

# 茜草精油的保肝作用

权美平<sup>1,2</sup>, 田呈瑞<sup>1</sup>

(1. 陕西师范大学生命科学学院, 陕西西安 710119)

(2. 渭南师范学院化学与生命科学学院, 陕西省多河流重点实验室, 陕西渭南 714000)

**摘要:** 茜草作为传统中药自古以来有广泛地应用而且被列于中国药典中来治疗多种疾病。评价以水蒸气蒸馏提取法分离所得茜草精油对于四氯化碳介导的肝损伤的保肝作用。CCl<sub>4</sub>处理前, 茜草精油以 100、200 和 400 mg/kg 一天一次给予小鼠灌胃处理共计 21 d。结果如下: CCl<sub>4</sub>处理导致小鼠血清中各类指标(丙氨酸转氨酶 ALT, 天冬氨酸转氨酶 AST, 总胆固醇 TC 和总甘油三酯 TG 等)升高, 精油给药后均呈现一定的剂量依赖方式的趋于正常水平。精油处理组小鼠的肝脏和脾脏指数及抗氧化体系中的 CAT、GSH 和 SOD 水平与正常组接近。上述各指标测定结合肝脏的组织病理学切片结果表明: 茜草精油对 CCl<sub>4</sub>介导的小鼠肝损伤具有一定的保护效果, 功效甚至与参考药物联苯双酯相当。本研究表明茜草精油可对抗 CCl<sub>4</sub>介导的肝损伤, 其可用作一种有潜力的保肝活性药物。

**关键词:** 茜草; 精油; 保肝作用; 四氯化碳

文章编号: 1673-9078(2015)5-12-17

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.5.003

## Hepatoprotective Effect of Essential Oil of *Rubia cordifolia*

QUAN Mei-ping<sup>1,2</sup>, TIAN Chen-rui<sup>1</sup>

(1. College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

(2. College of Chemistry and Life Science, Weinan Normal University, Key Lab of Wet Land Ecology and Environment of Duoheliu of Shaanxi Province, Weinan 714000, China)

**Abstract:** *Rubia cordifolia* Linn (Rubiaceae) has been used as a traditional Chinese medicine for centuries and is officially listed in the Chinese Pharmacopoeia for the treatment of diverse diseases. The hepatoprotective effects of *R. cordifolia* essential oil extracted using hydrodistillation against carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-induced hepatic damage in rats were evaluated. *R. cordifolia* essential oil was administered at doses of 100, 200, and 400 mg/kg orally and once daily for 21 days before CCl<sub>4</sub> administration. CCl<sub>4</sub> treatment significantly increased the activities of various serum enzymes and markers, such as alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total cholesterol (TC), and total triglycerides (TG), which were dose-dependently restored to normal levels after the administration of *R. cordifolia* essential oil. The liver and spleen indices, as well as catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px), and superoxide dismutase (SOD) levels in the mice treated with the essential oil were similar to those of the normal control group. These results, together with the results of liver histopathology, showed that *R. cordifolia* essential oil exhibited hepatoprotective effects against CCl<sub>4</sub>-induced injury, and these effects were comparable to the effects of biphenyl dimethyl dicarboxylate (DDB) used as standard reference. The results of this study strongly indicate that *R. cordifolia* essential oil has a potential hepatoprotective action against CCl<sub>4</sub>-induced hepatic damage in rats.

**Key words:** *Rubia cordifolia* Linn; essential oil; hepatoprotective effect; carbon tetrachloride

在大多数脊椎动物中, 肝脏是具有解毒作用和清除外源性物质和毒素的重要器官。肝损伤包括由于氧化应激从脂肪变性到慢性肝炎, 肝纤维化, 肝硬化继而发生肝细胞癌渐进性的衍化的病理原因。四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl<sub>4</sub>)是常见的肝毒剂, 四氯化碳

收稿日期: 2014-08-06

基金项目: 渭南师范学院化学校级特色学科建设项目(14TSXK04); 渭南市科技创新扶持项目(2013JCYJ-14)

