

田基黄中三个黄酮类化合物保肝退黄作用的实验研究

李沛波, 王永刚, 吴钉红, 吴 忠, 苏薇薇
(中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 【目的】 研究田基黄中槲皮苷(Quercetin-3- -D- rhamnose)、异槲皮苷(Quercetin-3- -D- glucoside)、田基黄苷(Quercetin-7- -D- rhamnose)3个黄酮类化合物的保肝退黄作用。【方法】选用四氯化碳(CCl₄)和D-氨基半乳糖胺(D-Gal)致大鼠急性肝损伤模型,观察3个黄酮类化合物对血清丙氨酸转氨酶(ALT)、门冬氨酸转氨酶(AST)的影响;用-萘异硫氰酸酯(ANIT)致小鼠黄疸性肝损伤模型,观察3个黄酮类化合物对血清总胆红素(T.BIL)的影响。【结果】异槲皮苷、槲皮苷、田基黄苷均能显著抑制CCl₄和D-Gal所致的大鼠血清ALT和AST升高,对ANIT所致的小鼠血清总胆红素升高有明显的降低作用。【结论】田基黄中3个黄酮类化合物异槲皮苷、槲皮苷、田基黄苷均有保肝退黄作用。

关键词: 田基黄; 黄酮; 保肝退黄; 实验研究

中国分类号: R285.5; R282.71.5; R962 文献标识码:A 文章编号:1627-3554(2007)01-0040-04

Experimental Study of Three Flavonoids Isolated from *Hypericum japonicum* Thunb. on Hepatoprotective and Jaundice-relieving Effects

LI Pei-bo, WANG Yong-gang, WU Ding-hong, WU Zhong, SU Wei-wei
(College of Life Sciences, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: 【Objective】 To study the hepatoprotective and jaundice-relieving effects of three flavonoids Quercetin-3- -D- rhamnose, Quercetin-3- -D- glucoside, and Quercetin-7- -D- rhamnose isolated from *Hypericum japonicum* Thunb. 【Methods】 Acute hepatic injury models induced by CCl₄ and D-aminogalactose were used to investigate the effect of the three flavonoids on the serum AST and ALT levels; alpha-naphthylisothiocyanate (ANIT)-induced cholestasis model was used to study the effect of the three flavonoids on serum total bilirubin levels. 【Results】 Quercetin-3- -D- glucoside, Quercetin-3- -D- rhamnose, and Quercetin-7- -D- rhamnose were able to significantly prevent the CCl₄ and D-aminogalactose-induced rise in serum enzymes (AST and ALT) and lower ANIT-increased serum total bilirubin levels. 【Conclusion】 Quercetin-3- -D- glucoside, Quercetin-3- -D- rhamnose, and Quercetin-7- -D- rhamnose are of hepatoprotective and jaundice-relieving effects.

Key words: *Hypericum japonicum* Thunb.; flavonoids; hepatoprotective and jaundice-relieving effects; experimental study

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2007, 28(1): 40-43]

田基黄系藤黄科金丝桃属植物地耳草(*Hypericum japonicum* Thunb.)的干燥全草。味甘、微苦、性凉,归肝、胆、大肠经,具有清热利湿、散瘀止痛、消肿解毒的功效^[1]。药理研究表明,田基黄具有保肝^[2]、抗肿瘤^[3,4]、调节免疫功能^[5]、抗病毒^[6]、抗

氧化^[7]、止血^[8]等作用。以田基黄为原料制成的田基黄注射液收载于1977版中国药典,现临床常用于急、慢性肝炎的治疗,但其有效成分尚不明确。本研究组承担了国家药典委员会“田基黄药材及田基黄注射液指纹图谱的研究”课题,在对田基黄进

收稿日期:2006-08-10

基金项目:广东省科技计划项目(2005A30101002);广东省普通高校自然科学基金资助项目(04Z002)

作者简介:李沛波(1973-),湖南涟源人,博士,讲师,研究方向:心血管药理学和中药新药研究与开发;苏薇薇,教授,通讯作者.E-mail:

lssww@zsu.edu.cn

行指纹图谱研究的过程中, 通过光二极管阵列检测器(Diode- Array Detector, DAD)检测到多种黄酮类化合物, 其中槲皮苷、异槲皮苷、田基黄苷含量较高。笔者对该 3 个化合物进行了保肝退黄的药理实验, 为进一步研究田基黄治疗急、慢性肝炎的物质基础提供了实验依据。

