

蒙药祛“热”凉性方剂给旺-9 对四氯化碳诱导大鼠急性肝衰竭的影响

王欢*, 乌恩其

(内蒙古民族大学蒙医药学院蒙药药理实验室, 内蒙古 通辽 028000)

[摘要] 目的: 观察蒙成药给旺-9 对四氯化碳诱导大鼠急性肝衰竭的影响。方法: 采用灌胃法给 30% 四氯化碳 (CCl_4) ($4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) 诱导大鼠急性肝衰竭模型。造模 24 h 时分别检测正常组、模型组、蒙成药给旺-9 低、中、高剂量组 ($1.3, 2.6, 3.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 血清中丙氨酸转氨酶 (ALT) 和天冬氨酸转氨酶 (AST)、一氧化氮 (NO)、一氧化氮合酶 (NOS) 的活性以及肝指数和胃匀浆中的胃蛋白酶等指标。结果: 模型组与正常组比较对血清 AST, ALT 均有极明显增高 (均 $P < 0.01$); NO, 胃蛋白酶和肝指数均有明显的增高 ($P < 0.05$)。各给药组与模型组比较, 蒙成药给旺-9 低剂量组对血清 NO, 胃蛋白酶均明显降低 (均 $P < 0.05$)。蒙成药给旺-9 中剂量对血清 AST, ALT 均明显降低 (分别为 $P < 0.01, P < 0.05$); NO, 胃蛋白酶和肝指数也有明显降低 (均 $P < 0.05$)。蒙成药给旺-9 高剂量对血清 AST, ALT 均明显降低 (分别为 $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); NO, 胃蛋白酶和肝指数也有明显降低 ($P < 0.05$)。结论: 蒙药祛“热”凉性方剂给旺-9 对 CCl_4 诱导的大鼠急性肝衰竭有明显的保护作用, 中剂量组效果最佳。

[关键词] 蒙药祛“热”药物; 凉性方剂; 给旺-9; CCl_4 ; 急性肝衰竭

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0238-04

[doi] 10.11653/syfy2013080238

Effect of Mongolian Medicine GEI Wang-9 with Cool Nature and Removing Heat on Acute Liver Failure Induced by Carbon Tetrachloride

WANG Huan*, WU En-qi

(Inner Mongolian Medicine Pharmacological Laboratory of Mongolian Medicine College of Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Mongolian medicine GEI Wang-9 on acute liver failure induced by carbon tetrachloride CCl_4 . **Method:** methods 30% carbon tetrachloride was used to induce model of acute liver failure. After 24 h, indexes alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST),

[收稿日期] 20120704(016)

[通讯作者] *王欢, 硕士, 副教授, 从事蒙药药理学研究, Tel: 15848508006, E-mail: wanghuan8217776@163.com

- [2] 古娜尔, 哈山. 决明子治疗高脂血症的临床观察[J]. 中国民间疗法, 2009, 17(11): 27.
- [3] 马路, 江梦溪, 刘剑刚, 等. 决明子和山楂组分配伍对兔肝细胞膜高密度脂蛋白受体活性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(1): 24.
- [4] 潘正军, 陆祈, 潘丽, 等. 决明子水提液对高血压小鼠血压血脂及肾脏结构的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 195.
- [5] 姜岩. 中药血脂康治疗高脂血症疗效分析[J]. 首都医药, 2002(12): 55.
- [6] Zarjevski N, Cusin I, Vettor R, et al. Chronic

- intracerebroventricular neuropeptide-Y administration to normal rats mimics hormonal and metabolic changes of obesity[J]. Endocrinology, 1993, 133: 1753.
- [7] 王东红, 魏敬军, 俞平. 高脂血症者血清 TG 与 leptin 及相关因子含量的相关性[J]. 放射免疫学杂志, 2007, 20(2): 98.
- [8] 王少锦, 康锁彬, 李爱英, 等. 针刺影响下丘脑性肥胖大鼠脂代谢相关因素的分析[J]. 针刺研究, 2005, 30(2): 75.

