

竹节参总皂苷对异烟肼和利福平致小鼠肝损伤的保护作用[△]

霍元秀*, 张长城, 王玮琦, 毛 帅, 袁 丁, 刘朝奇, 王 婷[#](三峡大学医学院, 湖北宜昌 443002)

中图分类号 R285;R575 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)47-4417-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.47.01

摘 要 目的:研究竹节参总皂苷对异烟肼和利福平合用致小鼠肝损伤的保护作用。方法:灌胃异烟肼(75 mg/kg)、利福平(100 mg/kg)7 d以复制小鼠肝损伤模型。40只雄性Bablc小鼠随机分为正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、水飞蓟宾(50 mg/kg)组与竹节参总皂苷高、低剂量(100、50 mg/kg)组,复制模型的同时灌胃给予相应药物,每天1次,连续7 d。测定小鼠肝脏指数、血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)活性、肝匀浆中丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活性及mRNA的表达情况,并作小鼠一般情况与肝组织病理学观察。结果:与正常对照组比较,模型组小鼠肝脏指数显著升高,肝组织ALT、AST活性显著增强,SOD、GSH-PX活性显著减弱,MDA含量显著增加,GSH-PX和SOD₂ mRNA表达显著减弱($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。与模型组比较,竹节参总皂苷高、低剂量组小鼠肝脏指数显著降低,肝组织ALT、AST活性显著减弱,SOD₂、GSH-PX活性显著增强,MDA含量显著减少,GSH-PX和SOD₂ mRNA表达显著增强($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。正常对照组小鼠肝脏外观正常,肝小叶结构清楚,肝细胞索排列整齐,肝细胞轻微水肿,核结构清晰,肝窦正常;模型组小鼠肝脏明显肿大,质脆,边缘钝而厚,表面呈黄褐色颗粒状,肝细胞弥漫性水肿,胞浆疏松化,胞质色淡,肝细胞点状坏死,散在有炎性细胞浸润;竹节参总皂苷高、低剂量组小鼠肝大体与肝组织病理学均明显改善。结论:竹节参总皂苷对异烟肼和利福平合用致小鼠肝损伤具有明显的保护作用,其机制可能与其抗脂质过氧化有关。

关键词 竹节参总皂苷;异烟肼;利福平;肝损伤;脂质过氧化

Protective Effects of Total Saponins of *Panax japonicus* on Mice Liver Injury Induced by Isoniazid and Rifampicin

HUO Yuan-xiu, ZHANG Chang-cheng, WANG Wei-qi, MAO Shuai, YUAN Ding, LIU Chao-qi, WANG Ting (Medical College of China Three Gorges University, Hubei Yichang 443002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the protective effects of total saponins of *Panax japonicus* on mice liver injury induced by isoniazid and rifampicin. METHODS: Mice liver injury model was induced by intragastric administration of isoniazid (INH 75 mg/kg) and rifampicin (RFP 100 mg/kg). 40 male Bablc mice were randomly divided into normal control group (constant volume of normal saline), model group (constant volume of normal saline), silymarin group (50 mg/kg), total saponins of *P. japonicus* low-dose and high-dose groups (100, 50 mg/kg). Model mice were given relevant medicines intragastrically once a day for consecutive 7 days. Then liver index, the activities of ALT and AST in serum, MDA content, the activities and mRNA expressions of SOD and GSH-PX in liver homogenate were investigated. General information and liver histopathology were observed. RESULTS: Compared with normal control group, liver index of mice, the activities of ALT and AST in liver tissue, the content of MDA in model group increased significantly, while the activities and mRNA expression of SOD₂ and GSH-PX decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with model group, liver index of mice, the activities of ALT and AST in liver tissue, the content of MDA in *P. japonicus* low-dose and high-dose groups decreased significantly, while the activities and mRNA expression of SOD and GSH-PX increased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Normal appearance of liver, clear structure of hepatic lobules, ordered hepatic cords, mild edema of hepatic cell, clear nuclear structure and normal sinus hepaticus were observed in normal control group. Obvious swelling of liver, crispy, blunt and thick liver edge, yellowish-brown granular appearance, diffuse edema of liver cell, loose endochylema, kytoplasm light in color, hepatocyte spotty necrosis and scattered inflammatory cell infiltration were observed in model group. Liver and hepatic histopathology of mice were improved significantly in total saponins of *P. japonicus* high-dose and low-dose groups. CONCLUSIONS: The protective effects of total saponins of *P. japonicus* on mice liver injury induced by isoniazid and rifampicin may be associated with inhibiting lipid peroxidation.