1 材料与方法

1.1 药物及试剂

槲皮苷、异槲皮苷、田基黄苷由本实验室从田基黄药材中提取分离所得, 经测定纯度达到 98% 以上, 实验前用生理盐水配制成 0.05 mg/mL 的溶液供小鼠给药, 配制成 0.07 mg/mL 的溶液供大鼠给药。甘利欣注射液, 江苏正大天晴药业有限公司, 批号: DG0540, 实验前用生理盐水稀释成 0.27 mL/mL 的溶液。茵栀黄注射液: 常熟雷允上制药有限公司, 批号: 20041023, 实验前用生理盐水稀释成 0.26 mL/mL 的溶液。CCl₄: 汕头市光华化学厂, AR, 批号: 20040108。D- 氨基半乳糖胺 (D- aminogalactose, D- Gal), 江苏省无锡市久丰工贸有限公司, 批号: 20040615。丙氨酸转氨酶(ALT)、门冬氨酸转氨酶 (AST)、总胆红素 (bilirubin total, T. BIL)试剂盒: 上海荣盛生物技术有限公司, 批号分别为: 20041108、20050125、20041025。- 萘异硫氰酸酯(alpha- naphthylisothiocyanate, ANIT), Sigma 公司产品, 批号: 04- 467, 临用前用花生油配成所需浓度。

1.2 动物

昆明种小鼠雌雄各半, 体质量(20 ± 2) g, 动物合格证号: 粤监证字 2004A018。SD 大鼠雌雄各半, 体质量 (190 ± 20)g, 动物合格证号: 粤监证字 2004A021。由广东省医学实验动物中心提供。

1.3 对 CCl₄ 所致急性肝损伤大鼠 ALT、AST 的影响

按文献[9]方法。SD 大鼠 120 只, 按随机数字表进行完全随机化分为 12 组, 每组 10 只即正常对照组, CCl₄ 模型组, 甘利欣注射液组, 槲皮苷低、中、高剂量组, 异槲皮苷低、中、高剂量组, 田基黄苷低、中、高剂量组, 每组 10 只。用药组每天按 10 mL/kg 腹腔注射药液 1 次, 正常对照组和 CCl₄ 模型组给予等体积生理盐水, 连续 7 d。末次给药后 1 h, 除正常对照组外, 其余各组大鼠按剂量 0.6

mL/kg 腹腔注射 0.3 mL/mL 的 CCl₄ 植物油溶液造模, 正常对照组腹腔注射等体积植物油, 同时禁食不禁水。24 h 后由眼眶静脉丛取血, 分离血清, 采用试剂盒测定血清 ALT、AST 含量。

1.4 对 D- 氨基半乳糖胺所致急性肝损伤大鼠 ALT、AST 的影响

按文献[9]方法。SD 大鼠 120 只, 按随机数字表进行完全随机化, 分为 12 组, 即正常对照组, D- 氨基半乳糖胺 (D- aminogalactose, D- Gal) 模型组, 甘利欣注射液组, 槲皮苷低、中、高剂量组, 异槲皮苷低、中、高剂量组, 田基黄苷低、中、高剂量组, 每组 10 只。用药组每天按 10 mL/kg 腹腔注射药液 1 次, 正常对照组和 D- 氨基半乳糖胺模型组给予等体积生理盐水, 连续 7 d。末次给药后 1 h, 除正常对照组外, 其他各组大鼠按剂量 400 mg/kg 腹腔注射 D- 氨基半乳糖胺造模, 同时禁食不禁水。24 h 后由眼眶静脉丛取血, 分离血清, 采用试剂盒测定血清 ALT、AST 含量。