[责任编辑 聂淑琴]

nitric oxide (NO), active of nitric oxide composite enzyme (NOS) of serum and liver index and pepsin in the stomach homogenate were detected in normal group, model group, Mongolian medicine GEI Wang-9 low, middle, high dose groups (1.3, 2.6, 3.9 g·kg⁻¹), respectively. **Result:** In the model group, compared with normal group, serum AST, ALT extremely increased significantly (all $P < 0.01$); NO, nitric oxide composite enzyme and liver index all increased significantly ($P < 0.05$). Compared with model group, GEI Wang-9 low doses decreased significantly the serum NO, nitric oxide composite enzyme all ($P < 0.05$). GEI Wang-9, middle doses decreased significantly the serum AST, ALT ($P < 0.01$, $P < 0.05$, respectively); and NO, nitric oxide composite enzyme and liver index reduced significantly ($P < 0.05$). High doses reduced significantly the serum AST, ALT ($P < 0.01$, $P < 0.05$, respectively); NO, nitric oxide composite enzyme and liver index reduced significantly ($P < 0.05$). **Conclusion:** Mongolian medicine GEI Wang-9 has protective actions on acute liver failure induced by carbon tetrachloride.

[**Key words**] Mongolian medicine cured ‘hot’ drugs; cool prescription; GEI Wang-9; CCl₄; acute liver failure

蒙医“热”症病多发生在春秋两季,系有希拉、血失常而引起的急性热病的总称。《四部医典·秘诀版》云:“正常的希拉其性热且锐,如偏盛,便危害人体”。“热”症病总的症状为头痛,身体热,颜面和双目黄赤,鼻孔发干,口味剧渴,舌苔微黄而厚,恶心,吐泻物呈黄色等。病情发展至严重阶段即高烧,汗多而臭味大,尿赤黄,臭味浓、蒸气大、尿渣纷纷聚集成紫红色。“热”症病所涉及的脏腑以肝脏、胆囊为主。治疗方法有药物、外治、饮食和起居等4种,药物方面的治疗主要以凉性药物为主^[1]。本实验选的给旺-9为其中之一,给旺-9(别名清肝九味散)是蒙药传统方剂,出自蒙医经典著作《观者之喜》(吉格木德丹赞扎木苏·锡林郭勒:木刻版,1881)、《蒙医百科全书》、《蒙药方剂学》(统编教材)、《中华人民共和国卫生部药品标准》均有记载^[1-2]。由牛黄、红花、木香、瞿麦、木鳖子(制)等9味药组成。具有清肝、凉血等功能。主要用于受损伤肝热,肝血热盛,黄疸,肝热,肝“宝日”,“宝日巴达干”等症^[3]。现代研究证明牛黄含有牛磺酸等成分,具有保肝、利胆的药理作用^[4],红花具有保肝药理作用^[4],木香具有抗溃疡药理作用^[4],本实验中采取了四氯化碳灌胃给药方法诱导大鼠急性肝功能衰竭模型,观察该药对急性肝功能衰竭的影响。此项目在蒙药药理研究领域是首例。

1 材料

1.1 仪器 TG16-WS 台式高速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司),HH-W600 数显三用恒温水箱(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司),T6 新世纪型分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),全自动生化分析仪(意大利奔腾),YBT201 型

电子天平(上海海康电子仪器厂)。

1.2 试剂、药品及制备 蒙药给旺-9由牛黄、瞿麦、印度獐牙菜、五灵脂各85g,木香、木鳖子(制)、绿绒蒿各25g,藏红花2.5g,川木桶4.5g等9味药组成,粉碎,散剂(由内蒙古民族大学附属医院制剂室提供,批号20111222),羧甲基纤维素钠(天津市东丽区天大化学试剂厂,批号20080911),丙氨酸转氨酶(ALT,批号20120403)、天冬氨酸转氨酶(AST,批号20120403)、一氧化氮(NO,批号20120422)、一氧化氮合酶(NOS,批号20120422)均由南京建成生物生物工程研究所。

