

[参考文献]

[1] 吴映蓉,张灿珍. 羟喜树碱胶囊剂在小鼠体内的药动学及组织分布[J]. 中国药房,2001,12(10):589-590.

[2] 张雪丽,刘永国,惠 莉,等. 腹腔灌注羟喜树碱治疗晚期肝癌腹腔积液的临床研究[J]. 陕西肿瘤医学,2001,9(3):167-168.

[3] 孙静霞,王雷娜,尹 莉,等. HPLC-FD 法测定羟喜树碱在大鼠体内组织分布[J]. 中国药科大学学报,2004,35

(6):540-544.

[4] 钟大放. 以加权最小二乘法建立生物分析标准曲线的若干问题[J]. 药物分析杂志,1996,16(5):343-346.

[5] 龚明涛,张均寿,戴小鸣. 羟喜树碱纳米乳在大鼠体内的药动学研究[J]. 中国药科大学学报,2004,35(4):324-327.

[6] 张志荣,路 伟. 肝靶向羟喜树碱缓释微粒的研究[J]. 药学报,1997,32(3):222-229.

# 丹芪益肝颗粒对慢性肝损伤大鼠的肝保护作用

蔡大伟,刘顺良,尹晓飞,李冬梅,王书杰,史宇翔,李 慧

(解放军第 251 医院药剂科,河北张家口 075000)

[摘要] 目的 验证丹芪益肝颗粒对四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)所致大鼠慢性肝纤维化模型的肝保护作用及抗纤维化作用。方法 模型组及各给药组首次皮下注射 40% CCl<sub>4</sub> 5 mL·kg<sup>-1</sup>,以后每 3 d 注射 1 次 40% CCl<sub>4</sub> 3 mL·kg<sup>-1</sup>,正常对照组给予等容积橄榄油,持续 9 周,给药自造模之日开始。结果 CCl<sub>4</sub>所致慢性肝纤维化大鼠有明显肝损伤及慢性纤维化表现,丹芪益肝颗粒 3 个剂量组肝功能指标均有不同程度的改善;5,10 g·kg<sup>-1</sup>组肝组织胶原蛋白含量较模型组均明显降低;2.5 g·kg<sup>-1</sup>组血清玻璃酸(HA)较模型组显著降低;病理组织学检查结果表明其肝脏病变程度均较模型组明显减轻。结论 丹芪益肝颗粒对慢性肝纤维化大鼠具有肝保护作用及抗肝纤维化作用。

[关键词] 丹芪益肝颗粒;四氯化碳;肝纤维化

[中图分类号] R286;R975.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2008)09-1028-03

## Protective Effect of *Danqi Yigan* Granule on the Liver Chroically Injured by Carbon Tetrachloride in Rats

CAI Da-wei, LIU Shun-liang, YIN Xiao-fei, LI Dong-mei, WANG Shu-jie, SHI Yu-xiang, LI Hui (Department of Pharmacy, the 251<sup>st</sup> Hospital of PLA, Zhangjiakou 075000, China)

**ABSTRACT Objective** To validate the protective role of *danqi yigan* granule in antagonizing chronic fibrosis of rats liver caused by carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>). **Methods** Hepatic fibrosis was induced via hypodermic injection of 40% CCl<sub>4</sub> (5 mL for the first time, 3 mL per 3 days) for 9 weeks. The control group was treated by olive oil. *Danqi yigan* granule was administered at a dose of 2.5, 5 or 10 g·kg<sup>-1</sup>. **Results** Obvious liver damage and chronic fibrosis were observed in the CCl<sub>4</sub> group. The liver function were improved in three doses threatment of *danqi yigan* granule. Collagen in the liver tissue markedly declined at a dose of 5 or 10 g·kg<sup>-1</sup>, and serum hyaluronic acid also decreased obviously at a dose of 2.5 g·kg<sup>-1</sup>. Furthermore, the histopathological lesion was significantly allayed in *ruangan* granule groups. **Conclusion** *Danqi yigan* granule played an important role in preventing chronic fibrosis of rat liver.

**KEY WORDS** *Danqi yigan* granule; Carbon tetrachloride; Hepatic fibrosis

肝纤维化是肝脏内纤维结缔组织异常增生的病理过程,是慢性肝病最重要的病理特征之一,也是慢性肝炎、肝硬化进一步发展的重要环节,抗肝纤维化治疗可终止或逆转肝脏病变。笔者主要观察丹芪益肝颗粒对四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)所致大鼠慢性肝损伤模型的保护作用。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 实验动物 实验用 SD 大鼠雌雄各半,体重

180~220 g。由解放军第 251 医院实验动物中心提供,合格证号:医动字第 040-012 号。饲养环境:温度(23±2)℃,湿度 60%。

**1.2 药品与试剂** 丹芪益肝颗粒:由丹参、黄芪、当归、五味子、鳖甲等组成,每袋 10 g,北京军区张家口制剂中心生产,医院制剂,批号:070116,治疗剂量每次 10 g,tid。秋水仙碱:昆明制药有限公司生产,批号:20010124,每粒 0.5 mg。四氯化碳(CCl<sub>4</sub>):上海联试化工试剂有限公司生产,批号:000220。用时以橄榄油配制成 40% 浓度。肝组织羟脯氨酸试剂盒:建成生物有限公司生产,批号:20010803。血清玻璃酸(HA)、层