1.5 对 - 萘异硫氰酸酯所致黄疸性肝损伤小鼠 T.BIL 的影响

按文献[10]方法。昆明种小鼠 120 只, 按随机数字表进行完全随机化分组, 分为 12 组, 即正常对照组, - 萘异硫氰酸酯 (alpha- naphthylisothiocyanate, ANIT) 模型组, 茵栀黄注射液组, 槲皮苷低、中、高剂量组, 异槲皮苷低、中、高剂量组, 田基黄苷低、中、高剂量组, 每组 10 只。用药组每天按 10 mL/kg 腹腔注射药液 1 次, 正常对照组和 - 萘异硫氰酸酯模型组每天腹腔注射等体积生理盐水, 连续 7 d。末次给药后 1 h, 除正常对照组外, 其余各组小鼠按剂量 100 mg/kg 灌服 - 萘异硫氰酸酯造模, 同时禁食不禁水, 48 h 后由眼眶静脉丛取血, 常规分离血清, 采用试剂盒按咖啡因法测定总胆红素的含量。

1.6 统计学处理

实验数据以 " $\bar{x} \pm s$ " 表示。采用 SPSS11.0 统计软件进行 One- Way ANOVA 统计分析, P < 0.05 时有统计学意义。

2 结果

2.1 对 CCl₄ 所致急性肝损伤大鼠 ALT、AST 的影响

CCl₄ 能引起大鼠急性肝损伤, 显著提高大鼠

血清 ALT、AST 含量。而异槲皮苷的中、高剂量及槲皮苷和田基黄苷的低、中、高剂量均能抑制 CCl₄

引起的大鼠血清 ALT、AST 含量升高(与模型组比较, P< 0.01 或 0.05; 表 1)。

表 1 3 个黄酮类化合物对 CCl₄ 所致急性肝损伤的影响
Table 1 Effect of three flavonoids on acute hepatic injury induced by CCl₄

	n	Dosage	ALT(U/L)	AST(U/L)
Normal control	10	Saline	21.7 ±9.5	203.6 ±50.9
Model control	10	Saline	867.1 ±349.2 ¹⁾	1323.9 ±643.2 ¹⁾
Ganlixin injection	10	2.7 mL/kg	197.1 ±79.4 ²⁾	330.2 ±113.9 ²⁾
Quercetin- 3- -D- rhamnose	10	0.25 mg/kg	385.5 ±10.2 ³⁾	638.2 ±140.3 ³⁾
Quercetin- 3- -D- rhamnose	10	0.5 mg/kg	260.6 ±36.8 ²⁾	313.4 ±69.7 ²⁾
Quercetin- 3- -D- rhamnose	10	1.0 mg/kg	223.5 ±98.3 ²⁾	290.3 ±86.3 ²⁾
Quercetin- 3- -D- glucoside	10	0.25 mg/kg	587.0 ±53.5	998.4 ±241.0
Quercetin- 3- -D- glucoside	10	0.5 mg/kg	230.9 ±10.9 ²⁾	266.6 ±36.9 ²⁾
Quercetin- 3- -D- glucoside	10	1.0 mg/kg	220.4 ±56.9 ²⁾	245.5 ±65.4 ²⁾
Quercetin- 7- -D- rhamnose	10	0.25 mg/kg	153.3 ±36.4 ²⁾	534.3 ±210.3 ³⁾
Quercetin- 7- -D- rhamnose	10	0.5 mg/kg	100.2 ±28.1 ²⁾	266.0 ±64.7 ²⁾
Quercetin- 7- -D- rhamnose	10	1.0 mg/kg	86.3 ±23.4 ²⁾	231.2 ±58.4 ²⁾

1) compared with normal control P< 0.01; 2) compared with model control P< 0.01; 3) compared with model control P< 0.05

2.2 对 D- 氨基半乳糖胺所致急性肝损伤大鼠 ALT、AST 的影响

由表 2 可见, D- 氨基半乳糖胺能引起大鼠急性肝损伤, 显著提高大鼠血清 ALT、AST 含量。而

中、高剂量的槲皮苷、田基黄苷和低、中、高剂量的异槲皮苷均能抑制 D- 氨基半乳糖胺引起的大鼠血清 ALT、AST 含量升高 (与模型组比较, P< 0.01 或 0.05)。

