

## 五味子药渣提取物中木脂素类成分分析及其对急性肝损伤模型大鼠的保护作用

陶小芳<sup>1,2</sup>, 宿树兰<sup>1\*</sup>, 江 署<sup>1</sup>, 郭 盛<sup>1</sup>, 华永庆<sup>1</sup>, 欧阳臻<sup>2</sup>, 丛旭东<sup>3</sup>, 唐仁茂<sup>3</sup>, 段金廛<sup>1\*</sup>

1. 南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心/中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心, 江苏 南京 210023
2. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013
3. 江苏苏中药业集团股份有限公司, 江苏 姜堰 225500

**摘要:** 目的 分析生脉注射液生产过程五味子药渣提取物中木脂素类成分, 并考察其对大鼠急性肝损伤的保护作用和对肠道菌群结构的影响, 以期五味子药渣的资源化利用提供科学依据。方法 采用乙醇对五味子药渣进行提取, 得到五味子药渣提取物; 制备四氯化碳 (CCl<sub>4</sub>) 诱导的急性肝损伤大鼠模型, 以丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、白蛋白 (ALB) 和总蛋白 (TP) 为指标, 评价五味子药渣提取物对肝损伤的保护作用; 通过对大鼠肝脏、结肠组织的病理观察结果评价五味子药渣提取物对肝损伤的保护作用; 通过肠道菌群的组成变化评价五味子药渣提取物对肠道菌的影响。结果 HPLC 分析表明, 五味子药渣提取物中五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙和五味子酯甲的质量分数分别为 1.44、3.42、1.68、4.22、2.92、0.58 mg/g; 药效学研究表明, 五味子药渣提取物对急性肝损伤大鼠血清中 ALT、AST 水平具有显著的抑制作用 ( $P < 0.01$ ), 对 ALB、TP 水平有一定的升高作用 ( $P < 0.05$ ); 病理学观察结果显示, 给药组肝脏和结肠黏膜损伤程度降低; 与模型组相比, 五味子药渣提取物高、低剂量组可使大鼠肠道内益生菌乳酸杆菌和双歧杆菌明显增多 ( $P < 0.05$ ), 大鼠肠道内肠球菌和肠杆菌明显减少 ( $P < 0.05$ )。结论 五味子药渣提取物中仍富含木脂素类成分, 其对 CCl<sub>4</sub> 所致大鼠急性肝损伤具有保护作用, 并具有调节肠道益生菌增殖、保护结肠组织结构完整性的作用。

**关键词:** 五味子; 药渣; 急性肝损伤; 肠道菌群; 丙氨酸转氨酶; 天冬氨酸转氨酶; 白蛋白; 总蛋白

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)17-3051-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.17.015

## Analysis of lignan components in *Schizandrae Fructus* residue extracts and their protective effects on acute-hepatic damage rat

TAO Xiao-fang<sup>1,2</sup>, SU Shu-lan<sup>1</sup>, JIANG Shu<sup>1</sup>, GUO Sheng<sup>1</sup>, HUA Yong-qing<sup>1</sup>, OUYANG Zhen<sup>2</sup>, CONG Xu-dong<sup>3</sup>, TANG Ren-mao<sup>3</sup>, DUAN Jin-ao<sup>1</sup>

1. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, and National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
2. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China
3. Suzhong Pharmaceuticals Co., Ltd., Jiangyan 225500, China

**Abstract: Objective** The lignan components in *Schizandrae Fructus* residue extracts were analyzed and evaluated. The protective effect of *Schizandrae Fructus* residue extracts on acute-hepatic damage rat and the influence of that on intestinal flora were researched in the process of Shengmai Injection production, in order to provide the scientific basis for the development and utilization

收稿日期: 2016-02-03

基金项目: 江苏高校中药资源产业化过程协同创新中心建设专项(2013年度); 江苏省“333高层次人才培养对象资助项目(2013年度); 江苏省高校中药学优势学科II期建设项目(yxk-2014)

作者简介: 陶小芳(1990—), 女, 硕士研究生, 主要从事中药资源化学研究。Tel: 18351870656 E-mail: 18351870656@163.com

\*通信作者 段金廛(1956—), 男, 教授, 博士生导师, 中国自然资源学会中药及天然药物资源专业委员会主任委员, 国家“973”计划首席科学家。Tel: (025)85811116 E-mail: dja@njutcm.edu.cn

