

银杏叶提取物对 CCl₄诱发大鼠肝灌流损伤的影响

丁炜 朱荃 李晓冬 孙小玉

(南京中医药大学药理毒理实验室,南京 210029)

摘要 观察了银杏叶提取物(G-9312)对四氯化碳诱发大鼠肝灌流损伤的影响,结果表明, G-9312对四氯化碳引起的肝细胞损伤导致丙氨酸转氨酶(ALT)、天门冬氨酸转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)的升高有明显降低作用。提示G-9312对离体肝损伤具有保护作用。

关键词 银杏叶提取物; 四氯化碳; 肝损伤

银杏内酯是从银杏叶、根皮等中提取的有效成分之一。80年代开始,国内外学者对其进行了深入的研究,发现银杏内酯是特异的血小板活化因子(Platelet activating factor, PAF)拮抗剂^[1],而PAF是多种炎症的介质之一^[2]。我们观察到富含银杏内酯的银杏叶提取物(G-9312)对在体四氯化碳肝损伤小鼠血清ALT病理性升高有明显降低作用,并具有改善肝组织病理损害程度,抑制肝组织LPO的升高和提高SOD活性等药理作用^[3]。为此本文进一步观察了G-9312对离体四氯化碳肝灌流损伤的影响。

1 实验材料

1.1 药品和试剂

齐墩果酸(中国药品生物制品检定所,709-8501);银杏叶提取物(G-9312),由南京中医药大学中药研究所制备。方法:取银杏叶粗提物(含24%银杏总黄酮,6%银杏总内酯,江苏邳州市银杏实业总公司提供)100g,用2000ml丙酮溶解,溶液中加入100g中性氧化铝,过滤,回收丙酮,烘干得银杏叶提取物,得率8%;以上药品混悬于0.2%吐温-80生理盐水中,配成所需浓度的溶液。四氯化碳(上海长江化工厂,920122);戊巴比妥纳(Union进口分装,上海化学试剂采购供应站分装,860122);肝素钠(上海化学试剂分装厂,950328);RPMI Medium 1640(Life Technologies, Inc. USA);丙氨酸转氨酶(ALT)测定试剂盒、天门冬氨酸转氨

酶(AST)测定试剂盒(上海生物制品研究所,950201);乳酸脱氢酶(LDH)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,950207)。

1.2 动物

SD大鼠(南京中医药大学实验动物中心)。

1.3 仪器

电子天平 JA2003(上海天平仪器厂), RDS-IV型蠕动泵(沙洲仪表仪器厂), CS50型超级恒温器(重庆试验设备厂), 82型电动离心机, SHZ-88台式水浴恒温振荡器(江苏太仓王秀实验设备厂), 75型分光光度计(上海分析仪器厂)。

2 方法和结果

循环灌流装置主要包括超级恒温器,氧气瓶和蠕动泵。氧气瓶供给95%氧和5%二氧化碳混合气体,蠕动泵驱动灌流液体。

取SD大鼠,♂,体重(210±25)g,以2%戊巴比妥钠ip麻醉(50mg/kg)按Scholz R等^[4]方法进行。从下腔静脉处注入1600~2000单位肝素,2min后,作门静脉插管,分离肝脏,移至灌流装置,调整灌流速度至40ml/min以上灌流液为Krebs-Kinger碳酸氢钠缓冲液,确认灌流无异常后换上1640培养液(200ml)灌流。先平衡10min,然后每隔10min收集灌流液一次,每次0.5ml;灌流30min后,每隔15min取样一次,每次0.5ml,直至满120min为止。

正常对照组灌流30min时,由与门静脉插管

相连的三通管注入 1640灌流液 300 μ l, 其它各组注入等体积的 CCl₄储备液 (含 CCl₄ 30 μ l) 和乙醇 270 μ l)。45 min 时加入各受试药物 0.4 ml, 并在不同的时间点采集灌流液, 采样后立即以 1640灌流液补充灌流液至 200 ml, 以赖氏法测定 ALT 和 AST, 以 2, 4-二硝基苯肼比色法测定 LDH ALT AST 及 LDH 的变化见表 1 表 2 和表 3, 并与模型对照组进行组间 *t* 检验。

结果: G-9312各剂量组, 对 CCl₄引起大鼠肝灌流损伤模型灌流液中丙氨酸转氨酶、天门冬氨酸转氨酶、乳酸脱氢酶的升高有明显抑制作用, 与模型对照组比较, 有显著意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)

3 讨 论

离体肝灌流广泛用于药理毒理学研究, 其中以离体大鼠肝灌流最普遍使用, 它与整体及其他方法(离体肝细胞)相比有许多长处。

本实验在灌流液中加入 CCl₄, CCl₄为亲肝性毒物, 经肝细胞色素 P-450代谢激活后, 生成三氯甲基自由基, 迅速引起生物膜的脂质过氧化, 从而破坏了生物膜的结构和正常功能, 导致细胞内 ALT 等外溢, 乃至肝细胞死亡^[5]。实验观察到 G-

9312具有降低 CCl₄大鼠肝灌流液中 ALT AST 及 LDH 的水平, 提示 G-9312具有拮抗 CCl₄对肝脏的损伤作用, 其作用机理可能与减轻自由基的损伤有关。

PAF 参与多种原因的炎症过程, G-9312保肝作用与拮抗 PAF, 以及 CCl₄与 PAF 之间的关系, 有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Wenche NAR. PAF antagonists from natural products. *Drugs Future*, 1990, 15(6): 597
- 2 Terashita Z, Stahl GL, Lefer AM. Protective effects of platelet activating factor antagonist and its combined treatment with prostaglandin E1 in traumatic shock. *J cardivas Pharmacol*, 1988, 12: 505
- 3 丁 炜, 朱 荃, 李晓冬等. G-9312对 CCl₄诱发小鼠肝损伤的影响. 南京中医药大学学报, 1998, 14(6): 356
- 4 Scholz R, Hansen W, Thurman RG. Interaction of mixed-function oxidation with bi synthetic processes. 1. Inhibition of gluconeogenesis by aminopyrine in perfused rat liver. *Eur J Biochem*, 1973, 38: 64
- 5 Recknagel RO, Glende EA Jr, Dolak JA, et al. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol Ther*, 1989, 43: 139

Effect of Extract of *Folium Ginkgo* on Perfused Rat Liver Injury Induced by CCl₄

Ding Wei, Zhu Quan, Li Xiaodong, Sun Xiaoyu

Laboratory of Pharmacology and Toxicology, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029

Abstract The paper reported the effect of extract of *Folium Ginkgo* (G-9312) on perfused rat liver injury induced by carbon tetrachloride. The results showed that G-9312 obviously reduced the release of alanine aminotransferase, aspartic aminotransferase and lactic dehydrogenase from carbon tetrachloride-induced hepatocytes. It indicated that G-9312 possesses a hepatoprotective action on isolated liver injury.

Key words Extract of *Folium Ginkgo*; Carbon tetrachloride; Liver injury