表 2 3 个黄酮类化合物对 D- 氨基半乳糖胺(D- Gal)所致急性肝损伤的影响
Table 2 Effect of three flavonoids on acute hepatic injury induced by D- Gal

	n	Dosage	ALT(U/L)	AST(U/L)
Normal control	10	Saline	23.3 ±6.3	259.4 ±57.5
Model control	10	Saline	643.0 ±278.9 ¹⁾	1022.0 ±446.9 ¹⁾
Ganlixin injection	10	2.7 mL/kg	301.5 ±41.1 ²⁾	377.0 ±79.8 ³⁾
Quercetin- 3- -D- rhamnose	10	0.25 mg/kg	480.4 ±120.4	986.3 ±286.2
Quercetin- 3- -D- rhamnose	10	0.5 mg/kg	134.8 ±70.1 ³⁾	431.3 ±48.7 ³⁾
Quercetin- 3- -D- rhamnose	10	1.0 mg/kg	100.2 ±26.3 ³⁾	321.5 ±100.4 ³⁾
Quercetin- 3- -D- glucoside	10	0.25 mg/kg	203.5 ±42.2 ³⁾	637.2 ±143.3 ³⁾
Quercetin- 3- -D- glucoside	10	0.5 mg/kg	89.1 ±38.3 ³⁾	315.6 ±104.8 ³⁾
Quercetin- 3- -D- glucoside	10	1.0 mg/kg	65.2 ±20.1 ³⁾	223.4 ±53.3 ³⁾
Quercetin- 7- -D- rhamnose	10	0.25 mg/kg	502.5 ±128.9	895.4 ±301.2
Quercetin- 7- -D- rhamnose	10	0.5 mg/kg	169.4 ±84.6 ³⁾	337.9 ±60.8 ³⁾
Quercetin- 7- -D- rhamnose	10	1.0 mg/kg	142.1 ±32.2 ³⁾	299.7 ±59.9 ³⁾

1) compared with normal control P< 0.01; 2) compared with model control P< 0.05; 3) compared with model control P< 0.01

2.3 对 - 萘异硫氰酸酯(ANIT)所致黄疸性肝损伤小鼠 T.BIL 的影响

由表 3 可见, - 萘异硫氰酸酯能引起小鼠黄疸性肝损伤, 显著提高小鼠血清 T.BIL 含量。而槲

皮苷和异槲皮苷的中、高剂量及田基黄苷的低、中、高剂量均能抑制 - 萘异硫氰酸酯引起的小鼠血清 T.BIL 含量升高(与造模组比较, P< 0.01)。

表 3 3 个黄酮类化合物对 - 萘异硫氰酸酯 (ANIT) 所致黄疸性肝损伤影响

Table 3 Effect of three flavonoids on cholestasis induced by ANIT

	n	Dosage	T.BIL($\mu\text{mol/L}$) ($\bar{x} \pm s$)
Normal control	10	Saline	4.6 \pm 1.6
Model control	10	Saline	100.6 \pm 36.3 ¹⁾
Yinzhihuang injection	10	2.6 mL/kg	50.6 \pm 16.0 ²⁾
Quercetin- 3- - D- rhamnose	10	0.25 mg/kg	84.2 \pm 21.1
Quercetin- 3- - D- rhamnose	10	0.5 mg/kg	32.7 \pm 10.3 ²⁾
Quercetin- 3- - D- rhamnose	10	1.0 mg/kg	23.5 \pm 5.3 ²⁾
Quercetin- 3- - D- glucoside	10	0.25 mg/kg	87.4 \pm 26.1
Quercetin- 3- - D- glucoside	10	0.5 mg/kg	42.4 \pm 12.8 ²⁾
Quercetin- 3- - D- glucoside	10	1.0 mg/kg	30.1 \pm 4.2 ²⁾
Quercetin- 7- - D- rhamnose	10	0.25 mg/kg	51.0 \pm 11.0 ²⁾
Quercetin- 7- - D- rhamnose	10	0.5 mg/kg	31.3 \pm 8.6 ²⁾
Quercetin- 7- - D- rhamnose	10	1.0 mg/kg	20.0 \pm 3.2 ²⁾

1) compared with normal control $P < 0.01$; 2) compared with model control $P < 0.01$

3 讨 论

田基黄为藤黄科植物地耳草的全草。文献报道^[11]该植物中含有多种化学成分, 如: 色原烯类 (chromene), 二氢黄酮醇鼠李糖苷 (flavonoid rhamnoside), 二肽类 (dipeptide derivative), 吨酮类 (xanthones), 间环己三醇衍生物 (phloroglucinol derivatives) 等。