宿树兰(1974—), 女, 副教授, 主要从事中药及方剂功效物质基础研究。Tel: 13809043258 E-mail: sushulan@njutcm.edu.cn

of *Schizandrae Fructus* extract. **Methods** *Schizandrae Fructus* residue extract was extracted by the 60% ethanol. The model of acute-hepatic damage rats induced by  $\text{CCl}_4$  was prepared, the protective effects of *Schizandrae Fructus* residue extracts on hepatic-damage rats were evaluated through the data of ALT, AST, ALB, and TP; The function of the extracts were evaluated by histopathological observation of the liver and colon of rats; Effect of extracts on hepatic-damage rat's intestinal flora was evaluated by the number and the number variation of the intestinal flora. **Results** The results showed that the mass fractions of schisandrin A, schisandrin B, schisandrin C, gomisin A, gomisin B, and schisantherin A were 1.44, 3.42, 1.68, 4.22, 2.92, and 0.58 mg/g, respectively. Pharmacodynamic evaluation showed that *Schizandrae Fructus* extracts can significantly reduce the content of AST and ALT ( $P < 0.01$ ) and increase the content of ALB and TP in a certain extent in the serum of acute-hepatic damage rats ( $P < 0.05$ ); Mucous damage score of liver and colon is significantly decreased; Compared to liver injury group, *Schizandrae Fructus* extracts of high dose group and low dose group can significantly promote the proliferation of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* ( $P < 0.05$ ) but reduce the number of *Enterococcus* and *Enterobacteria* in the intestinal tract of rats ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** *Schizandrae Fructus* residue extracts have the protective effects on the acute-hepatic damage rats induced by  $\text{CCl}_4$ , the effect of regulating intestinal flora and the proliferation of probiotics, the effect of protecting the constitution integrity of colon tissue, which provide a main basis for its further development and utilization.

**Key words:** *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.; residues; acute-hepatic damage; intestinal flora; ALT; AST; ALB; TP

五味子为兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实, 习称“北五味子”, 具有丰富的药用和食用价值, 是临床配伍饮片和五味子相关制剂生产的重要原料之一<sup>[1]</sup>。生脉注射液为根据我国古验方生脉散研制而成的中药注射剂, 由红参、麦冬、五味子经水提取后制成的灭菌水溶液, 具有益气养阴、复脉固脱的功效<sup>[2]</sup>。五味子药渣为五味子药材在生脉注射液生产过程中产生的固体废弃物。

现代研究发现, 五味子与其他中药配伍可用于急、慢性肝损伤的治疗, 可以促进损伤肝细胞的修复、降低血清丙氨酸转氨酶 (ALT) 活性<sup>[3]</sup>。如五味子对四氯化碳 ( $\text{CCl}_4$ ) 所致小鼠急性肝损伤具有明显的保护作用<sup>[4]</sup>。五味子对用  $\text{CCl}_4$  和 *D*-氨基半乳糖 (*D*-GlaN) 多次注射造成的慢性肝损伤有较好的治疗作用, 五味子与丹参配伍的作用更优于单用五味子, 对纤维组织增生具有明显抑制作用<sup>[5]</sup>。五味子醇提物中均含有五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素和五味子乙素等木脂素类成分, 这些成分是其保肝作用的主要物质基础<sup>[6-7]</sup>, 具有改善肝功能、减轻肝细胞脂质过氧化损伤, 从而防止肝纤维化的作用<sup>[8]</sup>。其中五味子乙素可减轻  $\text{H}_2\text{O}_2$  导致的人肝细胞氧化损伤<sup>[9]</sup>。研究还表明, 肝功能损伤后常常会引起肠黏膜屏障功能的改变、肝功能衰竭, 从而导致胃肠功能衰竭; 反之, 胃肠功能障碍又会影响肝脏的修复, 甚至加重肝损伤, 目前“肝-肠对话”日益受到国内、外学者的关注<sup>[10]</sup>。

本实验在前期研究的基础上<sup>[11]</sup>, 采用优化的工艺条件对生脉注射液生产过程产生的五味子药渣

进行提取与分析, 并考察其对急性肝损伤大鼠模型的肝保护作用及其对肠道菌群结构的影响, 以期为五味子药渣及其资源性化学物质的资源化利用与产业化开发提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 32 只, 体质量 180~200 g, 购于上海杰思捷实验动物有限公司, 许可证号 SCKY (沪) 2013-0002, 分笼饲养。