[收稿日期] 2007-08-24 [修回日期] 2007-11-29

[作者简介] 蔡大伟(1979-),男,河南鹤壁人,药师,硕士,从事临床药学研究工作。电话:0313-8785033, E-mail: cdaweil@163.com。

黏连蛋白(LN)、IV型胶原(IV-C)放射免疫分析测定盒:上海海研生物技术中心,批号:20010901。血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)检测试剂盒:波音特生物科技(上海)有限公司,批号:20010601。

**1.3 仪器** Vital 200 全自动生化分析仪,荷兰。DF110 型电子天平,江苏省常熟市衡器工业社。TDL-16c 台式高速离心机:上海安亭科学仪器厂产品。FT630 放免测定仪:北京核仪器厂产品。

**1.4 实验方法** 将 SD 大鼠随机分为 6 组,即:正常对照组,模型组,秋水仙碱( $0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组,丹芪益肝颗粒  $2.5, 5, 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  3 个剂量组(以下分别依次称益肝 1 组,益肝 2 组,益肝 3 组)。模型组及各给药组首次皮下注射  $40\% \text{ CCl}_4$   $5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,正常对照组给予等体积橄榄油,以后每 3 d 注射  $40\% \text{ CCl}_4$   $3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  次,持续 9 周<sup>[1]</sup>。给药自造模之日开始,按体重灌胃  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,正常对照及模型组给予  $0.9\%$  氯化钠溶液,各给药组给予相应药物,qd,持续 9 周。大鼠眶后静脉取血,检测肝功能指标(ALT、AST、ALP、TP、ALB)及肝纤维化指标(HA、LN、IV-C)<sup>[2]</sup>,各组均取肝脏同一部位做病理组织学检查,其余肝脏制成肝粉,检测肝组织羟脯氨酸含量<sup>[3]</sup>。

**1.5 统计学方法** 数据以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间差异分析采用 *t* 检验,等级资料采用非参数检验。

**2 结果**

**2.1 丹芪益肝颗粒对  $\text{CCl}_4$  所致慢性肝纤维化大鼠肝功能的影响** 大鼠眶后静脉取血,离心取血清,全自动生化分析仪检测 ALT、AST、ALP、TP、ALB。结果见表 1。由表 1 可见,皮下注射  $\text{CCl}_4$  9 周后模型组大鼠肝功能各项指标(ALT、AST、ALP)较正常对照组明显升高,TP、ALB 较正常对照组明显降低;3 个剂量组丹芪益肝颗粒对 ALT、AST、ALP 的抑制作用比较明显( $P < 0.05$ ),而对 TP、ALB 无明显影响。

**2.2 丹芪益肝颗粒对  $\text{CCl}_4$  所致慢性肝纤维化大鼠肝**

组织羟脯氨酸含量的影响 取大鼠肝脏,按试剂盒方法制备肝粉,分光光度计检测肝组织羟脯氨酸含量,按公式计算肝组织胶原蛋白的含量。计算公式:羟脯氨酸(mg)/肝粉(g) = (测定管吸光度 - 空白管吸光度)/标准管吸光度 - 空白管吸光度  $\times$  标准管肝粉含量(mg),肝胶原蛋白含量(mg)/肝粉(g) = 羟脯氨酸(mg)/肝粉(g)  $\div 13.4\%$ 。结果见表 2。

由表 2 可以看出,根据肝组织羟脯氨酸含量计算的胶原蛋白量,模型组较正常对照组明显升高,丹芪益肝颗粒  $5, 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量组肝组织胶原蛋白含量明显降低,与模型组比较差异有显著性。

**2.3 丹芪益肝颗粒对  $\text{CCl}_4$  所致慢性肝纤维化大鼠血清肝纤维化指标的影响** 大鼠眶后静脉取血,离心取血清,放免法检测 HA、LN、IV-C 的含量。结果见表 3。

由表 3 可看出,模型组 HA、IV-C 较正常对照组明显升高。丹芪益肝颗粒  $2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  给药组 HA 较模型组显著降低。

**2.4 丹芪益肝颗粒对  $\text{CCl}_4$  所致慢性肝纤维化大鼠肝脏病理组织学检查结果** 动物取肝脏,10% 甲醛固定,石蜡包埋,常规切片,苏木精-伊红(HE)染色,作组织学镜检。见表 4。染色显阳性记为“+”,中阳性记为“++”,强阳性记为“+++”。

表 4 显示,正常对照组大鼠肝小叶、汇管区结构正常,模型组肝细胞重度水肿脂变,窦旁细胞增生明显,纤维间隔宽,90% 肝标本有弥漫假小叶形成,汇管区及纤维间隔中有少量慢性炎细胞浸润,与正常对照组比较差异有显著性,丹芪益肝颗粒  $2.5, 5, 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量组纤维间隔细假小叶形成减少,病变程度较模型组明显减轻。

