

银杏叶提取物与刺梨配伍抗实验性肝损伤作用

潘苏华, 牛文明, 吴 丽, 于瑞莲 (南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046)

摘要 目的:比较复方银杏叶胶囊(CGB)与单方银杏叶提取物(GBE)的保肝作用。方法:用CGB、GBE给小鼠灌胃30d后,腹腔注射CCl₄诱发肝损伤,测定小鼠血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)及肝匀浆超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)含量;用H₂O₂诱导人肝L-02细胞氧化损伤,观察细胞增殖及总抗氧化能力。结果:CGB 2、4、0.8和0.4g/kg 3个剂量组与模型组比较,小鼠血清ALT、AST明显降低($P < 0.01$, $P < 0.05$),同时肝匀浆中SOD显著升高、MDA下降($P < 0.01$, $P < 0.05$);CGB组细胞增殖率和总抗氧化能力分别较模型组和单方组显著提高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论:CGB的抗肝损伤作用优于单方银杏叶提取物。

关键词 银杏叶;刺梨;抗氧化;银杏酸

中图分类号:R965.1 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2009)06-0437-03

Effects of compatibility program of Ginkgo biloba extracts and Rosa roxburghii on experimental liver injury

PAN Su-hua, NIU Wen-min, WU Li, YU Rui-lian (School of pharmacy, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

ABSTRACT Objective: To study the protective effect of compound *Ginkgo biloba* (CGB) on hepatic injury. **Methods:** Animal model of chemical hepatic injury was established by ip CCl₄ in mice, the content of ALT, AST in rats' serum, the content of MDA and the activity of SOD in liver homogenate were assayed after intragastric administration 30 days in mice with *Ginkgo biloba* extracts (GBE), compound *Ginkgo biloba* (CGB). The model of human normal hepatocyte L-02 induced by H₂O₂ was prepared, determining the level of total antioxidant capacity in serum (TAOC), and the proliferation of hepatocyte L-02 using MTT. **Results:** The content of AST, ALT in rats' serum levels in groups of CGB (2, 4, 0.8 g/kg) decreased significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$), the activity of SOD increased significantly and the MDA levels decreased obviously in liver homogenate of mice. The CGB can remarkably increase the level of TAOC and the proliferation of liver cell L-02. **Conclusion:** CGB are better than GBE in protecting chemical liver injury.

KEY WORDS *Ginkgo biloba*; *Rosa roxburghii*; antioxidation activities; Ginkgolic acids

银杏叶制剂广用于老年性疾病,但国外报道银杏叶提取物(GBE)可损害自发性高血压小鼠肝功能^[1]。且GBE中残留的银杏酸(GA)可致细胞过敏或变异^[2,3],临床可见恶心、呕吐等消化道不良反应^[4]。为降低银杏叶制剂的用药风险,选择具有健胃消食、保肝作用的刺梨与GBE配伍成复方银杏叶胶囊(CGB)。经药效研究表明CGB具有降低甘油三酯^[5]作用。为观察单、复方银杏叶制剂的保肝作用,采用CCl₄诱发小鼠肝损伤及H₂O₂诱导人肝L-02细胞氧化损伤模型,进行抗肝损伤作用比较。

1 仪器与材料

1.1 药物与试剂 银杏叶提取物(GBE,批号070624,徐州陈楼有限公司),刺梨汁粉(本室制备060829),非诺贝特(法国利博福尼制药公司,批号12143)。胰蛋白酶(美国Sigma公司),MTT(北京夏斯生物技术有限公司),DMEM干粉培养基、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、总抗氧化能力(TAOC)试剂盒(南京建成公司),其他试剂均为国产分析纯。

1.2 动物 清洁级昆明种健康小鼠,雄性,体重19~22g, (上海斯莱克实验动物有限责任公司)。

1.3 仪器 自动生化分析仪(日立7180型);酶标仪(南京华东电子集团有限公司);CO₂培养箱(美国Forma Scientific公司);倒置显微镜(日本Olympus公司)。

基金项目:江苏省中医局基金项目(H-024)。

作者简介:潘苏华(1956-),女,副研究员。E-mail: shpan222@yahoo.com.cn.

2 方法

2.1 复方银杏叶胶囊抗 CCl_4 急性肝损伤作用 按随机区组法将小鼠分为 7 组:对照组、模型组、GBE 组 (0.4 g/kg)、CGB 高、中、低剂量组 (2.4、0.8 和 0.4 g/kg)、非诺贝特 (0.009 g/kg) 组。试药连续灌胃 30 d, 1 次/d。末次给药后 1 h, 第 2~7 组按 10 mL/kg 腹腔注射 0.4% CCl_4 花生油溶液, 正常组注射等体积花生油。16 h 后取血测定 ALT、AST, 并测肝匀浆中 SOD、MDA 含量。