### 1.2 药品与试剂

五味子药渣收集于江苏苏中药业集团股份有限公司, 经南京中医药大学段金廛教授鉴定, 五味子药渣为五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 药材在生脉注射液生产过程中产生的固体废弃物 (批号 20131208); 甲醇、乙醇 (南京化学试剂有限公司); 对照品五味子甲素 (质量分数  $\geq 98\%$ , 批号 WWJS20140114)、五味子乙素 (质量分数  $\geq 98\%$ , 批号 WWYS20140525)、五味子丙素 (质量分数  $\geq 98\%$ , 批号 WWBS20140217)、五味子醇甲 (质量分数  $\geq 98\%$ , 批号 WWBJ20140409)、五味子醇乙 (质量分数  $\geq 98\%$ , 批号 WWCY20140610), 均为南京春秋生物工程有限公司产品; 五味子酯甲 (质量分数 99.4%, 批号 111529-200604), 购于中国食品药品检定研究院。

乳酸杆菌培养基、双歧杆菌培养基、肠球菌培养基和肠杆菌培养基由青岛日水生物有限公司提供; ALT、天冬氨酸转氨酶 (AST)、白蛋白 (ALB) 和总蛋白 (TP) 试剂盒由南京春秋生物工程有限公司提供; 水为实验室自制超纯水。

### 1.3 仪器

美国 Waters 2695 高效液相色谱系统, Waters 2996 UV 检测器, Empower 数据管理系统; ML204/02、MS-205 电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司); DHG-9023A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); Enspire 多功能酶标仪(Perkin Elmer); TDL-80-2B 型离心机(上海安亭科学仪器); HH 数显恒温水浴锅(金坛市医疗仪器厂)。

## 2 方法与结果

### 2.1 五味子药渣提取物的制备与成分分析

**2.1.1 给药用五味子药渣提取物的制备** 将五味子药渣于 60 °C 下烘干, 取干燥药渣打粉, 过 40 目筛, 装入自封袋中于干燥器内保存。精密称取 60 °C 干燥粉末 1 000 g, 采用 12 倍量 60% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并滤液, 浓缩至无醇味后倒入 500 mL 量瓶中, 加入超纯水并定容至 300 mL 作为大鼠给药药物。

**2.1.2 分析用五味子药渣提取物的制备** 按“2.1.1”项下方法提取 1 000 g 五味子药渣, 合并滤液, 浓缩后放入蒸发皿中蒸成浸膏, 称质量。取浸膏 0.5 g 加入 5 mL 甲醇溶解, 稀释 10 倍后取上清液过 0.45 μm 滤膜, 进样。

**2.1.3 对照品溶液的制备** 分别精密称取五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲对照品适量, 用甲醇配成质量浓度分别为 0.346、0.170、0.113、0.252、0.153、0.165 mg/mL 的混合对照品溶液。

**2.1.4 色谱条件** 色谱柱为 BDS HYPERSIL C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温 25 °C; 体积流量 1 mL/min; 进样量 10 μL, 以甲醇-超纯水为流动相进行梯度洗脱: 0~20 min, 50%~55% 甲醇; 20~30 min, 55%~58% 甲醇; 30~60 min, 58%~70% 甲醇; 60~80 min, 70%~79% 甲醇; 80~90 min, 79%~83% 甲醇; 90~100 min, 83%~100% 甲醇。HPLC 色谱图见图 1。

**2.1.5 线性范围考察** 取适量五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲混合对照品溶液, 分别进样 1、2、5、10、20 μL, 按“2.1.3”项下色谱条件测定, 记录峰面积积分值。以峰面积积分值为纵坐标(Y), 进样量为横坐标(X), 得回归方程, 分别为五味子甲素:  $Y=2\ 100\ 000 X+200\ 000$ ,  $R^2=0.999\ 5$ , 线性范围