KEY WORDS Total saponins of *Panax japonicus*; Isoniazid; Rifampicin; Liver injury; Lipid peroxidation

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.31070314);湖北省自然科学基金资助项目(No.2010CDB10703);三峡大学博士启动基金资助项目(No.KJ2009 B077)

* 硕士研究生。研究方向:中药药理学。E-mail: huoyuanxiu@sina.com

[#] 通信作者:副教授,硕士研究生导师,博士。研究方向:中药药理学。电话:0717-6397466。E-mail:tingting0301@126.com

抗结核药常可能引起包括肝损伤(IRH)在内的副反应,进而引发肝功能紊乱,并最终导致死亡。经多项调查发现,异烟肼(RFP)是引起肝功能紊乱的主要诱因^[1-3]。美国公共卫生署的一项研究亦表明,应用RFP治疗可引起1%的肝炎和0.06%的死亡率^[4],但由于其治疗结核病的效果较好,因此仍是治疗该病的主要药物^[5]。为了成功治疗结核病和防止单一用药引起的耐药性,REP通常与利福平(INH)等联用,但IRH的发生几率也随

之增加^[9]。由于临床上尚无有效的防治方法,因此如何防治由抗结核药引起的IRH是目前亟待解决的问题。越来越多的研究表明,中药和中药复方制剂由于多靶点、多种作用机制,在治疗由抗结核药引起的IRH方面具有独特的优势。Chen X等^[7]研究显示,熊去氧胆酸可通过抗氧化和抗凋亡对IRH模型小鼠起到保护作用;樊文研等^[8]研究发现,三七总皂苷能显著降低IRH引起的肝脏指数、血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平。竹节参总皂苷是从五加科植物竹节参的干燥根茎中提取的主要有效活性成分,主要成分有竹节参总皂苷IV、IVa、V、Pis-2、人参皂苷Re,多以齐墩果烷型五环三萜为主,还含有少量的达玛烷型四环三萜的原人参二醇型和原人参三醇型皂苷。现代药理学研究显示,竹节参总皂苷对消化系统、心脑血管系统等均具有较好的作用^[9]。本课题组前期研究发现,竹节参总皂苷对急性酒精性肝损伤小鼠具有保护作用^[10],但是对于IRH是否具有防治作用尚不清楚,因此本研究将探讨竹节参总皂苷对IRH模型小鼠的保护作用并阐述其可能的作用机制。

1 材料

1.1 仪器

CT15RT型高速冷冻离心机(上海天美生化仪器设备工程有限公司);ULTRACUT R型超薄切片机(奥地利莱卡公司);CS-V1型摊片烤片机(孝感市宏业医用仪器有限公司);TP1020型脱水机(德国Leica公司);TE2000型倒置荧光显微镜(日本Nikon公司);INPINIFETMF 200型全波长酶标仪(芬兰Tecan公司);9902型PCR扩增仪(新加坡Applied Biosystems公司);Gene Genius凝胶分析系统(英国Syngne公司)。

1.2 药材

竹节参采自湖北恩施州中药材生产质量管理规范基地,由三峡大学三级药理实验室鉴定为真品。

1.3 药品与试剂

RFP(宜昌人福药业有限责任公司,批号:3120105,规格:100 mg/片);INH(沈阳红旗制药有限公司,批号:1111011,规格:150 mg/片);水飞蓟宾胶囊(天士力制药集团股份有限公司,批号:120714);ALT、AST、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、BCA法测定超微量蛋白含量试剂盒(南京建成生物工程研究所);Trizol, DEPC(生工生物工程上海有限公司);逆转录试剂盒(PrimeScript RT reagent DRR047A,大连宝生物工程技术有限公司);Dream Taq Green PCR Master Mix(美国Thermo公司)。

1.4 动物

SPF级Babc小鼠40只,♂,体质量(20±2)g,由武汉疾病预防控制中心提供[实验动物使用合格证号:SCXK(鄂)2008-0005]。实验动物饲养于三峡大学实验动物中心,12 h光照和黑夜循环,温度(22±2)℃,湿度50%~60%,标准饲料,自由饮水。

2 方法

2.1 竹节参总皂苷的制备

竹节参粗粉以10倍量的60%乙醇浸泡2 h后加热回流提取3次,每次回流3 h,以正丁醇萃取3次,以85%乙醇充分溶解后,边搅拌边缓慢加入4~5倍量丙酮沉淀,干燥后得竹节参总皂苷^[11]。竹节参总皂苷溶于无菌注射用水,贮藏,备用。

