

脂肝康药效学研究

岳 南, 只德广, 赵益桂, 苏 雅, 陈芙蓉

天津药物研究院 新药评价中心, 天津 300193

摘 要 目的: 观察脂肝康对动物实验性脂肪肝的治疗作用。方法: 采用乙硫氨酸、高脂饲料复制动物脂肪肝模型, iv 高分子右旋糖苷复制大鼠“血瘀”模型, 观察脂肝康的作用。结果: 脂肝康能明显降低实验性脂肪肝动物肝脏、血液中的总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)的量; 明显抑制“血瘀”大鼠全血粘度的升高。结论: 脂肝康对脂肪肝大鼠有明显的治疗作用。

关键词 血瘀; 脂肪肝; TC; TG; 脂肝康

中图分类号: R575.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2010)06-0416-04

Pharmacodynamic study of Zhigankang

YUE Nan, ZHI De-guang, ZHAO Yi-gui, SU Ya, CHEN Fu-rong

Center for Drug Evaluation and Research, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract **Objective:** To investigate the therapeutic effect of Zhigankang on experimental fatty liver. **Methods:** To observe the effect of Zhigankang on "blood stasis" of rats that were fed with ethionine, high-fat food, or by iv injection of high molecular Dextran. **Results:** Zhigankang significantly reduced TC and TG content in liver and blood of rats and inhibited the increase of whole blood viscosity in "blood stasis" rats. **Conclusion:** Zhigankang has obvious therapeutic effect on fatty liver in rats

Key words blood stasis; fatty liver; TC; TG; Zhigankang

脂肪肝是一种由多种原因引起的脂肪在肝细胞内过度堆积而形成的病变。正常肝内脂肪占肝重的3%~4%, 如果脂肪的量超过肝质量的5%即为脂肪肝。脂肝康是一种纯中药制剂, 主要由丹参、姜黄、三七等组成, 具有活血化瘀、祛痰降浊的功能, 临床用于脂肪肝的治疗, 并已取得了较好的疗效。根据该药的功能主治, 本实验采用小鼠乙硫氨酸模型、大鼠高脂饲料模型, 观察脂肝康对脂肪肝的治疗作用, 采用对“血瘀”大鼠全血粘度影响实验, 初步探讨其作用机制, 为临床研究提供试验依据。

1 材料

1.1 动物

昆明种小鼠、Wistar 种大鼠, 均由本院动物室提供, 合格证号: 津动质字第 001 号。

1.2 药物与试剂

脂肝康: 批号 050622, 棕褐色粉末, 天津药物研究院中药室提供; 东宝肝泰: 批号 041111, 片剂,

通化东宝药业股份有限公司生产; 复方丹参片: 批号 205001, 片剂, 石家庄市华龙药业股份有限公司产品; 乙硫氨酸: 产品货号 A13154, 美国 Sigma 公司产品; 10% 高分子右旋糖酐: 相对分子质量 3×10^5 , 批号 001216, 中国科学院血液研究所产品。

1.3 实验仪器

Olympus Au640 全自动生化分析仪, 日产; BRL-500 E 型锥板粘度计, 日本东京计器株式会社产品。

2 方法

2.1 脂肝康对乙硫氨酸致小鼠脂肪肝的影响

参照文献方法^[1]进行脂肝康对乙硫氨酸致小鼠脂肪肝的影响实验。选取体质量 22.8~25.6 g 的昆明种小鼠 60 只, 随机分为 6 组, 每组 10 只, 雌雄各半。脂肝康高、中、低剂量组分别 ig 24、12、6 g 生药/kg 的脂肝康, 阳性组 ig 1.6 g 药粉/kg 的东宝肝泰; 正常对照组、模型对照组均 ig 0.5% CMC,

收稿日期: 2009-12-08

作者简介: 岳 南(1964-),男, 江苏人, 主要从事新药临床前药效学研究。Tel: 022-23006886, E-mail: ynantj@163.com

ig 容积均为 20 $\mu\text{L/g}$ 体质量。每天 1 次, 连续 10 d。第 9 天除正常对照组外均 ig 1.25% 的乙硫氨酸 20 $\mu\text{L/g}$ 体质量, 24 h 后眼眶取血, 测血清总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)。脱臼处死, 取其肝脏, 称质量, 计算肝脏系数。取肝组织约 200 mg, 用乙醇-丙酮 (1:1) 混合液 2 mL 匀浆, 测肝脏 TC、TG, 观察脂肝康的作用。实验结果采用 *t* 值法进行统计分析。