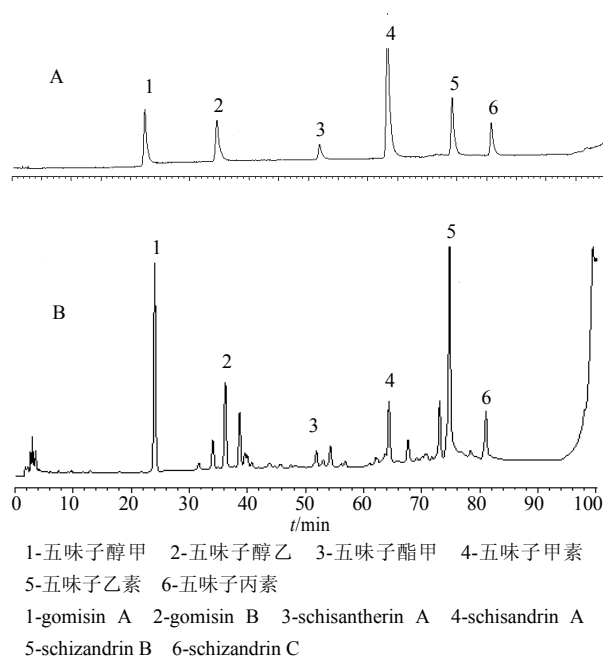


图 1 混合对照品 (A) 和五味子药渣提取物 (B) 的 HPLC 图  
Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A) and *Schizandrae Fructus* residue extracts (B)

0.346~6.92 μg; 五味子乙素:  $Y=2\times 10^{-6} X+1.8\times 10^{-5}$ ,  $R^2=0.999\ 1$ , 线性范围 0.170~3.40 μg; 五味子丙素:  $Y=1.2\times 10^{-6} X-25\ 142$ ,  $R^2=1.000\ 0$ , 线性范围 0.113~2.26 μg; 五味子醇甲:  $Y=1.9\times 10^{-6} X-94\ 185$ ,  $R^2=1.000\ 0$ , 线性范围 0.252~5.04 μg; 五味子醇乙  $Y=1.3\times 10^{-6} X-63\ 894$ ,  $R^2=1.000\ 0$ , 线性范围 0.153~3.06 μg; 五味子酯甲  $Y=7.6\times 10^{-5} X-46\ 235$ ,  $R^2=1.000\ 0$ , 线性范围 0.165~3.30 μg。

**2.1.6 精密度试验** 精密吸取混合对照品溶液 10 μL, 连续进样 6 次, 测定五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲色谱峰峰面积, 计算得其 RSD 分别为 0.61%、0.70%、1.60%、1.47%、2.75%、1.88%, 表明本实验方法精密度良好。

**2.1.7 稳定性试验** 取“2.1.2”项下制备的样品溶液, 每隔 2 h 测定 1 次, 测定 6 次, 最终五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲峰面积的 RSD 分别为 0.37%、0.21%、1.84%、0.49%、1.81%、2.08%, 表明样品溶液在 24 h 内稳定。

**2.1.8 重复性试验** 按照“2.1.2”项方法制备 6 份样品溶液, 按“2.1.4”项下色谱条件测定五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味

子醇乙、五味子酯甲质量分数的RSD分别为1.76%、1.55%、2.74%、0.93%、4.90%、2.71%，表明方法重复性良好。

**2.1.9 回收率试验** 精密称定已知质量分数的样品 9 份，以样品质量分数的 80%、100%、120% 加入适量对照品溶液，混匀，每个质量浓度平行 3 次，按照“2.1.2”项下方法处理，在“2.1.4”项色谱条件下测定 6 种有效成分的质量分数，计算平均加样回收率。结果显示，五味子甲素的平均回收率分别为 98.00%、97.05%、101.03%，RSD 分别为 3.50%、4.70%、4.34%；五味子乙素的平均回收率分别为 99.37%、97.81%、99.36%，RSD 分别为 2.53%、3.73%、2.34%；五味子丙素的平均回收率分别为 91.15%、98.89%、92.20%，RSD 分别为 2.82%、4.87%、3.20%；五味子醇甲的平均回收率分别为 94.61%、96.17%、102.02%，RSD 分别为 2.30%、1.44%、0.81%；五味子醇乙的平均回收率分别为 98.57%、102.04%、101.05%，RSD 分别为 3.97%、0.89%、1.02%；五味子酯甲的平均回收率为 103.05%、95.54%、96.16%，RSD 分别为 1.68%、2.93%、2.16%。