1.3 动物 SD大鼠,二级,雌雄各半,体重180~220g,由吉林大学实验动物中心提供,生产许可证号SCXK(辽)2011-0023。

2 方法^[5]

2.1 分组与造模 取60只大鼠,按体重随机分成5组,每组12只,即正常组,模型组,蒙药给旺-9低剂量组(1.3g·kg⁻¹)、蒙药给旺-9中剂量组(2.6g·kg⁻¹)、蒙药给旺-9高剂量组(3.9g·kg⁻¹)等。给药组分别ig相应蒙药给旺-9的0.5%CMCNa混悬液(给药容积为20mL·kg⁻¹),正常组及模型组分别ig同体积的0.5%CMCNa混悬液,连续给药10d。末次给药后休息2d(原因为这2天内大鼠的体质等方面变稳定,血药浓度到一定程度),第3天开始禁食不禁水24h,然后除正常组以外每只大鼠灌胃给30%CCl₄(给药容积为4mL·kg⁻¹)24h后用10%水合氯醛腹腔注射(给药标准为3mg·kg⁻¹)麻醉,然后打开腹腔从腹主动脉取血,分离血清(分离方法为水浴36~37℃保温30min,取出4℃冰箱放置30min,离心10min(3000r·min⁻¹)。)

2.2 检测指标 测定血清中的 AST, ALT, NO, NOS 含量。取出肝脏, 称重, 计算肝脏指数。

2.2.1 测定血清 AST 和 ALT 血清 AST 和 ALT 测定之前稀释了 14 倍, 测定方法为按照试剂盒说明书上的方法测定的。采用动态法, 具体操作方法按照试剂盒要求操作, 用全自动分光光度计在 505 nm 波长处测定活性。

2.2.2 血清 NO, NOS 活性测定 测定方法为按照按照试剂盒要求操作, 用 T6 分光光度计在 510 nm 波长处测定活性。

2.2.3 测定胃蛋白酶的方法^[6] 先采取的胃制成 10% 的胃匀浆备用。采用麦特氏法, 选用内径 1.5 mm, 长 10 cm 的毛细玻璃管吸满经纱布过滤过的新鲜鸡蛋清, 在 80 °C 热水中使蛋白凝固, 弃去有气泡的蛋白管, 置冰箱储存备用。临用前制成 3 cm 长度, 吸取胃匀浆液 1 mL 及 0.05 mol · L⁻¹ 盐酸 15 mL 于 100 mL 具塞磨口三角瓶中混匀, 放进蛋白管 2 根作为平行样, 将三角瓶封口后放在 37 °C 温箱中孵育, 24 h 后取出蛋白管, 测量 2 根管 4 端透明部分的长度, 求其平均值。

胃蛋白酶活性 = (蛋白管透明长度的平均值)² × 16

2.3 数据统计 SPSS 统计软件 13.0 版本, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用 *t* 检验方法, *P* < 0.05 有统计学意义。

3 结果

3.1 血清 AST 和 ALT 活性 模型组与正常组比较对血清 AST, ALT 均有极明显增高 (均 *P* < 0.01); 蒙成药给旺-9 中、高剂量对血清 AST, ALT 均有极明显的降低 (分别为 *P* < 0.01 或 *P* < 0.05)。见表 1。

表 1 蒙成药给旺-9 对 CCl₄ 引起的急性肝衰竭大鼠血清 AST, ALT 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$) U · L⁻¹

组别	剂量 /g · kg ⁻¹	AST	ALT
正常	-	16.85 ± 5.57	3.59 ± 1.73
模型	-	696.38 ± 182.39 ¹⁾	228.46 ± 149.83 ¹⁾
给旺-9	1.3	259.74 ± 158.66	224.04 ± 90.90
	2.6	125.93 ± 76.75 ³⁾	102.05 ± 72.96 ²⁾
	3.9	125.79 ± 43.62 ³⁾	103.72 ± 45.75 ²⁾