2.2 脂肝康对高脂饲料致大鼠脂肪肝的影响

参照文献方法^[2]进行脂肝康对高脂饲料致大鼠脂肪肝的影响实验。选取体质量 130~150 g 雄性大鼠 80 只, 除正常组 10 只外, 其余大鼠均喂食高脂饲料 (配方为: 10% 猪油、1% 胆固醇、0.3% 胆盐、基础饲料 88.7%), 8 周后, 眼眶取血测定血液 TC、TG, 选用 TC、TG 已明显升高的大鼠 45 只, 随机、均衡分为模型对照组, 东宝肝泰 0.78 g 药粉/kg 剂量组, 脂肝康 12、6、3 g 生药/kg 剂量组, 加上正常对照组 10 只, 共 6 组, 进行实验。采用 ig 给药, 给药容积均为 10 $\mu\text{L/g}$ 体质量, 模型及正常对照组给予等容量 0.5% CMC, 每天 1 次, 每周 7 次, 连续 4 周。实验结束前大鼠禁食 12 h, 自眼眶静脉丛取血, 测血液 TG、TC; 摘取肝脏, 称质量, 计算脏器系数。取肝组织约 200 mg, 进行匀浆, 用乙醇-丙酮 (1:1) 混合抽提液 2 mL 匀浆, 测肝脏 TC、TG, 观察脂肝康的作用, 实验结果采用 *t* 值法进行统计分析。

2.3 脂肝康对“血瘀”大鼠全血粘度的影响

参考文献方法^[3]进行脂肝康对“血瘀”大鼠全血粘度的影响实验。选用雄性 Wistar 大鼠 60 只, 体质量 220~250 g, 随机分为 6 组, 每组 10 只。给

药组分别 ig 脂肝康 12、6、3 g 生药/kg、阳性组 ig 复方丹参片 2 g 药粉/kg、模型对照组及正常对照组均 ig 0.5% CMC, 给药容积均为 10 $\mu\text{L/g}$ 体质量, 每天 1 次, 连续 10 d, 末次给药后 1 h, 除正常对照组外, 其余各组均 iv 10% 高分子右旋糖酐 (相对分子质量 3×10^5) 注射液 1 mL/kg, 造成高粘滞血症模型, 10 min 后, 腹主动脉取血, 以 3.8% 枸橼酸钠抗凝 (抗凝剂与全血的比为 1:9), 在 BRL-500 E 型锥板粘度计上测定全血粘度, 观察脂肝康的作用, 结果采用 *t* 值法进行统计分析。

3 结果

3.1 脂肝康对乙硫氨酸致小鼠脂肪肝的影响

表 1、2 结果显示, 与正常对照组比较, 模型对照组小鼠肝脏的脏器系数显著升高, 小鼠肝脏、血液中 TG 的量显著升高, 表明造模成功。与模型对照组比较, 脂肝康 24 g 生药/kg 剂量组能显著降低肝脏和血液中 TG 的量。阳性组东宝肝泰 1.6g 生药/kg 剂量组仅显著降低肝脏 TG。以上结果表明, 脂肝康能显著抑制乙硫氨酸致小鼠脂肪肝的形成, 作用效果优于等效量的东宝肝泰片。

3.2 脂肝康对高脂饲料致脂肪肝模型大鼠的影响

表 3、4 结果显示, 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠肝脏、血液中 TG 和 TC 的量显著升高, 表明造模成功。与模型对照组比较, 脂肝康 12、6 g 生药/kg 剂量组显著降低肝脏、血液中 TG 的量, 12 g 生药/kg 的剂量组还显著降低肝脏 TC 的量, 阳性药东宝肝泰片 0.78 g 药粉/kg 剂量组仅显著降低肝脏 TG 的量。以上结果表明, 脂肝康能显著抑制高脂饲料致大鼠脂肪肝的形成, 作用效果优于等效量的东宝肝泰。