**2.1.10 五味子药渣提取物的成分分析** 取“2.1.2”项下制备的样品溶液，进样测定。结果五味子药渣浸膏得率为 13.60%，五味子药渣提取物中五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙和五味子酯甲的质量分数分别为 1.44、3.42、1.68、4.22、2.92、0.58 mg/g，成分总量为 14.26 mg/g。

**2.2 五味子药渣提取物对急性肝损伤模型大鼠的保护作用**

**2.2.1 动物分组、造模及给药** 雄性大鼠喂养 1 周适应环境后，取大鼠 32 只，随机分为 4 组，每组 8 只，分别为对照组，模型组，五味子药渣提取物低、高剂

量 (0.535、2.675 g/kg) 组。模型组和五味子药渣提取物高、低剂量组大鼠用 40% 的 CCl<sub>4</sub> 橄榄油溶液按照 2 mL/kg 进行 ip，24 h 后形成急性肝损伤模型。采集血样 0.5 mL (每组随机取 5 只大鼠，眼眶取血)，测血清中的 ALT、AST，各造模组较对照组明显升高，说明造模成功。造模成功后第 3 天开始给药，对照组和模型组分别 ig 同体积的生理盐水 (7.5 mL/kg)，五味子药渣提取物高、低剂量组分别 ig 相应药物，每天 1 次，连续给药 7 d。

**2.2.2 五味子药渣提取物对模型大鼠血清中 ALT、AST、ALB 和 TP 的影响** 各组大鼠给药结束后眼眶取血，采样 1.5 mL 于离心管中，静置 30 min，10 000 r/min 下离心 20 min 后分离血清。ALT、AST、ALB 和 TP 的测定严格按照试剂盒说明书要求进行。结果见表 1。与对照组比较，模型组大鼠血清中 ALT、AST 明显升高 ( $P < 0.01$ )，说明造模成功。与模型组相比，五味子药渣提取物高剂量组大鼠血清中的 ALT、AST 明显降低 ( $P < 0.01$ )，ALB、TP 水平显著升高 ( $P < 0.05$ )。而五味子药渣提取物低剂量组大鼠血清中的 ALT、AST 也明显降低 ( $P < 0.05、0.01$ )，但 ALB、TP 水平与模型组比较差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

**2.2.3 五味子药渣提取物对模型大鼠肝脏病理改变的影响** 麻醉处死大鼠后，取各组大鼠肝脏于 10% 甲醛溶液固定后，进行组织病理切片检查。首先经肉眼观察，模型组大鼠肝脏普遍肿大，颜色呈暗红，质地较硬。五味子药渣提取物高、低剂量组大鼠较模型组大鼠症状轻。显微镜下观察肝脏病理切片可见，模型组大鼠肝组织损伤程度明显高于对照组，同时正常结构被破坏、肝细胞肿胀、水样变性、间质内有炎性细胞浸润；五味子药渣提取物高、低剂量大鼠较模型组损伤程度明显降低，肝脏病变明显减轻，并有部分组织修复。结果见图 2。

表 1 各组大鼠血清中 ALT、AST、ALB 和 TP 水平比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 1 Comparison on levels of ALT, AST, ALB, and TP in serum of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	ALT/(U·L <sup>-1</sup> )	AST/(U·L <sup>-1</sup> )	ALB/(g·L <sup>-1</sup> )	TP/(g·L <sup>-1</sup> )
对照	—	10.25 ± 1.67	55.52 ± 3.13	34.84 ± 1.81	41.95 ± 4.35
模型	—	35.62 ± 3.99**	77.82 ± 4.65**	28.92 ± 0.76*	37.34 ± 3.41*
五味子药渣提取物	2.675	13.54 ± 0.81###	53.36 ± 3.62###	32.35 ± 1.27#	42.71 ± 4.49#
	0.535	21.99 ± 3.87###	67.61 ± 3.82#	30.13 ± 1.45	38.27 ± 1.30

与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ### $P < 0.01$ , 下同  
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ### $P < 0.01$  vs model group, same as below

