。PC-DTH 机制所致的肝损伤是作者首次以 DTH 机制诱发而建立的小鼠肝损伤模型,其成立与在肝脏局部发生的细胞免疫反应强度有关⁽³⁾,这种由细胞免疫机制引起肝损伤的机理与临床上肝炎,尤其是乙型肝炎的发病机理较为接近。龙胆对上述 3 种不同机制所致的肝损伤均能抑制转氨酶的上升,提示其具有肝细胞膜保护作用;对 PC-DTH 机制致肝损伤的保护作用则与其抑制 PC-DTH 的作用⁽²⁾有关。

此外,龙胆对正常小鼠有延长苯巴比妥钠睡眠的趋势,但在 CCl₄ 中毒小鼠对苯巴比妥钠所致睡眠则能显著延长翻正反射消失时间,缩短睡眠时间,提示龙胆虽无肝药酶诱导作用,但当肝细胞受损时能激发肝药酶的活性,加快对异物的代谢,从而有利于肝损伤的恢复。但其详细的机理尚不明了。龙胆还能显著促进小鼠对碳粒的廓清反应,提示其能促进小鼠的吞噬功能,加强对异物的处理。

以上结果表明,龙胆水提物具有明显的保肝作用,其机制可能包括:保护肝细胞膜,抑制在肝脏发生的特异性免疫反应,促进吞噬功能,及在肝损伤状态下刺激肝药酶的活性,加强对异物的代谢和处理等。

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院主编. 中药大辞典(上册). 上海:上海科技出版社, 1985: 774
- 2 徐强, 徐丽华. 龙胆对迟发型变态反应的抑制作用. 中药药理与临床, 1993; 9(5): 25
- 3 徐强, 王蓉, 徐丽华. 迟发型变态反应机制致肝损伤的动物模型的建立. 中国免疫学杂志, 1993; 9(5): 287
- 4 戴岳, 杭秉西, 李佩珍. 女贞子煎剂对小鼠免疫系统的影响. 中国药科大学学报, 1987; 18(4): 301
- 5 谢卓丘, 朱晓春, 刘国卿. 六味地黄煎剂对小鼠实验性肝损伤的保护作用. 中国药科大学学报, 1989; 20(6): 351

Effects of Radix Gentianae on the experimental liver injuries in mice

Xu Lihua, Xu Qiang*

(The Provincial School of Traditional Chinese Pharmacy of Jiangsu, Zhenjiang 212003, * Department of Pharmacology of Chinese Materia Medica, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

The aqueous extract of Radix Gentianae (RG) was found to be effective in lowering the elevation of SGPT and SGOT activities induced by each of CCl₄, thioacetamide and picryl chloride-induced delayed type hypersensitivity. In addition, no influence was observed on the GPT activity of serum from CCl₄-treated mice when in vitro incubated with the serum from RG-administered mice. RG showed a tendency to promote the sleep induced by sodium phenobarbital in normal mice, while markedly shortened the sleep in CCl₄-treated mice. RG also increased the carbon clearance in mice. These results suggest that RG has a remarkable liver protective action by mechanisms including those of protecting the membranes of hepatocytes, inhibiting the immune response occurred in the liver, and enhancing the treatment of the metabolism of foreign substances.

Key words Radix Gentianae, liver injury, liver protective action