2.2 复制模型与分组、给药

实验分为五组,即正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、水飞蓟宾(50 mg/kg)组与竹节参总皂苷高、低剂量(100、50 mg/kg)组。ig给药,每天1次,连续7 d。ig给药的同时,除正常对照组外,其余各组均ig INH(75 mg/kg)与RFP(100 mg/kg),每天1次,连续7 d,以复制小鼠肝损伤模型。所有小鼠末次给药后禁食不禁水16 h,称定体质量,摘眼球取血,剖腹取肝。

2.3 肝脏指数的测定

称取小鼠体质量和肝质量,计算肝脏指数[肝脏质量(mg)/小鼠体质量(g)]。

2.4 血清生化指标的测定

各组小鼠取血后静置30 min,以离心半径为8 cm、3 500 r/min离心10 min,常规分离血清,按试剂盒说明用赖氏法测定血清ALT、AST活性。

2.5 肝组织病理形态学的检查

各组小鼠均取相同部位肝组织,置于4%中性多聚甲醛溶液固定,常规脱水,石蜡包埋,切片,HE染色后于光镜下观察肝脏的形态变化。

2.6 肝组织中GSH-PX、SOD活性和MDA含量的测定

准确称取动物组织质量,按质量(g):体积(ml)=1:9的比例加入9倍体积的0.9%生理盐水,冰水浴条件下机械匀浆,制备成10%的匀浆液,以离心半径为8 cm、3 000 r/min离心10 min,取上清液。严格按试剂盒说明测定肝匀浆中GSH-PX、SOD活力和MDA含量。

2.7 肝组织中GSH-PX和SOD mRNA表达的变化

取50 mg的肝组织,加入1 ml的Trizol液,进行匀浆,室温下静置5 min,4℃下以离心半径为8 cm、12 000 r/min离心10 min,将上清转移至1.5 ml离心管中,加入200 μl的氯仿,振荡混匀,室温静置5 min,4℃下以离心半径为8 cm、12 000 r/min离心15 min,将上清转移至新的离心管中,加入与上清液等体积的异丙醇,室温下静置10 min,4℃下以离心半径为8 cm、12 000 r/min离心10 min,向沉淀中加入1 ml 75%的乙醇,清洗沉淀,4℃下以离心半径为8 cm、12 000 r/min离心5 min,弃上清液保留沉淀,干燥,溶于适量的DEPC水中,即为总RNA;然后将提取的RNA反转录为cDNA:取0.5 μg RNA,依次加入5×g DNA Eraser Buffer 2 μl,5×g DNA Eraser 1 μl,补充RNase Free dH₂O,使总体积达10 μl,将混合液置42℃孵育2 min,置于冰上,在反应管中依次加入5×PrimeScript® Buffer 2(for Real Time)4 μl,PrimeScript® RT Enzyme Mix I 1 μl,RT Primer Mix 1 μl, RNase Free dH₂O 4 μl,反应体系为20 μl。将反应管37℃孵育15 min,85℃孵育5 s;然后进行扩增,上、下游序列分别为:GSH-PX: 5'-GCAATCAGTTCGGACACCAG-3', 5'-CACCATTCACCTCGCACTTCTC-3'; SOD₁: 5'-TGCAGGGAACCATCCACTC-G-3', 5'-CCCATGCTGG-CCTTCAGTTAATC-3'; SOD₂: 5'-ACAGCCTCCCAGACCTGCCTTAC, 5'-CCTCGTTGAGATTGT-3';β-actin: 5'-CGTGCCTGACATCAAAGAGAA-3', 5'-TG-GATGCCACAGGATTCCAT-3'; 25 μl体系: Dream Taq Green PCR Master Mix(2×)12.5 μl, cDNA模板0.5 μl,上、下游引物各0.5 μl,去离子水11 μl。反应条件如下:95℃,5 min;95℃,30 s(×30);57℃,35 s(×30);72℃,30 s(×30);72℃,5 min。最后2%琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像系统进行成像和灰度分析。

2.8 统计学方法

采用SPSS 18.0统计软件分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组样本间比较用单因素方差分析(one-way ANOVA)法,两两比较用LSD法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况变化

正常对照组小鼠皮毛光泽尚好,肝脏外观正常,颜色鲜亮,质地软而富有弹性。模型组小鼠皮毛无光泽,鼠脚掌及尾部呈桔黄色,大、小便可见桔红染,肝脏明显肿大,质脆,边缘钝而厚,表面呈黄褐色颗粒状。与模型组比较,竹节参总皂苷高、低剂量组小鼠状况明显改善。小鼠肝脏大体观察见图1。