表 1 脂肝康对乙硫氨酸所致小鼠脂肪肝肝脏系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of Zhigankang on liver coefficient in fatty liver rats induced by ethionine ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g 生药·kg ⁻¹)	体质量/g	肝质量/g	肝脏系数
正常对照组	—	29.5 ± 2.9	1.4385 ± 0.26	0.48 ± 0.052
模型对照组	—	27.8 ± 2.4	1.5403 ± 0.12	0.56 ± 0.049*
脂肝康组	24	26.9 ± 3.0	1.4094 ± 0.22	0.52 ± 0.062
	12	27.2 ± 1.8	1.4161 ± 0.17	0.52 ± 0.052
	6	27.2 ± 2.1	1.4248 ± 0.13	0.53 ± 0.067*
东宝肝泰组	1.6	27.1 ± 2.1	1.4016 ± 0.18	0.52 ± 0.074

与正常对照组比较: **P* < 0.05, ***P* < 0.01

P* < 0.05, *P* < 0.01 vs normal group

表 2 脂肝康对乙硫氨酸所致小鼠脂肪肝肝脏和血液 TG、TC 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Zhigankang on TG, TC of liver and blood in fatty liver rats induced by ethionine ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g 生药·kg ⁻¹)	肝 脏				血 液	
		TG/(mmol·L ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG·g ⁻¹ 肝 (μmol·g ⁻¹ 肝)	TC·g ⁻¹ 肝 (μmol·g ⁻¹ 肝)	TG (mmol·L ⁻¹)	TC (mmol·L ⁻¹)
正常对照组	—	1.38±0.62	0.82±0.10	13.6±6.08	8.11±0.94	1.38±0.27	2.60±0.32
模型对照组	—	3.88±0.60 ^{△△△}	0.80±0.047	38.3±6.14 ^{△△△}	7.92±0.61	1.94±0.47 ^{△△}	2.09±3.66 ^{△△}
脂肝康组	24	2.83±0.89 ^{**}	0.77±0.066	28.0±8.85 ^{**}	7.59±0.65	1.41±0.19 ^{**}	1.87±0.55
	12	3.03±0.73 [*]	0.76±0.067	30.0±6.64 ^{**}	7.49±0.68	1.58±0.68	1.86±0.48
	6	3.48±0.70	0.86±0.078	34.5±7.00	8.57±0.85	2.01±0.52	1.86±0.50
东宝肝泰组	1.56	2.87±0.88 ^{**}	0.80±0.127	28.9±8.85 [*]	8.09±1.40	1.66±0.24	1.97±0.46

与正常对照组比较: ^{△△}*P*<0.01, ^{△△△}*P*<0.001; 与模型对照组比较: ^{*}*P*<0.05, ^{**}*P*<0.01

^{△△}*P*<0.01, ^{△△△}*P*<0.001 vs normal group; ^{*}*P*<0.05, ^{**}*P*<0.01 vs model group

表 3 脂肝康对高脂饲料致大鼠脂肪肝模型肝脏的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Zhigankang on liver in fatty liver rats induced by feeding high-fat food ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂 量/ (g 生药·kg ⁻¹)	体质量/g	肝质量/g	TG/	TC/	TG·g ⁻¹ 肝	TC·g ⁻¹ 肝
				(mmol·L ⁻¹)	(mmol·L ⁻¹)	(μmol·g ⁻¹ 肝)	(μmol·g ⁻¹ 肝)
正常对照组	—	394.4±21.9	11.78±1.44	1.474±0.34	1.095±0.43	0.0145±0.003	0.0108±0.004
模型对照组	—	416.8±52.0	14.65±2.03 ^{△△}	3.606±0.26	2.891±0.25 ^{△△△}	0.0356±0.002 ^{△△△}	0.0286±0.003 ^{△△}
脂肝康组	12	427.4±45.9	16.50±2.11	2.482±0.57	2.322±0.48 ^{**}	0.0243±0.006 ^{***}	0.0227±0.005 ^{**}
	6	418.3±56.4	15.73±3.49	20.424±0.54	2.537±0.36 [*]	0.0239±0.005 ^{***}	0.025±0.004 [*]
	3	412.1±64.2	15.26±1.20	3.135±0.52	2.776±0.22	0.0309±0.005 [*]	0.0274±0.005
东宝肝泰组	0.78	427.0±38.5	16.82±3.01	2.521±0.55	4.274±0.40 ^{***}	0.0242±0.006 ^{***}	0.0218±0.004 ^{***}