2.2 复方银杏叶胶囊体外抗肝细胞氧化损伤作用 人肝 L-02 细胞, 用 10% DMEM 胎牛血清培养, 取对数生长期细胞, 细胞密度以 2.5×10^4 孔接种于 96 孔板。每孔 200 μ L。设正常组、模型组、GBE 单方组、CGB 高、中、低剂量组、非诺贝特组, 每组平行 8 个复孔, 孵育 24 h。加每孔终浓度为 600 μ mol/L 的 H_2O_2 , 并加终浓度为 CGB 500、50 和 5 μ g/mL, GBE 250 μ g/mL, 非诺贝特 50 μ g/mL 的试药共孵育 10 h。MTT 法检测细胞增殖率, TAOC 试剂盒检测细胞上清总抗氧化能力。

2.3 数据处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS11.5 软件进行方差分析。

3 结果

3.1 血清转氨酶变化 数据经统计分析显示, 模型组血清 ALT、AST, 与正常组对比显著升高, 说明造模成功; 试药组与模型组比较, CGB 高、中剂量可显著抑制 CCl_4 所致小鼠血清 ALT、AST 的升高, GBE 组及复方银杏叶低剂量组仅可抑制血清 ALT 升高 (表 1)。

表 1 单方与复方银杏叶胶囊对化学性肝损伤小鼠转氨酶的影响 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	ALT(U/L)	AST(U/L)
正常组		37.75 \pm 11.23	137.75 \pm 26.04
模型组		747.17 \pm 62.70 ¹⁾	841.00 \pm 98.26 ¹⁾
GBE 单方组	0.4	431.18 \pm 67.69 ³⁾	452.36 \pm 96.10 ³⁾
非诺贝特	0.009	428.11 \pm 45.26 ³⁾	537.17 \pm 86.15 ³⁾
复方高剂量	2.4	417.92 \pm 50.95 ³⁾	440.50 \pm 53.53 ³⁾
复方中剂量	0.8	394.21 \pm 52.05 ³⁾	508.07 \pm 54.11 ³⁾
复方低剂量	0.4	385.43 \pm 61.37 ³⁾	517.29 \pm 73.90 ³⁾

¹⁾ $P < 0.01$, 与正常组比较; ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$, 与模型组比较

3.2 血清 SOD 与 MDA 的变化 经 CCl_4 刺激后, 与正常组比较, 模型组小鼠血清 SOD 含量显著下降, MDA 含量显著升高, 表明造模有效; 与模型组和 GBE 组分别比较, CGB 高、中剂量组血清 SOD 均显著升高, 各试药组血清 MDA 含量均较模型组显著下降 (表 2)。

3.3 L-02 细胞体外抗氧化损伤防护作用 CGB 50

μ g/mL、500 μ g/mL 与过氧化氢共孵育人肝 L-02 细胞 10 h 后, 与模型组比较, 各试药组 L-02 细胞的增值及 TAOC 均明显提高, 与单方组比较, 复方高、中剂量组细胞总抗氧化能力提高显著 (表 3)。

表 2 单、复方银杏叶胶囊对化学性肝损伤小鼠 SOD、MDA 的影响 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	SOD (U/mg prot)	MDA (nmol/mg prot)
正常组		18.62 \pm 1.78	49.27 \pm 7.86
模型组		7.70 \pm 1.71 ¹⁾	80.27 \pm 12.82 ¹⁾
GBE 单方组	0.4	11.68 \pm 1.16 ³⁾	58.23 \pm 8.25 ²⁾
非诺贝特	0.009	13.47 \pm 1.70 ³⁾	55.22 \pm 10.05 ³⁾
复方高剂量	2.4	16.52 \pm 1.34 ³⁾⁴⁾	51.36 \pm 6.31 ³⁾
复方中剂量	0.8	16.61 \pm 1.19 ³⁾⁴⁾	47.80 \pm 10.99 ³⁾
复方低剂量	0.4	12.55 \pm 1.18 ³⁾	56.92 \pm 8.92 ³⁾

¹⁾ $P < 0.01$, 与正常组比较; ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$, 与模型组比较;

⁴⁾ $P < 0.01$, 与 GBE 组比较

表 3 单、复方银杏叶体外肝细胞抗氧化作用 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (μ g/ml)	细胞增殖 (OD 值)	TAOC (U/mL)
正常组		0.91 \pm 0.05	522.36 \pm 51.88
模型组		0.37 \pm 0.04 ²⁾	346.94 \pm 110.86 ¹⁾
GBE 单方组	250	0.61 \pm 0.07 ³⁾	555.52 \pm 34.45 ²⁾
非诺贝特	50	0.70 \pm 0.07 ³⁾	563.02 \pm 26.02 ²⁾
CGB 高剂量	500	0.81 \pm 0.08 ³⁾	726.35 \pm 52.43 ³⁾⁴⁾
CGB 中剂量	50	0.79 \pm 0.07 ³⁾	729.16 \pm 74.19 ³⁾⁴⁾
CGB 低剂量	5	0.60 \pm 0.08 ²⁾	565.24 \pm 61.84 ²⁾

¹⁾ $P < 0.001$, 与正常组比较; ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$, 与模型组比较;