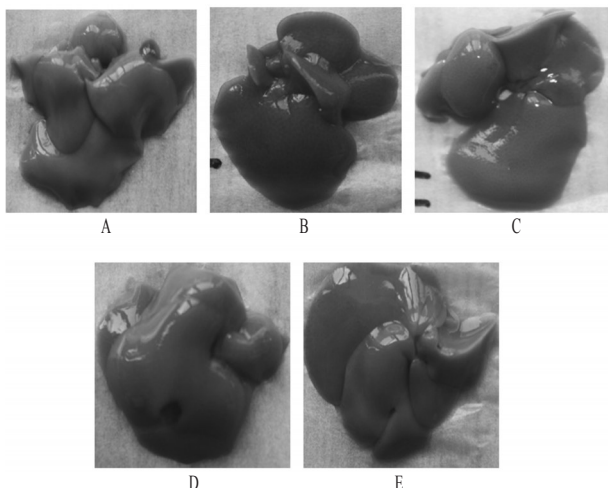


图1 小鼠肝脏大体观察

A.正常对照组;B.模型组;C.水飞蓟宾组;D.竹节参总皂苷低剂量组;E.竹节参总皂苷高剂量组

Fig 1 Appearance of mice liver

A.normal control group; B.model group; C.silymarin group; D.total saponins of *P. japonicus* low-dose group; E.total saponins of *P. japonicus* high-dose group

3.2 竹节参对小鼠肝脏病理形态学变化的影响

正常对照组小鼠肝小叶结构清楚,肝细胞索排列整齐,肝细胞轻微水肿,核结构清晰,肝窦正常。模型组小鼠肝细胞弥漫性水肿,胞浆疏松化,胞质色淡,肝细胞点状坏死,散在有炎性细胞浸润。与模型组比较,竹节参总皂苷高、低剂量组小鼠肝脏状况明显改善。按病理变化程度进行计分:0分,轻微改变;1分,轻中度改变;2分,中度改变;3分,中重度改变;4分,重度改变。肝组织病理形态学变化计分见表1;肝组织病理化见图2。

表1 肝组织病理形态学计分($n=8$)

Tab 1 Pathological change score of liver tissue($n=8$)

组别	细胞水肿					脂肪变性					细胞坏死				
	0分	1分	2分	3分	4分	0分	1分	2分	3分	4分	0分	1分	2分	3分	4分
正常对照组	2	3	2	1	0	8	0	0	0	0	8	0	0	0	0
模型组	0	0	0	2	6	0	0	1	3	4	0	0	1	4	3
水飞蓟宾组	0	1	4	3	0	0	0	3	3	2	0	1	4	2	1
竹节参总皂苷低剂量组	0	1	2	3	2	0	0	2	4	2	0	0	4	3	1
竹节参总皂苷高剂量组	0	2	3	2	1	0	1	2	3	2	0	2	3	2	1

3.3 竹节参总皂苷对模型小鼠肝脏指数、血清ALT和AST活性的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠肝脏指数显著升高,ALT、

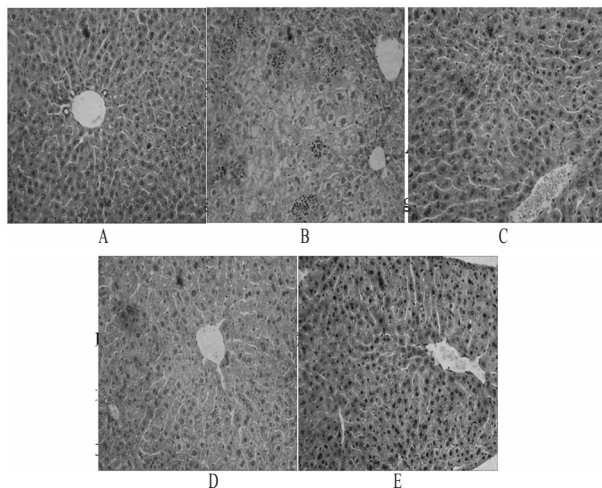


图2 肝组织病理变化

A.正常对照组;B.模型组;C.水飞蓟宾组;D.竹节参总皂苷低剂量组;E.竹节参总皂苷高剂量组

Fig 2 Pathological changes of liver tissue

A. normal group; B. model control group; C. silymarin group; D. total saponins of *P. japonicus* low-dose group; E. total saponins of *P. japonicus* high-dose group

AST活性显著增强($P < 0.05$);与模型组比较,竹节参总皂苷高、低剂量组小鼠肝指数显著降低($P < 0.01$),ALT、AST活性显著减弱($P < 0.05$)。竹节参总皂苷对模型小鼠肝脏指数、血清ALT和AST活性的影响见表2。