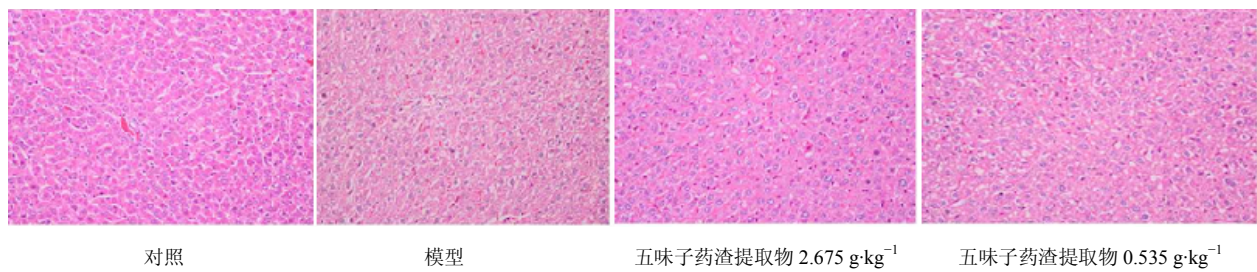


图 2 各组大鼠肝组织病理观察结果

Fig. 2 Observation on pathological changes in liver tissue of rats in each group

**2.2.4 五味子药渣提取物对模型大鼠结肠病理改变的影响** 麻醉处死大鼠后,取各组大鼠结肠组织于 10% 甲醛溶液固定后,进行组织病理切片检查。显微镜下观察,对照组大鼠结肠组织表面光滑,肠黏膜上皮完整。模型组肠黏膜外膜出血、肠腔扩张,并可见炎性细胞浸润;五味子药渣提取物低剂量组大鼠肠黏膜较完整;五味子药渣提取物高剂量组大鼠结肠组织表面光滑,肠黏膜较完整。结果见图 3。

**2.2.5 五味子药渣提取物对模型大鼠肠道菌群结构的影响** 采用逼迫法无菌采集各组大鼠新鲜粪便样本于已灭菌的离心管中,取新鲜粪便 0.2 g 加入 0.9 mL 生理盐水,在振荡器上使之匀浆,标本按照 10 倍连续稀释法稀释至  $1 \times 10^{-6}$ ,分别取  $1 \times 10^{-4}$ 、 $1 \times 10^{-5}$  和  $1 \times 10^{-6}$  稀释液 0.01 mL 接种于选择性培养基上,每种稀释度接种 3 滴。将乳酸杆菌培养基和双

歧杆菌培养基置于厌氧罐中,并放入厌氧袋封闭,在 37 °C 恒温培养箱中培养 48 h。肠球菌培养基和肠杆菌培养基直接放入 37 °C 恒温培养箱中培养 48 h 即可。菌落长出后计数,并计算每克粪便中各菌群的菌落形成单位 (lgCFU/g)。结果见表 2。与对照组比较,模型组乳酸杆菌和双歧杆菌减少,肠球菌和肠杆菌明显增多 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,五味子药渣提取物高、低剂量组大鼠肠道中的乳酸杆菌、双歧杆菌数量明显增加,肠球菌、肠杆菌数量明显减少 ( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

目前,五味子资源的利用仍以其成熟果实用于中药工业和中医临床配方调剂等。年需量 3 000 余吨。在五味子药材采收加工过程中,每年有大量五味子果肉、果梗、茎叶、药渣等废弃物产生,大部

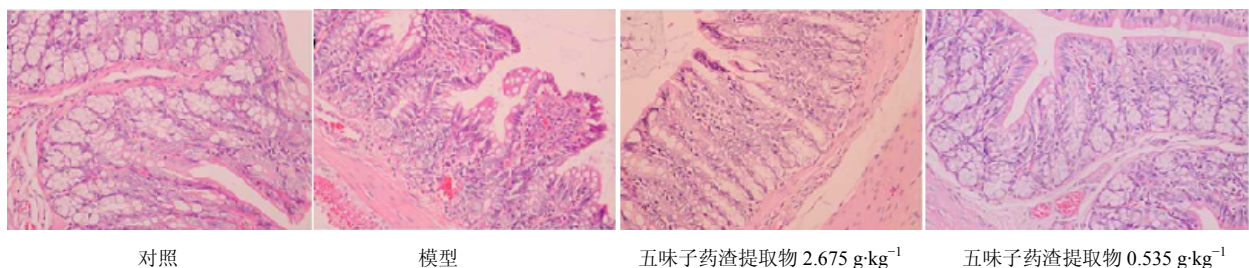


图 3 各组大鼠结肠组织病理观察结果

Fig. 3 Observation on pathological changes in colonic tissue of rats in each group