注: 与正常组比较¹⁾ *P* < 0.01; 与模型组比较²⁾ *P* < 0.05, ³⁾ *P* < 0.01 (表 2 同)。

3.2 血清 NO, NOS 活性的测定 对血清 NO, 模型组与正常组比较有明显增高 (*P* < 0.01); 蒙药给旺-9 低、中、高剂量有明显降低 (*P* < 0.05)。对血清

NO, 模型组有降低趋势但没显著差异; 各剂量组也没显著差异。见表 2。

表 2 蒙成药给旺-9 对 CCl₄ 引起的急性肝衰竭大鼠血清 NO, NOS 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$) mmol · L⁻¹

组别	剂量 /g · kg ⁻¹	NO	NOS
正常	-	0.07 ± 0.02	0.14 ± 0.07
模型	-	0.11 ± 0.04 ¹⁾	0.08 ± 0.04
给旺-9	1.3	0.07 ± 0.01 ²⁾	0.06 ± 0.02
	2.6	0.07 ± 0.02 ²⁾	0.05 ± 0.01
	3.9	0.07 ± 0.02 ²⁾	0.06 ± 0.01

3.3 对胃蛋白酶活性和肝指数的影响 对胃蛋白酶和肝指数, 模型组与正常组比较对胃蛋白酶有极明显增高 (*P* < 0.01)、对肝指数有明显的增高 (*P* < 0.05); 蒙药给旺-9 低、中剂量均明显降低 (*P* < 0.05); 高剂量对胃蛋白酶极明显降低 (*P* < 0.01)、对肝指数明显降低 (*P* < 0.05)。见表 3。

表 3 蒙成药给旺-9 对 CCl₄ 引起的急性肝衰竭大鼠胃蛋白酶及肝指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	给药量 /g · kg ⁻¹	胃蛋白酶 /U · L ⁻¹	肝指数 /%
正常	-	0.27 ± 0.06	2.97 ± 0.57
CCl ₄ 模型	-	1.17 ± 0.07 ²⁾	3.51 ± 0.22 ¹⁾
给旺-9	1.3	0.83 ± 0.05 ³⁾	3.45 ± 0.62
	2.6	0.36 ± 0.03 ³⁾	3.10 ± 0.46 ³⁾
	3.9	0.52 ± 0.02 ⁴⁾	3.26 ± 0.17 ³⁾

注: 与正常组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01; 与模型组比较³⁾ *P* < 0.05, ⁴⁾ *P* < 0.01。

4 讨论

蒙医“热”症病多发生在春秋两季, 系有希拉、血失常而引起的急性热病的总称。《四部医典·秘诀版》云: “正常的希拉其性热且锐, 如偏盛, 便危害人体”^[1]。从蒙医理论角度来说, 肝脏位于右侧上腹, 横膈之下, 希拉之总位, 五元中之火元素精华所藏之处, 变色希拉之所舍, 也是病变希拉窜行之道。肝脏的生理功能是通过分热能和变色希拉之作用^[1]。因此, 肝脏的病症属于“热”症, 治疗时以凉性药为主。本实验选中的给旺-9 为蒙医临床上常用的祛“热”凉性方剂, 也是治疗肝脏疾病的主要方剂。实验结果初步证明蒙药“凉性”方剂给旺-9 传统功效、主治的科学性, 也奠定了该方剂进一步研究基础。