**3 讨论**

$\text{CCl}_4$  是目前诱导肝纤维化的常用化学毒物,其机制与脂质过氧化有关,致细胞损伤达一定程度后引起肝内胶原纤维增多,随病程进展而迁延,从而形成肝纤维化<sup>[4]</sup>。本实验结果显示, $\text{CCl}_4$  所致慢性肝纤维化大

表 1 丹芪益肝颗粒对  $\text{CCl}_4$  所致慢性肝损伤大鼠肝功能指标的影响  $\bar{x} \pm s$

组别	大鼠/只	ALT/ ( $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ )	AST/ ( $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ )	ALP/ ( $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ )	TP/ ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	ALB/ ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )
益肝 1 组	10	$56.94 \pm 9.66^{*1}$	$223.94 \pm 36.58$	$461.25 \pm 107.53^{*1}$	$88.18 \pm 7.86$	$37.24 \pm 3.69$
益肝 2 组	10	$59.72 \pm 13.15^{*1}$	$201.96 \pm 37.51$	$371.24 \pm 99.87^{*2}$	$76.95 \pm 13.59$	$30.59 \pm 5.78$
益肝 3 组	10	$47.46 \pm 12.58^{*1}$	$196.24 \pm 15.12^{*1}$	$312.63 \pm 29.43^{*2}$	$78.76 \pm 6.89$	$27.93 \pm 1.26$
秋水仙碱组	10	$46.68 \pm 8.89^{*2}$	$165.38 \pm 32.24^{*2}$	$486.53 \pm 102.36^{*1}$	$78.63 \pm 9.82$	$29.88 \pm 3.62$
正常对照组	10	$36.85 \pm 4.43$	$166.36 \pm 28.57$	$338.65 \pm 96.67$	$103.26 \pm 12.34$	$42.96 \pm 5.32$
模型组	10	$97.56 \pm 48.62^{*3}$	$285.56 \pm 106.32^{*3}$	$683.59 \pm 278.46^{*3}$	$87.37 \pm 9.65^{*3}$	$33.26 \pm 5.47^{*3}$

与模型组比较,  $*1P < 0.05$ ,  $*2P < 0.01$ ; 与正常对照组比较,  $*3P < 0.01$

表2 丹芪益肝颗粒对 CCl<sub>4</sub>所致慢性肝损伤大鼠肝组织羟脯氨酸含量的影响

Table with 4 columns: Group, Rats/Group, Hydroxyproline, Collagen. Rows include control, model, and three treatment groups.

与模型组比较, \*1P < 0.05, \*2P < 0.01; 与正常对照组比较, \*3P < 0.01

表3 丹芪益肝颗粒对 CCl<sub>4</sub>所致慢性肝损伤大鼠肝纤维化指标的影响

Table with 5 columns: Group, Rats/Group, HA, LN, IV-C. Rows include control, model, and three treatment groups.

与模型组比较, \*1P < 0.05; 与正常对照组比较, \*2P < 0.05, \*3P < 0.01

表4 丹芪益肝颗粒对 CCl<sub>4</sub>所致慢性肝损伤大鼠肝组织病理学检查的影响

Table with 7 main columns for histological parameters and 10 sub-columns for counts. Rows include control, model, and three treatment groups.

与模型组比较, \*1P < 0.05, \*2P < 0.01; 与正常对照组比较, \*3P < 0.01

鼠有明显肝损伤及慢性纤维化的表现,丹芪益肝颗粒3个剂量组肝功能指标均有不同程度改善,对ALT、AST、ALP的抑制作用均较明显。

HA是结缔组织基质的主要成分,是反映肝硬化程度较为敏感的指标,其血清测量值与肝硬化程度呈正相关[5],本实验中丹芪益肝颗粒2.5g·kg-1组HA明显降低,与模型组比较差异有显著性;

肝纤维化大鼠具有肝保护作用及抗肝纤维化的作用,其作用机制有待进一步研究。

[参考文献]

[1] HUANG Z M, YANG X B, CAOW B, et al. Comparative studies of three compounds in liver damage of rats. International Symposium on Toxicology[C]. Beijing, 1990:154.
[2] 王晋云. 血清型胶原、玻璃酸、层黏蛋白联合检测对肝纤维化诊断价值的探讨[J]. 医学理论与实践, 2001, 14(2): 106.
[3] 展玉清, 李定国, 魏红山, 等. 大黄素对大鼠肝纤维化形成的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2000, 20(4): 276.
[4] 武忠弼. 病理学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 325.
[5] 彭安国, 陈东风, 冷恩仁, 等. 玻璃酸、血型前胶原、层黏蛋白对肝纤维化诊断价值的研究[J]. 中国实用内科杂志, 1996, 16(8): 495.

本研究结果表明,丹芪益肝颗粒对 CCl<sub>4</sub>所致慢性