作者简介: 权美平(1978-), 女, 在读博士, 副教授, 主要从事植物资源开发与利用的研究

通讯作者: 田呈瑞教授

引起肝损害的作用机制, 系四氯化碳经肝微粒体内药物代谢酶的激活后产生自由基, 通过微粒体脂质过氧化继而随之而来的组织损伤的破坏过程, 或通过肝脏大分子的共价结合<sup>[1]</sup>, 使肝细胞受损, 从而造成血清转氨酶的升高; 另有报道是 CCl<sub>4</sub>对细胞膜具有直接溶膜作用<sup>[2]</sup>。肝脏疾病仍旧是全球性的健康问题, 但是用于治疗肝脏疾病的传统和合成的药物是不能够解决所面临的问题甚至有时会给长期服药患者带来许多负面影响。因此, 寻找新型安全的具有保肝活性的天然植物源物质具有重要意义。

茜草为茜草科多年生攀援草本植物茜草(*Rubia*

*cordifolia* L.) 的干燥根及根茎。由于茜草干根及茎自古代就作为天然染料、食品的着色剂<sup>[3]</sup>和一种重要的药用植物被用来治疗各种疾病。民间药理学中, 茜草根被一些民族用作治疗黄疸的药物<sup>[4]</sup>。作为一种民族药材, 它有着悠久的历史, 但到目前为止还未见茜草精油的研究报道, 这距离国家对中药、民族药研究现代化、标准化的要求还存在一定的差距。其在传统医学的广泛应用促使我们加紧对其挥发性成分活性的认识, 就我们所知, 现在仍没有关于茜草精油保肝活性的科学报道, 因此本研究采用 CCl<sub>4</sub> 造急性肝损伤小鼠模型, 验证茜草精油保肝作用, 为茜草这一天然植物资源进一步开发利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 药材

茜草干根, 采自渭南市黄河湿地保护区, 经陕西师范大学生命科学学院植物学教研室鉴定为茜草科植物茜草 *Rubia cordifolia* Linn. 的干燥根茎。

#### 1.1.2 动物

昆明种雄性小鼠 60 只, 体重 18 g~23 g, 购自西安交通大学实验动物中心, 动物许可证号: “SCXK(陕) 2007-001”。

#### 1.1.3 仪器

挥发油提取器, 南京玻璃仪器厂; 离心机, 上海安亭科学仪器厂; 全自动酶联免疫检测仪: 美国 Thermo 公司; FSH-2 可调高速匀浆机: 金坛市盛蓝仪器制造有限公司; LS-100 石蜡包埋机: 沈阳市龙首电子仪器有限公司; HY325B 石蜡切片机: 北京东方德教育科技有限公司。

#### 1.1.4 试剂

CCl<sub>4</sub>, 广东光华化学厂有限公司; 吐温-80, 美国 Sigma 公司; 联苯双酯滴丸: 北京协和制药厂; 试验所用的试剂盒: 南京建成生物工程研究所

#### 1.1.5 精油的提取及配制

采用挥发油提取器用常规水蒸气蒸馏法提取挥发油。粉碎至 40 目的茜草干粉 40 g, 浸泡 4 h 后, 置于 1000 mL 圆底烧瓶中, 加水 500 mL, 加热回流提取挥发油, 回流至挥发油量不再增加, 停止加热; 正己烷萃取收集合并挥发油, 以无水硫酸钠干燥, 得黄色片状固态精油, 所得得茜草精油的提取率 0.12%, 比重 0.896。临用时配成 2% 吐温-80 的混悬液给动物灌胃或腹腔注射, 对照组动物全部给以吐温水。精油的配制<sup>[5]</sup>: 精确称取 320 mg 的挥发油, 加入含 5% 吐

温-80 的水溶液 10 mL 中, 超声破碎仪处理 5 min; 然后以 5% 吐温-80 的水溶液依次稀释为 16 mg/mL 和 8 mg/mL; 此分别为小鼠高, 中, 低剂量组的灌胃浓度。

#### 1.1.6 总酚含量测定

精油总酚含量的测定以福林酚法进行, 将 0.3 mL 精油 (1 mg/mL)、2.5 mL 去离子水和 0.3 mL 1 M Folin-Ciocalteu 试剂, 混合均匀。静置 8 min 后, 加入 1.5 mL 7.5% (m/V) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液, 摇匀, 密封, 室温下避光反应 60 min 后, 于 760 nm 处测定吸光值。精油总酚含量以标准品没食子酸当量 (mg/mL) 表示。