与正常对照组比较: ^{△△}*P*<0.01, ^{△△△}*P*<0.001; 与模型对照组比较: ^{*}*P*<0.05, ^{**}*P*<0.01, ^{***}*P*<0.001

^{△△}*P*<0.01, ^{△△△}*P*<0.001 vs normal group; ^{*}*P*<0.05, ^{**}*P*<0.01, ^{***}*P*<0.001 vs model group

表 4 脂肝康对高脂饲料致大鼠脂肪肝模型血脂的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of Zhigankang on blood lipid in fatty liver rats induced by feeding high-fat food ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g 生药·kg ⁻¹)	给 药 前		给 药 后	
		TG/ (mmol·L ⁻¹)	TC/ (mmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	TC/ (mmol·L ⁻¹)
正常对照组	—	1.055±0.42	2.006±0.38	1.107±0.54	2.023±0.42
模型对照组	—	1.854±0.91 [△]	3.186±0.54 ^{△△△}	2.146±1.22 [△]	3.886±0.67 ^{△△△}
脂肝康组	12	1.854±0.98 [△]	3.035±0.45 ^{△△△}	1.191±0.46 [*]	3.480±0.66
	6	1.810±0.82 [△]	3.236±0.57 ^{△△△}	1.673±1.06	3.599±1.00
	3	1.799±0.77 [△]	3.010±0.67 ^{△△△}	2.451±0.88	3.357±0.80
东宝肝泰组	0.78	1.789±0.77 [△]	3.129±0.28 ^{△△△}	2.990±1.19	3.860±1.08

与正常对照组比较: [△]*P*<0.05, ^{△△△}*P*<0.001; 与模型对照组比较: ^{*}*P*<0.05

[△]*P*<0.05, ^{△△△}*P*<0.001 vs normal group; ^{*}*P*<0.05 vs model group

3.3 脂肝康对高粘滞血症大鼠全血粘度的影响

表 5 结果显示, 静注高分子右旋糖酐后, 与正常对照组比较, 模型对照组各切速的全血粘度均显著升高, 表明已造成大鼠高粘滞血症模型。脂肝康 12、6 g 生药/kg 剂量组显著抑制各切速下的全血粘

度的升高, 3 g/kg 剂量组能显著降低低切速下的全血粘度, 对高切速下的全血粘度无明显影响, 表明脂肝康具有显著的抗高粘滞血症作用。阳性对照药复方丹参也有相似作用。

表5 脂肝康对高粘滞血症大鼠全血粘度的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effect of Zhigankang on whole blood viscosity in hyperviscosity blood rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂 量/ (g 生药·kg ⁻¹)	全 血 粘 度/ (mPa.s)			
		7.5 S ⁻¹	18.8 S ⁻¹	37.5 S ⁻¹	75 S ⁻¹
正常对照组	—	10.48±0.79	4.83±0.35	2.89±0.26	2.22±0.24
模型对照组	—	20.03±2.55 ^{△△△}	8.67±0.94 ^{△△△}	4.90±0.46 ^{△△△}	3.62±0.32 ^{△△△}
脂肝康组	12	14.02±1.67 ^{***}	6.29±0.70 ^{***}	3.67±0.40 ^{***}	2.77±0.31 ^{***}
	6	15.49±2.14 ^{***}	6.83±0.90 ^{***}	3.93±0.51 ^{***}	2.94±0.39 ^{***}
	3	20.52±2.05	8.66±0.78	4.77±0.41	3.47±0.30
复方丹参组	2	15.50±2.24 ^{***}	6.93±0.89 ^{***}	4.03±0.47 ^{***}	3.03±0.33 ^{***}