由田基黄提取制成的灭菌水溶液 (即田基黄注射液) 对急性黄疸型、迁延性和慢性及重症肝炎及肝硬化的 SGPT 下降均有较好效果, 临床试验表明, 其对急性黄疸性和非黄疸性肝炎有效率达 95%, 对迁延性和慢性肝炎有效率为 74%^[12]。但在现有文献报道中, 有关田基黄抗肝损伤的有效成分研究甚少。根据人们对黄酮类化学成分的研究发现, 黄酮类化合物除了具有对心脑血管损伤、心律失常的保护作用以及镇痛作用外, 对肝损伤也具有保护作用^[13], 像水飞蓟黄酮、艾纳香总香酮、甘草类黄酮、淫羊藿黄酮、黄芪素等黄酮类成分对肝损伤均具有较显著的保护作用。在田基黄中, 有学者^[14]认为黄酮类成分可能为田基黄抗肝损伤的主要有效成分。在本实验中, 我们对田基黄中含量较高的 3 个黄酮类化合物槲皮苷、异槲皮苷、田基黄苷进行了保肝退黄的实验研究。结果表明, 3 个黄酮类化合物槲皮苷、异槲皮苷、田基黄苷均对

CCl_4 或 D- 氨基半乳糖胺所致的大鼠急性肝损伤具有良好的保肝降酶作用, 对 - 萘异硫氰酸酯所致的小鼠黄疸性肝损伤均具有良好退黄的作用。说明槲皮苷、异槲皮苷、田基黄苷是田基黄中的有效成分。

本实验结果为进一步研究田基黄治疗急、慢性肝炎的物质基础提供了实验依据。田基黄中除槲皮苷、异槲皮苷、田基黄苷外的其他成分在治疗急、慢性肝炎中的作用及各成分之间在发挥药效时的相互作用有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 宋立人, 胡熙名, 张国镇, 等. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 598- 601.
- [2] 黎七雄, 王玉山, 彭仁秀, 等. 田基黄注射液对四氯化碳引起小鼠肝损伤的保护作用 [J]. 华西药理学杂志, 1992, 7(3): 146- 149.
- [3] 黎七雄, 孙忠义, 陈金和. 田基黄对人喉癌 Hep- 2 和人宫颈癌 Hela 细胞株生长的抑制作用[J]. 华西药理学杂志, 1993, 8(2): 93- 94.
- [4] 金辉喜, 李金荣. 田基黄对人舌癌细胞株 TSCCa 细胞毒作用的研究[J]. 临床口腔医学杂志, 1997, 13 (1): 19- 20.
- [5] 周小玲, 柯美珍, 宋志军. 田基黄对大鼠呼吸道及全身免疫功能的影响[J]. 广西医科大学学报, 2001, 18 (2): 211- 212.
- [6] 吴移谋, 占利生. 田基黄水煎剂对 E 型单纯疱疹病毒复制的抑制作用[J]. 湖南微生物学通讯, 1990, (2): 7- 10.
- [7] 蒋惠娣, 黄夏琴, 杨 怡, 等. 九种护肝中药抗脂质过氧化作用的研究[J]. 中药材, 1997, 20 (12): 624- 626.
- [8] 李建良, 朱照娟. 田基黄治疗内脏出血[J]. 时珍国药研究, 1994, 5 (1): 47—48.
- [9] 徐叔云, 卞如濂, 陈 修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 1346.
- [10] 陈 奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 832- 851.
- [11] 李廷钊, 柳润辉, 张 薇, 等. 田基黄黄酮类化学成分的研究[J]. 中国天然药物, 2004, 2(5): 283- 284.
- [12] 陈丽云, 杨立伟, 苏薇薇, 等. 田基黄及其注射液的研究进展[J]. 中药材, 2002, 25(7): 525- 528.
- [13] 黄河胜, 马传庚, 陈志武. 黄酮类化合物药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(10): 589- 592.
- [14] 虞金宝, 吕武清, 李才堂, 等. HPLC 测定田基黄注射液中槲皮素含量[J]. 中成药, 2005, 27(1): 100- 101.

(编辑 黄小延)