## 1.2 方法

### 1.2.1 动物分组及给药

将小鼠随机分为正常组、损伤组 (模型组)、茜草精油低、中、高剂量组以及阳性组 (联苯双酯组) 共 6 组, 每组 10 只。茜草精油低、中、高剂量组灌胃剂量分别为 100、200、400 mg/kg BW d<sup>[7]</sup>, 阳性组灌胃联苯双酯 (将联苯双酯滴丸以羧甲基纤维素钠溶解) 剂量为 200 mg/kg BW d, 每天灌胃一次, 每次 0.25 mL, 连续 21 d。正常组和模型组小鼠给予等量吐温水。各组小鼠自由摄食、饮水。每周称体重一次, 以调整灌胃体积。末次给药后禁食 16 h, 除正常组一次灌胃给予 5 mL/kg BW 植物油, 其它各组小鼠按照 5 mL/kg BW 剂量一次灌胃 1% (V/V) CCl<sub>4</sub> 植物油溶液, 禁食, 自由饮水。灌胃 CCl<sub>4</sub> 24 h 后, 将小鼠称重后处死, 眼眶取血, 以 3000 r/min 离心 10 min, 分离出血清备用。

### 1.2.2 体重及免疫器官的测定

按照文献<sup>[6]</sup>的方法进行测定。小鼠处死后, 立即摘取肝脏和脾脏, 去除系膜及脂肪, 生理盐水漂洗, 并用滤纸吸干水分后称重, 按照下式计算肝脏指数和脾脏指数:

$$\text{肝脏指数} = \text{肝脏质量}(\text{mg}) / \text{体重}(\text{g});$$

$$\text{脾脏指数} = \text{脾脏质量}(\text{mg}) / \text{体重}(\text{g}).$$

### 1.2.3 血清指标的测定

血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 活性、总胆固醇 (TC)、甘油三脂 (TG)、总胆红素和白蛋白的测定按照试剂盒说明书采用分光光度法进行测定。

### 1.2.4 肝脏指标的测定

将小鼠肝脏加 10 倍生理盐水充分研磨制成 10% (m/V) 的肝匀浆, 以 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 按照试剂盒说明书采用分光光度法测定超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活力和丙二醛 (MDA) 含量。

### 1.2.5 肝脏病理组织学观察

将各组小鼠的新鲜肝脏切成小块, 用 10% 福尔马林

固定, 经脱水→透明→石蜡包埋→切片→脱蜡→常规 HE 染色后, 在400倍光镜下观察肝脏细胞的病理形态学变化, 由大理学院基础医学院病理检验室完成。

### 1.2.6 数据处理

试验数据采用平均值±标准差来表示, 数据处理、显著性检验及多重比较应用 DPS 软件进行, 以 P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 茜草精油对 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤小鼠肝脏指数和脾脏指数的影响

试验测定茜草精油对 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤小鼠肝脏指数和脾脏指数的影响结果见表 1。

表 1 茜草精油对 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤小鼠肝脏指数和脾脏指数的影响 (n=10)

组别	肝脏指数	脾脏指数
正常对照组	44.64±2.29 <sup>c</sup>	3.17±0.86 <sup>ab</sup>
损伤(1% CCl <sub>4</sub> ; 5 mL/kg BW)	49.12±3.35 <sup>a</sup>	3.53±0.46 <sup>a</sup>
低(100 mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	45.63±3.19 <sup>bc</sup>	2.60±0.26 <sup>b</sup>
中(200 mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	45.28±3.12 <sup>bc</sup>	2.97±0.68 <sup>ab</sup>
高(400mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	48.43±3.81 <sup>ab</sup>	3.13±0.44 <sup>ab</sup>
阳性(200 mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	48.50±1.12 <sup>ab</sup>	3.01±0.52 <sup>ab</sup>

注: 多重比较以小写字母表示; 各组两两间显著性分析在 P<0.05 水平, 下同。

由表 1 可知, 与正常对照组比较, CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤能提高小鼠的肝脏指数 (P<0.05) 和脾脏指数, 表明 CCl<sub>4</sub> 可致小鼠的肝脏、脾脏肿大; 与损伤组比较, 茜草精油高、中、低剂量组及阳性对照联苯双酯药物组均有降低肝脏指数和脾脏指数的作用, 其中低和中剂量组 (P<0.05) 降低小鼠肝脏指数作用显著, 表明茜草精油能抑制 CCl<sub>4</sub> 所致小鼠的肝脏、脾脏肿大。