与正常对照组比较: ^{△△△} $P < 0.001$; 与模型对照组比较: ^{***} $P < 0.001$

^{△△△} $P < 0.001$ vs normal group; ^{***} $P < 0.001$ vs model group

4 讨论

肝脏是脂类的主要代谢场所,对脂类的消化、吸收、氧化、分解、转化等起重要的调节作用,维持脂类代谢的动态平衡。血液中血脂浓度过高,若超过肝脏的转化能力,或因肝细胞合成TG增多、载脂蛋白的合成、分泌障碍等原因,导致脂肪在肝内蓄积,并在肝细胞中形成脂肪微滴,引起脂肪肝,进一步发展可导致肝硬变^[4]。目前西医对脂肪肝的治疗主要采用降脂疗法,由于降脂药物对肝脏有较大的毒副作用,且停药后血脂回升较快,因此急需寻找疗效好、副作用小的治疗药物。临床观察显示,中药治疗脂肪肝有其独特的优势,它的辩证求因、多功能、多靶点的综合治疗能起到很好疗效。

中医认为脂肪肝是由于过食肥甘厚味或嗜酒无度,导致痰浊淤滞所致。脂肝康具有活血化痰、祛痰降浊等功效,其中丹参中的二氢丹参酮I具有降血脂作用^[5],姜黄素对高脂模型大鼠具有降低血脂和抗脂质过氧化的双重作用^[6-7],三七皂苷可改善兔动脉粥样硬化斑块稳定性^[8],从而能达到治疗脂肪肝的目的。本实验采用乙硫氨酸和高脂饲料所致脂肪肝的两个实验模型,对脂肝康进行实验研究。乙硫氨酸的结构与甲硫氨酸相似,后者为体内甲基转化的供体,乙硫氨酸与之竞争,取代甲基而提供乙基使肝脏蛋白合成障碍,把TG转运出肝脏的载脂蛋白合成减少,导致TG在肝脏的蓄积而导致脂肪肝的发生^[9]。脂肝康能降低乙硫氨酸所致脂肪肝小鼠肝脂水平,可能对脂肪输出障碍有一定的改善作用,也可能促进了脂质的代谢。喂食高脂饲料主要

是增加外源性脂质,使进入肝脏的脂质增多,导致肝脏转化发生障碍,脂肪在肝内的淤结,发生脂肪肝,脂肝康能对抗高脂饲料所致的大鼠脂肪肝,可能与它抑制外源性脂质吸收以及促进肝脂的代谢有关。研究还表明,脂肝康能抑制高粘滞血症大鼠血液粘度的升高,说明脂肝康能促进血液循环,减少脂质在血管中的粘附,加快有害物质的排出,从而改善机体代谢,达到治疗的目的。

参考文献

- [1] 林 青,张 超,李立纪,等. 去脂软肝丸对实验性脂肪肝肝脂的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2000, 9 (5): 33-34
- [2] 倪燕军,刘厚钰. 脂肪肝的发病机理和诊断治疗研究进展[J]. 国外医学消化系疾病分册, 1997, 17 (3): 158-162
- [3] 毛腾敏. 以活血化痰的预防性治疗检测大白鼠急性血瘀模型[J]. 北京医科大学学报, 1987, 19 (4): 234
- [4] 陈银华,雷 陵,张茂林,等. 神农肝脂宁对大鼠实验性脂肪肝的影响[J]. 中西医结合肝病杂志, 2003, 13 (4): 221-222
- [5] 林肖惠,徐为人,刘 鹏,等. 二氢丹参酮I的降血脂作用研究[J]. 中草药, 2008, 39 (9): 1378-1380.
- [6] 石 晶,王中孝,田亚平,等. 姜黄素对高脂血症大鼠血浆和肝脏超氧化物歧化酶和脂质过氧化物的影响[J]. 中草药, 1997, 28 (5): 285-287.
- [7] 狄建彬,顾振纶,赵笑东,等. 姜黄素防治大鼠高脂性脂肪肝的研究[J]. 中草药, 2010, 41 (8): 1322-1326.
- [8] 袁志兵,李晓辉,李淑惠,等. 三七总皂苷改善兔动脉粥样硬化斑块稳定性的机制探讨[J]. 中草药, 2006, 37 (5): 741-743.
- [9] 李仪奎,王钦茂,周黄金,等. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991.