⁴⁾ $P < 0.05$, 与单方组比较

4 讨论

本研究采用 CCl_4 及 H_2O_2 分别造成肝组织或细胞损伤, 因 CCl_4 及 H_2O_2 对细胞膜产生氯化或氧化作用, 并穿过细胞膜与细胞内铁离子生成活性更强的自由基, 导致系列氧化损伤反应而破坏细胞结构与功能。研究结果显示, CGB 可减轻该过氧化对肝的损伤, 而且抗氧化能力较单方 GBE 更为显著。是否因刺梨中含有大量的 SOD、维生素 C 和黄酮类物质与银杏叶黄酮产生了协同作用, 尚待抗氧化协同机制的深入研究。

鉴于 CGB 的主要功效为降甘油三酯, 本试验还用了非诺贝特对照, 从动物的一般观察可见 CGB 组小鼠的纳食、精神均较非诺贝特组好, 解剖还见非诺贝特组小鼠肝脏普遍增大, 各试药组肝脏的病理及免疫组化等分析正在进行中。由此提示, 降低甘油三酯的同时不能忽视保护肝脏和改善消化功能, 健康降脂研究对于降低高甘油三酯症用药风险颇为重要。

(下转第 444 页)

需要重视的是,尽管预防性使用抗菌药物的效果是肯定的,但它并不能代替手术前后严格的消毒灭菌技术和精细的无菌操作。通过本次调查表明,我院在抗菌药物使用上的基本情况是好的,使用抗菌药物种类以一线抗菌药物为主,术后创口感染率低,但在预防性使用抗菌药物品种选择、用药时间、联合用药、药敏试验上存在一定的缺陷。今后应加强医院的制度化管理,如临床医护人员抗生素知识的培训,掌握抗菌药物应用的指导原则,定期通报本院合理用药现状及临床药学人员的监督指导,同时检验科加强细菌培养和药敏试验方面的工作,以促进抗菌药物在我院的合理应用。

参考文献:

[1] Fry DE. Basic aspects of and general problems in surgical infec-

tions[J]. Surg infect(Larchmt), 2001, 2 (suppl1): S3.
 [2] 杜小莉,徐小微,李美英,等. 我院围手术期抗菌药物使用调查[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(10): 1265
 [3] 李六亿,于丽华,巩军,等. 抗菌药物应用现状及管理对策的探讨[J]. 中华医院感染学杂志, 1999, 9(4): 193.
 [4] ZHANG SG,WANG AX. Round table conference summary of rational use of anti-infection drugs[J]. Evaluation and analysis of drug use in hospital of China, 2005, 5(5): 259.
 [5] 邱蔚六主编. 口腔颌面外科理论与实践(第一版)[M]. 北京,人民卫生出版社, 1998: 194.
 [6] Harbarth S, SamoreMH, LichtenbergD, et al Prolonged antibiotic prophylaxis after cardiovascular surgery and its effect on surgical site infections and antimicrobial resistance[J]. Circulation, 2000, 101(25): 2916.
 [7] 黎沾良,合理使用抗菌药物预防手术部位感染[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2003, 10(1): 15.

收稿日期: 2009-10-31

(上接第 438页)

参考文献:

[1] Tada YU, Kagota S, Kubota Y, et al Long-term feeding of *Ginkgo biloba* extract impairs peripheral circulation and hepatic function in aged spontaneously hypertensive rats[J]. Biol Pharm Bull, 2008, 31(1): 68
 [2] Baron-Ruppert G,Luepke NP. Evidence for toxic effects of alkyl phenols from *Ginkgo biloba* in the hen egg test(HET)[J]. Phytomedicine, 2001, 8(2): 133.

[3] Koch E, Jaggy H, Chatteljee SS. Evidence for immunotoxic effects of crude *Ginkgo biloba* L. leaf extracts using the popliteal lymph node assay in the mouse[J]. Int J Immunopharmacol, 2000, 22(3): 229.
 [4] 刘荣,王慧力,李成健,等. 银杏叶片不良反应[J]. 中国误诊学杂志, 2005, 5(9): 1774.
 [5] 邢精红,潘苏华. 复合银杏叶片调节血脂作用的评价试验研究[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(10): 944.

收稿日期: 2009-09-20

《药学实践杂志》2009年第6期继续教育试题答题卡

姓名		科别		职称	
邮编		电话			
工作单位					
▶试题 1	A	B	C	D	E
▶试题 2	A	B	C	D	E
▶试题 3	A	B	C	D	E
▶试题 4	A	B	C	D	E
▶试题 5	A	B	C	D	E
▶试题 6	A	B	C	D	E
▶试题 7	A	B	C	D	E
▶试题 8	A	B	C	D	E
▶试题 9	A	B	C	D	E
▶试题 10	A	B	C	D	E
▶试题 11	A	B	C	D	E
▶试题 12	A	B	C	D	E
▶试题 13	A	B	C	D	E
▶试题 14	A	B	C	D	E
▶试题 15	A	B	C	D	E
▶试题 16	A	B	C	D	E
▶试题 17	A	B	C	D	E
▶试题 18	A	B	C	D	E

注: 请将正确的答案用 2B 铅笔涂黑 答题卡复印有效
 回函地址: 上海市国和路 325号药学实践杂志编辑部收 (200433)