### 2.2 茜草精油对 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤小鼠血清 AST、ALT、TC、TG、总胆红素和白蛋白的影响

CCl<sub>4</sub> 是一种经典的动物化学性肝损伤造模的毒剂, 通过产生氧化应激和活化免疫细胞, 致使肝细胞的结构和功能发生改变。生物有机体内, CCl<sub>4</sub> 产生三氯甲烷自由基 (CCl<sub>3</sub>), 继而生成反应活性更强的过氧

化三氯甲烷自由基 (OOCCL<sub>3</sub>)。自由基产生后, 可与肝微粒体脂质和蛋白质发生共价结合, 也可与肝细胞膜中的磷脂分子发生脂质过氧化反应, 使肝细胞的结构严重受损、坏死, 导致肝细胞膜通透性升高<sup>[7]</sup>, 肝细胞受损易引起肝脏内 TG、TC 含量的变化; AST、ALT 作为肝细胞内酶, 在氨基酸的合成与分解代谢中起着非常重要的作用, 是诊断肝细胞受损程度最敏感的指标。当肝组织受损, 膜通透性增加, 这两种酶大量渗入血液中, 使血清中酶的活性显著增高, 且血清 AST、ALT 升高幅度反映出肝细胞的受损程度。茜草精油对 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤小鼠血清 AST、ALT 影响见表 2; 精油对 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤小鼠肝脏 TC 和 TG 含量的影响见表 3。

表 2 茜草精油对 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤小鼠血清谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST) 的影响 (n=10)

Table 2 Effects of essential oil on serum AST and ALT levels in CCl<sub>4</sub> induced damage rats (n = 10)

组别	ALT/(U/L)	AST/(U/L)
正常对照组	18.99±2.66 <sup>d</sup>	26.82±5.93 <sup>c</sup>
损伤(1% CCl <sub>4</sub> ; 5 mL/kg BW)	115.21±9.60 <sup>a</sup>	104.53±8.05 <sup>a</sup>
低(100 mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	94.64±9.75 <sup>b</sup>	95.35±11.81 <sup>a</sup>
中(200 mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	73.67±10.34 <sup>c</sup>	77.89±14.18 <sup>b</sup>
高(400mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	80.19±10.30 <sup>c</sup>	65.39±5.71 <sup>b</sup>
阳性(200 mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	73.59±10.00 <sup>c</sup>	68.26±7.59 <sup>b</sup>

表 3 茜草精油对 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤小鼠 TC 和 TG 的影响

Table 3 Effects of essential oil on serum TC and TG levels in CCl<sub>4</sub> induced damage rats (n = 10)

组别	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)
正常对照组	3.56±0.52 <sup>c</sup>	1.09±0.25 <sup>c</sup>
损伤(1% CCl <sub>4</sub> ; 5 mL/kg BW)	5.37±0.74 <sup>a</sup>	1.72±0.37 <sup>a</sup>
低(100 mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	4.58±0.63 <sup>ab</sup>	1.39±0.21 <sup>b</sup>
中(200 mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	4.05±0.45 <sup>bc</sup>	1.14±0.14 <sup>bc</sup>
高(400mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	3.91±0.90 <sup>bc</sup>	1.18±0.11 <sup>bc</sup>
阳性(200 mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	3.99±0.83 <sup>bc</sup>	1.00±0.21 <sup>c</sup>

由表 2 可知, 与正常对照组比较, 损伤组小鼠血清 AST、ALT 活性显著增高, 差异有统计学意义, 其中 AST 和 ALT 水平变化极显著 (P<0.01), 说明 CCl<sub>4</sub> 所致小鼠肝损伤模型建立成功。与损伤组比较, 茜草精油高、中剂量组及阳性对照组对 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤小鼠血清 AST、ALT 活性的升高有明显的抑制作用, 提示精油具有保护肝损伤的作用, 能对抗 CCl<sub>4</sub> 所致小鼠肝损伤导致的血清 AST、ALT 水平的升高。此外, 精油中剂量组与潜在的阳性对照组 (肝治疗药物) 相比, 具有相同程度地保护效果。据上所述<sup>[7]</sup>, 精油对抗肝损伤的作用或许与其具有一定的抗氧化活性, 即能有效地清除 CCl<sub>4</sub>