表 2 各组大鼠肠道细菌菌落比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 2 Comparison on intestinal bacterial colonies of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	菌落形成单位/(lgCFU·g <sup>-1</sup> )			
		乳酸杆菌	双歧杆菌	肠球菌	肠杆菌
对照	—	7.12 ± 0.15	7.21 ± 0.22	6.65 ± 0.14	6.63 ± 0.23
模型	—	6.48 ± 0.23*	6.95 ± 0.40*	7.18 ± 0.27*	7.15 ± 0.34*
五味子药渣提取物	2.675	7.09 ± 0.25 <sup>#</sup>	7.24 ± 0.49 <sup>#</sup>	6.59 ± 0.55 <sup>#</sup>	6.69 ± 0.30 <sup>#</sup>
	0.535	6.69 ± 0.23 <sup>#</sup>	6.98 ± 0.33 <sup>#</sup>	6.96 ± 0.28 <sup>#</sup>	6.78 ± 0.45 <sup>#</sup>

分被丢弃或焚烧,造成资源浪费<sup>[12]</sup>。然而中药废渣的产生主要以中药制剂生产带来的废渣量最大,约占废弃药渣总量的 70%<sup>[13]</sup>。因此,对五味子药渣亟待通过现代科学技术及集成技术进行系统回收利用。研究发现,利用生物技术、通过微生物发酵将药渣转化为菌体蛋白饲料,可大幅度提高药渣的利用价值<sup>[11]</sup>。如利用白腐菌对中药渣进行固态发酵,发现在经过 3~5 d 的发酵后,发酵产物的真蛋白质量分数比原料本身高 71.34%<sup>[14]</sup>。五味子药渣经蛹虫草菌发酵后能提高仔猪的免疫功能<sup>[15]</sup>。此外,五味子中蛋白质类、多糖类、纤维素类成分尚可利用生物转化技术制备饲料添加剂、生物肥料等高附加值产品,实现废弃物的转化增效价值。

五味子现代药用主要治疗以 ALT 升高为主要体征的肝炎等症,现已利用该资源及其所含资源性化学成分研制成中成药制剂如联苯双酯胶囊、五仁醇胶囊等。肝脏在调节身体多种功能上起着至关重要的作用,包括合成、分泌和外源物质的代谢等。CCl<sub>4</sub> 是一种在实验动物研究中用于诱导肝损伤的最为常用的肝毒素<sup>[16]</sup>。在肝细胞微粒体细胞色素 P450 的作用下,CCl<sub>4</sub> 发生反应释放三氯甲基自由基、三氯甲基过氧自由基等自由基以及一系列活性氧类物质,肝脏细胞膜、内质网膜等发生脂质过氧化,蛋白质变性,DNA 受损,最终导致肝细胞死亡<sup>[17]</sup>。ALT 与 AST 是诊断肝脏疾病最常用的酶,主要分布于肝脏,肝炎、肝硬化、药物中毒导致肝细胞坏死时,ALT 和 AST 的量就会明显增高,其中 ALT 是最敏感的肝功能检测指标之一<sup>[18]</sup>。现代研究发现五味子甲素和五味子醇甲对 CCl<sub>4</sub> 所致肝脏损伤具有保护作用<sup>[19]</sup>。五味子乙素和五味子醇甲对 PC12 细胞氧化损伤具有保护作用<sup>[20]</sup>。五味子木脂素类成分中护肝主要活性成分的体外筛选中发现,五味子乙素护肝作用最强<sup>[21]</sup>。本实验发现,与模型组相比,五味子药渣提取物高剂量组大鼠血清中的 ALT、AST 明显降低,ALB、TP 水平升高。结合肝脏的病理切片,可知五味子药渣提取物对 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤大鼠具有治疗作用,对肝脏组织结构病变有一定的修复作用,这与之前的文献报道<sup>[4,19]</sup>一致。因此,五味子中的木脂素类成分在发挥着保护肝脏的重要作用,推测其保护作用的机制是通过清除氧自由基、减轻其对 DNA 的损伤等方面实现的。