选择造模方法的理由: 制造肝损伤模型方法很

多,例如最常用的有猪血清 ip 诱发肝纤维化、D-半乳糖、乙醇、 CCl_4 ^[7]等等,除此之外,褚春薇等采用抗结核药物异烟肼(INH)和利福平(RFP)联合使用后所致的 Wistar 大鼠肝脏损伤^[8]、罗秀等采用鸭乙型肝炎病毒(DHBV)诱导广西麻鸭乙型肝炎病毒肝损伤模型^[9]、周文静等采用雷公藤醇提物致大鼠急性肝损伤模型^[10]。其中 CCl_4 不同的给药方法可以制造不同的肝损伤模型,比如急性肝损伤、慢性肝损伤、肝硬化^[11-13]等、因损伤的程度不同又可以分为急性肝炎、急性肝功能衰竭^[14-15]。 CCl_4 用于制造肝损伤模型时可以有几种给药途径,即灌胃、腹腔注射、尾静脉注射、皮下注射等^[14-15],其中灌胃给药途径为经过门静脉系统吸收,直接进入肝脏,模型制备理想^[11],且此方法最接近于蒙医临床上引起肝脏病症的整体理论,因此笔者选用了灌胃给药途径。此造模方法,不仅对肝功能衰竭关键指标 AST,ALT,NO 有明显增高作用,而且初步诊断对肾脏指标尿素氮(BUN)、胃蛋白活性、肝脏指数也有明显增高作用。说明,该方法对肝脏、肾脏、胃均引起明显的病变。

据文献^[15-17]均表明随着肝损伤程度的加深而升高 NO 也是急性肝衰竭的敏感性指标。与本研究结果恰好与之吻合。蒙药祛“热”凉性方剂给旺-9 的主要药效表明其对 CCl_4 诱导的大鼠急性肝衰竭有明显的保护作用,分析 3 个给药剂量测定结果得出,中剂量给药量最理想。

[参考文献]

- [1] 百清云. 中国医药百科全书. 蒙医学[M]. 上海:上海科技出版社,1992:100,245.
- [2] 瑟·苏荣扎布. 方剂学[M]. 呼和浩特:内蒙古人民出版社,1986:208.
- [3] 中华人民共和国卫生部药品标准(蒙药)[S]:1998:168.
- [4] 王秀兰. 蒙药药理学[M]. 呼和浩特:内蒙古人民出

- 版社,2006:108,63,50.
- [5] 赖力英,杨旭,许向青,等. 四氯化碳诱导大鼠急性肝功能衰竭动物模型的建立[J]. 中国现代医学杂志,2005,15(11):1655.
- [6] 张涵,巫燕莉,杜群,等. 消食饮对大鼠胃酸、胃蛋白酶的影响[J]. 江西中医学院学报,2011,23(1):68.
- [7] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 2版. 上海:上海科学技术出版社,2006:515.
- [8] 褚春薇,陈继婷. 加味一贯煎对抗结核药所致的大鼠肝损伤的防治作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(15):201.
- [9] 罗秀,何巧玲,郭雪峰. 六月青多糖对鸭乙型肝炎病毒诱导肝损伤的保护作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(17):219.
- [10] 周文静,柴智,王永辉. 归脾汤对雷公藤醇提物致急性肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(9):169.
- [11] 赖小英,杨旭,许向青,等. 四氯化碳诱导大鼠急性肝功能衰竭动物模型的建立[J]. 中国现代医学杂志,2005,15(11):1655.
- [12] 牛廷献,史智勇. 肝纤维化动物模型的研究进展[J]. 实验动物科学与管理,1997,14:27.
- [13] 卢新华,陈虎云,戴俊,等. 苦菜总黄酮对实验性肝损伤的保护作用[J]. 中国现代医学杂志,2002,12(3):8.
- [14] 刘小丽,刘春霞,刘红军,等. 小鼠四氯化碳急性中毒性肝损害模型制备方法探讨[J]. 新乡医学院学报,2001,18(1):30.
- [15] 王斌,俞红,周霞秋. 病毒性肝炎患者血 NO 的变化及其意义[J]. 上海第二医科大学报,1998,18(6):492.
- [16] 秦佑娟,尉希清. 急慢性肝炎、肝硬化病人血清一氧化氮水平及其变化规律的临床研究[J]. 中国全科医学,2005,8(1):22.
- [17] 方建珍,高洁生,吴轰,等. 实验性大鼠肝纤维化一氧化氮动态变化及意义[J]. 免疫学杂志,1997,13(1):26.

[责任编辑 聂淑琴]