所产生的自由基相关。

由表3可知,与正常组相比,损伤组TG、TC含量显著增加( $P<0.05$ ),表明 $CCl_4$ 所致小鼠肝损伤会导致肝脏内TG和TC的蓄积;与损伤相比,精油高、中、低剂量组都有明显降低TG、TC含量的作用,特别是精油低剂量组对于TG的抑制效果显著( $P<0.05$ ),表明精油对 $CCl_4$ 所致小鼠肝损伤肝脏内TG和TC的蓄积有一定的抑制作用。

表4 茜草精油对 $CCl_4$ 所致肝损伤小鼠血清总胆红素和白蛋白的影响( $n=10$ )

Table 4 Effects of essential oil on total bilirubin and albumin in

CCl <sub>4</sub> induced damage rats (n = 10)		
组别	总胆红素 (mg/dL)	白蛋白 (g/L)
正常对照组	0.76±0.07 <sup>c</sup>	36.56±4.23 <sup>a</sup>
损伤(1% CCl <sub>4</sub> ; 5 mL/kg BW)	1.15±0.08 <sup>a</sup>	24.19±2.18 <sup>c</sup>
低(100 mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	0.99±0.12 <sup>b</sup>	25.18±4.66 <sup>c</sup>
中(200 mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	0.81±0.12 <sup>c</sup>	26.72±5.21 <sup>c</sup>
高(400mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	0.78±0.09 <sup>c</sup>	29.70±5.68 <sup>bc</sup>
阳性(200 mg/kg BW d)+CCl <sub>4</sub>	0.62±0.08 <sup>d</sup>	33.46±2.90 <sup>ab</sup>

总胆红素主要用来诊断是否有肝脏疾病或胆道

表5 茜草精油对 $CCl_4$ 所致肝损伤小鼠肝脏各酶活力及和MDA的影响( $n=10$ )

Table 5 Effects of essential oil on levels of liver antioxidant enzymes and MDA in CCl<sub>4</sub> induced damage rats (n = 10)

组别	SOD/(U/mgprot)	CAT/(U/mgprot)	GSH/( $\mu$ mol/gprot)	MDA/(nmol/mgprot)
正常组	53.72±2.58 <sup>a</sup>	8.96±0.35 <sup>b</sup>	256.99±25.02 <sup>a</sup>	3.14±0.82 <sup>b</sup>
损伤组	26.03±3.42 <sup>d</sup>	8.41±0.38 <sup>bc</sup>	156.69±27.11 <sup>c</sup>	7.95±2.54 <sup>a</sup>
低	35.11±1.52 <sup>c</sup>	8.18±0.97 <sup>c</sup>	195.92±26.75 <sup>bc</sup>	8.02±2.25 <sup>a</sup>
中	38.08±1.42 <sup>c</sup>	9.68±0.33 <sup>a</sup>	220.95±25.65 <sup>ab</sup>	5.37±1.91 <sup>b</sup>
高	43.33±2.92 <sup>b</sup>	8.41±0.37 <sup>bc</sup>	231.32±33.70 <sup>ab</sup>	4.76±1.35 <sup>b</sup>
阳性组	46.08±2.90 <sup>b</sup>	9.51±0.50 <sup>a</sup>	246.21±32.81 <sup>a</sup>	3.96±1.49 <sup>b</sup>

体内的抗氧化酶SOD、CAT和GPX组成了一个相互支持的抗氧化防御系统,用于清除活性氧自由基。SOD是抗氧化防御系统中的第一道防线,它催化组织细胞中的超氧阴离子自由基歧化生成过氧化氢,保护过氧化应激过程中产生的超氧阴离子对肝、肾组织的损害,而CAT/GPX将过氧化氢转变成水,阻止了毒性更大的羟基自由基的产生<sup>[8-9]</sup>。体内抗氧化酶活力的变化反映出自由基对机体的损伤程度。MDA作为脂质过氧化的终产物,其含量可反应机体内脂质过氧化的程度<sup>[7]</sup>。 $CCl_4$ 所致肝损伤会导致肝细胞发生脂质过氧化,因此,测定肝脏MDA的含量可间接了解机体细胞受自由基攻击的严重程度,并且间接的知道细胞受损伤的程度。精油对 $CCl_4$ 所致肝损伤小鼠肝脏SOD、CAT和GSH-PX活力及对MDA的影响结果见表5。