肝功能损伤后常常会影响肠黏膜屏障功能的改变,肠内菌群失调。本实验发现,五味子药渣提

取物高、低剂量组的益生菌(双歧杆菌和乳酸杆菌)菌落较模型组增加,有害菌(肠球菌和肠杆菌)菌落减少,说明五味子药渣提取物具有增殖益生菌、抑制有害菌过度生长的作用,对 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤大鼠的肠道菌紊乱方面有一定的调节作用;此外,结合结肠病理观察,发现五味子药渣提取物高、低剂量组较模型组肠黏膜损伤明显减轻,可见五味子药渣提取物能保护大鼠结肠组织结构的完整性,并可促进肠黏膜损伤恢复,为其资源化利用提供了重要支撑。

#### 参考文献

- [1] 金银萍,焉石,刘俊霞,等.五味子科植物中降三萜类成分及其药理作用研究进展[J].中草药,2014,45(11):1643-1650.
- [2] 周洪玉.生脉注射液药效物质基础研究[D].长春:吉林大学,2011.
- [3] 陈玮莹,温博贵,郑瑞明,等.五味子对 CCl<sub>4</sub> 中毒大鼠肝细胞核基质蛋白和结构的保护作用[J].免疫学杂志,2006,22(4):455-459.
- [4] 齐彦,郭丽新,周迎春,等.五味子对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤的作用研究[J].中医学报,2009,37(4):26-27.
- [5] 王胜春,田卫斌,李剑锋,等.五味子及其与丹参灵芝柴胡配伍对慢性肝损伤的影响[J].解放军药学报,2001,17(1):4-7.
- [6] 王宝莲,扈金萍,盛莉,等.五味子醇提物的化学-药代-药效指纹图谱研究(英文)[J].药学报,2013,48(5):734-740.
- [7] 孔华丽,闫亮,段惠娟.五味子醇提取物保肝作用成分分析[J].解放军药学报,2010,26(1):27-29.
- [8] 李宜轩,陈建光,李凤,等.北五味子提取物对实验性肝纤维化大鼠肝损伤的保护作用[J].吉林大学学报:医学版,2014,40(2):285-288.
- [9] 蔡晶,张庆,肖峰,等.五味子乙素对人肝细胞氧化损伤的保护作用[J].天然产物研究与开发,2014,26(5):766-769.
- [10] 雷金艳,贾建伟,李秋伟,等.鲜生地对肝损伤大鼠肠道生物屏障和机械屏障功能的影响[J].山东医药,2012,52(45):28-30.
- [11] 陶小芳,沈飞,宿树兰,等.生脉注射液生产过程五味子药渣中资源性物质的分析与循环利用途径探讨[J].中草药,2015,46(18):2712-2719.
- [12] 段金彪.中药废弃物的资源化利用[M].北京:化学工业出版社,2013.
- [13] 刘萍,张海英.论中药药渣的合理利用[J].新疆中医药,2002,20(6):49.

- [14] 王 兵, 王向东, 秦 岭, 等. 中药渣固态发酵生产蛋白饲料 [J]. 食品与生物技术学报, 2007, 26(4): 77-82.
- [15] 罗 杰, 黄朝翔, 贺晓玉, 等. 蛹虫草菌发酵五味子药渣菌质的免疫活性 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(8): 355-358.
- [16] Vuda M, D'Souza R, Upadhya S, *et al.* Hepatoprotective and antioxidant activity of aqueous extract of *Hybanthus enneaspermus* against CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in rats [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2012, 64(7/8): 855-859.
- [17] Abbas A T, El-Shitany N A, Shaala L A, *et al.* Red sea *Suberea mollis* Sponge extract protects against CCl<sub>4</sub>-induced acute liver injury in rats via an antioxidant mechanism [J]. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2014, doi: 10.1155/2014/745606.
- [18] 齐 彦, 郭丽新, 周迎春, 等. 枸杞子对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤的作用研究 [J]. 中医学报, 2006, 34(4): 34.
- [19] 张明华, 陈 虹, 李灵芝, 等. 五味子甲素和五味子醇甲对四氯化碳所致肝脏损伤的保护作用 [J]. 武警医学, 2002, 13(7): 395-396.
- [20] 王 蕾, 唐 勇, 黄 山. 五味子乙素和五味子醇甲对PC12 细胞氧化损伤的保护作用 [J]. 中国临床康复, 2006, 10(47): 64-67.
- [21] 王 昌, 张东杰. 五味子木脂素类成分中护肝主活性成分的体外筛选 [J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2010, 22(2): 80-84.