是否发生异常,胆红素增高多见于肝脏疾患如急性黄疸型肝炎、急性黄色肝坏死、慢性活动性肝炎、肝硬化等病症。白蛋白是由肝脏合成,主要生理功能作为运输和解毒的物质,白蛋白可结合并溶解多种物质,如胆红素,长链脂肪酸,甲状腺素,三碘甲状腺氨酸,醛固酮等,也能结合阳离子,也可以将有毒物质输送到解毒器官。当肝功能受损时,白蛋白产生减少,其降低程度与肝炎的严重程度是相平行,茜草精油对 $CCl_4$ 所致肝损伤小鼠血清总胆红素、白蛋白的影响见表4。

由表4可知,与正常组相比,损伤组总胆红素明显增高,白蛋白明显降低( $P<0.05$ ),表明 $CCl_4$ 所致小鼠肝损伤会导致肝脏内总胆红素的蓄积和白蛋白合成的减少;与损伤组相比,精油高、中、低剂量组都有明显降低总胆红素含量的作用,但对升高白蛋白的效果不显著。表明精油对 $CCl_4$ 所致小鼠肝损伤肝脏内总胆红素的蓄积有一定的抑制作用。

### 2.3 茜草精油对 $CCl_4$ 所致肝损伤小鼠肝脏

#### SOD、CAT和GSH-PX活力及MDA的影响

由表5的数据可以看出,与正常组相比,除CAT的降低不显著外,损伤组SOD和GSH-PX活性显著降低( $P<0.05$ ),表明在 $CCl_4$ 的作用下,机体内产生了大量的自由基,处与过氧化应激状态;就SOD和GSH-PX而言,与损伤组相比,精油高、中剂量组和阳性对照组能明显的升高SOD和GSH-PX水平;CAT的检测结果表明精油中剂量组能明显升高其水平,但是高、低剂量组影响不显著( $P<0.05$ );就MDA而言,与正常组相比,损伤组小鼠肝脏MDA含量显著升高( $P<0.05$ ),表明 $CCl_4$ 所致肝损伤小鼠肝脏内发生了脂质过氧化反应;与损伤相比,精油高、中剂量组能明显降低小鼠肝脏MDA含量( $P<0.05$ ),表明精油能有效阻止 $CCl_4$ 所致肝细胞发生的脂质过氧化反应,起到保护肝脏的作用。综上表明精油对 $CCl_4$ 所致小鼠肝损伤具有抗氧化保护作用。

## 2.4 茜草精油对 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤小鼠肝脏组

### 织形态学的影响

为了进一步研究精油对 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤小鼠肝脏组织形态学的影响,对各实验组小鼠进行了肝脏病理组织学切片观察,见图 1。

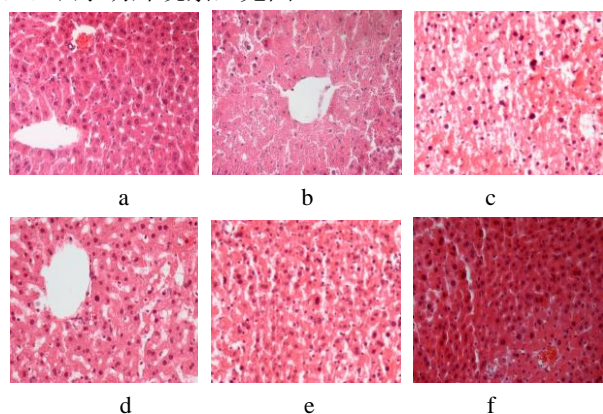


图 1 小鼠肝脏病理组织学观察

Fig.1 Histopathological images of hepatic tissues of rats

注: a、b、c、d、e、f 分别为正常、对照、低、中、高剂量组及阳性组 400 倍的小鼠肝细胞。

肉眼观察小鼠肝脏形态上的变化发现,正常对照组小鼠肝脏呈红褐色,质地柔软而脆,且边缘锐利; CCl<sub>4</sub> 诱导肝损伤模型对照组,小鼠肝脏明显肿大、充血,呈现斑点状灰白块状的无光泽区域、质地坚硬,且包膜紧张、切面隆起、边缘外翻。精油高、中、低剂量组以及联苯双酯组小鼠肝脏在颜色、质地方面与损伤组表现有所不同,色泽和质地明显较损伤组有所改善。

小鼠肝组织病理切片观察结果表明,正常组小鼠肝细胞未见明显病变,肝细胞排列整齐,结构完整、清晰,胞质丰富,细胞核大而圆,未见肝细胞水肿及炎性细胞浸润(图 a)。CCl<sub>4</sub> 损伤组小鼠肝细胞排列紊乱,没有明显的肝细胞膜包裹,边界不清,肝细胞疏松,肝细胞大片坏死,呈气球样变性(图 b)。与模型对照组相比,精油中,高剂量组小鼠肝细胞排列整齐,只有点状坏死,部分肝细胞水肿,并无大片的坏死,仅有轻度脂肪变化,均呈现出接近正常肝小叶的模式(图 d 和 e),与阳性对照联苯双酯组(图 f)均呈现出较为明显地保护作用;而低剂量组肝细胞都出现了大片凝固性坏死,部分肝细胞有水肿(图 c)。肝组织病理切片观察结果进一步表明茜草精油中和高剂量具有显著保护 CCl<sub>4</sub> 诱导肝损伤的作用,这与 AST、ALT 和血清相关指标的测定结果一致,两者可以相互支持。

## 2.5 精油总酚含量

按上述福林酚法测定没食子酸的标准曲线方程为:  $y = 8.4817x + 0.0882$ ,  $R^2 = 0.9967$ ; 试验所测定的精油总酚含量为: 1 g 精油 = 0.22 mg/mL 没食子酸当量。

## 3 结论

3.1 植物精油从芳香植物各组织、器官或分泌物中提取出来的具有一定香气和挥发性的油状物质; 是一类天然植物性添加剂,能够矫正食品的异味,赋予香气,具有着色、抗菌消炎、防腐、抗氧化、抗肿瘤等作用<sup>[10-11]</sup>。对许多种植物精油的多功能属性的研究和探索成了研究热点。关于植物精油的保肝活性的报道文献亦有涉及。相正心等<sup>[1]</sup>在筛选抗肝炎药物过程中发现岗松油对四氯化碳、硫代乙酰胺、醋酸强的松龙引起的小鼠血清谷丙转氨酶升高有明显的降低作用,相应肝组织病变减轻,岗松油对化学性小鼠肝损害有较明显的保护作用。张翠丽等<sup>[2]</sup>研究证明大蒜油对 CCl<sub>4</sub> 引起的急性化学性肝损伤有明显的预防作用。另也有报道研究灵芝孢子油<sup>[12]</sup>和生姜油<sup>[13]</sup>对四氯化碳所致小鼠化学性肝损伤具有一定的保护作用。

3.2 总酚含量是主要的天然抗氧化活性成分,植物提取物中总酚含量的高低常可以解释其抗氧化活性及各生物活性的强弱,总酚含量与生物活性间有很强的正相关性。大量的植物活性物质成分研究分析表明<sup>[14]</sup>: 植物界的酚类化合物是发挥抗氧化活性的主要贡献和参与者,抗氧化活性的强弱与酚类含量紧密相关; 其余的生物活性如四氯化碳诱导的肝损伤的保护作用的发挥也与多酚含量息息相关<sup>[7]</sup>。本研究表明: 在所试精油剂量范围内,精油中剂量组对于所测试的指标具有较好的改善作用。

3.3 本研究以从茜草中提取的挥发性成分茜草精油为原料验证对 CCl<sub>4</sub> 诱导肝损伤的保护作用尚属首次。早有研究表明<sup>[4]</sup>: 茜草中一种主要的化学成分茜草素具有潜在的抗氧化活性,可以剂量依赖方式抑制脂质过氧化物的发生。本研究中,茜草精油持续给药 21 d 的低、中和高剂量均显示出一定程度的对于 CCl<sub>4</sub> 诱导肝损伤的保护作用,或许可暗示出茜草精油具有的保肝活性亦与精油具有一定的抗氧化潜力及与精油中含有茜草素成分有关联,对于茜草精油的化学成分,作者将继续研究和报道。

## 参考文献

[1] 相正心,何兴全,周桂芬,等.岗松挥发油对实验性肝损害的

- 防治作用[J].药学报,1983,18(9):654-659
- XIANG Zheng-xin, HE Xing-quan, ZHOU Gua-fen. Study on the effect of the essential oil of gansong (*baeckea frutescens* L.) against experimental liver injury in mice [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 1983, 18(9): 654-659
- [2] 张翠丽,曾涛,王青山,等.大蒜油、大蒜素、茶多酚对四氯化碳急性肝损伤预防作用的比较[J].毒理学杂志,2008,22(9): 446-448
- ZHANG Cui-li, ZENG Tao, WANG Qing-shan, et al. Comparison of preventive effects of garlic oil, allitride, tea polyphenols on the acute liver injury induced by carbon tetrachloride [J]. Journal of Toxicology, 2008, 22(9): 446-448
- [3] Yizhong Cai, Mei sun, Jie Xing, et al. Antioxidant phenolic constituents in roots of rheum officinale and rubia cordifolia: structure-radical scavenging activity relationships [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52: 7884-7890
- [4] Guntupalli M, Mohana Rao, Chandana V Rao. Hepatoprotective effects of rubiadin, a major constituent of Rubia cordifolia Linn [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2006, 103: 484-490
- [5] Alessandra Russo, Carmen Formisano, Daniela Rigano, et al. Chemical composition and anticancer activity of essential oils of mediterranean sage (*Salvia officinalis*L.) grown in different environmental conditions [J]. Food and Chemical Toxicology, 2013, 55: 42-47
- [6] 杜蓉,王晓洁,阮新,等.富锗大麦苗对小鼠急性肝损伤的保护作用[J].食品科学,2009,30(21):371-373
- DU Rong, WANG Xiao-jie, RUAN Da-xin, et al. Hepatoprotective function of germanium-rich barley seedling in mice with acute hepatic injury [J]. Food Science, 2009, 30(21): 371-373
- [7] Chun-yan Gao, Cheng-rui Tian, Rui Zhou, et al. Phenolic composition, DNA damage protective activity and hepatoprotective effect of free phenolic extract from *Sphallerocarpus gracilis* seeds [J]. International Immunopharmacology, 2014, 20: 238-247
- [8] Gaetani G F, Galiano S, Canepa L, et al. Catalase and glutathione peroxidase are equally active in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes [J]. Blood, 1989, 73: 334-339
- [9] Halliwell B, Gutteridge J M, Cross C E. Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? [J]. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 1992, 119: 598-620
- [10] TIAN Jun, BAN Xiaoquan, ZENG Hong, et al. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cicuta virosa* L. var. *latsecta* celak [J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 145(2/3): 464-470
- [11] Mohamed Hajji, Ons Masmoudi, Nabil Souissi, et al. Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil from *Periploca laevigata* root barks [J]. Food Chemistry, 2010, 121(3): 724-731
- [12] 朴日龙,崔永,许青松.灵芝孢子油对四氯化碳诱导的小鼠肝损伤的保护作用[J].延边大学医学学报,2011,34(1):20-23
- PIAO Ri-long, CUI Yong, XU Qing-song. Protective effects of the oil from spores of *ganoderma lucidum* on carbon tetrachloride-induced hepatic injury in mice [J]. Medical Journal of Yanbian University, 2011, 34(1): 20-23
- [13] 沈洪,薛洁,朱路佳,等.生姜油不同部位对肝损伤模型大鼠肝细胞保护作用的比较[J].时珍国医国药,2009,20(1):89-90
- CHEN Hong, XUE Hong, ZHU Lu-jia, et al. Comparison of the protective effects of different parts of ginger oil against rat hepatocytes in vitro [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2009, 20(1): 89-90
- [14] Yu-Ling Lee, Gi-Wei Huang, Zeng-Chin Liang, et al. Antioxidant properties of three extracts from *Pleurotus citrinopileatus* [J]. LWT, 2007, 40: 823-833