表2 竹节参总皂苷对模型小鼠肝脏指数、血清ALT、AST活性的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 2 Effects of total saponins of *P. japonicus* on liver index and activities of ALT and AST in liver injury mice($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	肝脏指数,mg/g	ALT,U/L	AST,U/L
正常对照组	47.93 ± 1.15	23.33 ± 2.89	55 ± 7.07
模型组	83.04 ± 5.55**	64.75 ± 10.50**	100.5 ± 6.36*
水飞蓟宾组	75.33 ± 2.03**	42 ± 16.17*	46.67 ± 16.17*
竹节参总皂苷低剂量组	76.08 ± 2.01**	43.33 ± 2.31*	67.67 ± 22.50
竹节参总皂苷高剂量组	66.30 ± 4.85**	40.67 ± 14.19**	101.5 ± 4.95

与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

vs.normal control group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs.model group: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

3.4 竹节参总皂苷对模型小鼠肝匀浆GSH-PX、SOD活性和MDA含量的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠肝组织中SOD、GSH-PX活性显著减弱,MDA含量显著增加($P < 0.01$);与模型组比较,竹节参总皂苷高、低剂量组小鼠肝组织中SOD、GSH-PX活性显著增强,MDA含量显著减少($P < 0.05$)。竹节参总皂苷对模型小鼠肝匀浆GSH-PX、SOD活性和MDA含量的影响见表3。

3.5 竹节参总皂苷对模型小鼠肝组织中GSH-PX和SOD mRNA表达的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠肝组织中GSH-PX和SOD₂ mRNA的表达显著减弱($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),SOD₁ mRNA的表达没有变化;与模型组比较,竹节参总皂苷高、低剂量组GSH-PX mRNA表达显著增强($P < 0.05$)和SOD₂

表3 竹节参总皂苷对模型小鼠肝匀浆SOD、GSH-PX活性和MDA含量的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 3 Effect of total saponins of *P. japonicus* on activities of SOD and GSH-PX and MDA content in liver injury mice ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	GSH-PX, U/mg	SOD, U/mg	MDA, nmol/mg
正常对照组	354.42 ± 11.81	217.03 ± 67.58	1.35 ± 0.035
模型组	311.80 ± 17.42*	147.88 ± 1.82*	1.75 ± 0.054*
水飞蓟宾组	344.59 ± 9.76*	201.77 ± 8.95*	1.35 ± 0.286 2*
竹节参总皂苷低剂量组	336.20 ± 8.06*	201.45 ± 3.05*	1.42 ± 0.167 9*
竹节参总皂苷高剂量组	345.49 ± 19.79*	204.74 ± 4.62*	1.36 ± 0.111 0*

与正常对照组比较: * $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$

vs. normal control group: * $P < 0.01$; vs. model group: # $P < 0.05$

mRNA 的表达显著增强 ($P < 0.01$)。GSH-PX、SOD mRNA 的表达见图3。

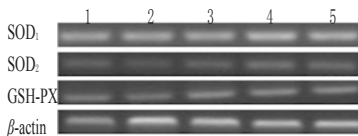


图3 GSH-PX、SOD mRNA 的表达

1.正常对照组;2.模型组;3.水飞蓟宾组;4.竹节参总皂苷低剂量组;5.竹节参总皂苷高剂量组

Fig 3 mRNA expression of GSH-PX and SOD

1. normal control group; 2. model group; 3. silymarin group; 4. total saponins of *P. japonicus* low-dose group; 5. total saponins of *P. japonicus* high-dose group

4 讨论

RFP 和 INH 是重要的一线抗结核药,但二者合用可引起肝脏代谢和形态学改变。近 50 年来,RFP 一直是治疗结核感染的主要药物,但研究发现其活性代谢产物,包括胍、氨和氧化性自由基会进一步引起肝脏氧化损伤^[12]。INH 是混合功能氧化酶的强大诱导剂,通过增加毒性代谢物的产生从而加重 RFP 的肝毒性^[13]。

RFP 和 INH 合用可明显增强 ALT、AST 的活性。ALT、AST 位于细胞质,在细胞损伤的情况下释放进入血液循环,提示肝脏结构受到损伤。本研究显示,高、低剂量竹节参总皂苷能明显抑制 RFP 和 INH 合用引起的 ALT、AST 活性增加,改善肝脏细胞损伤。

Cevik MU 等^[12]报道,在 RFP 和 INH 诱导的小鼠肝损伤中脂质过氧化增加^[7]。MDA 是多不饱和脂肪酸氧化链反应的分解产物,是氧化应激的可靠标志。本研究显示,高、低剂量竹节参总皂苷能明显降低 RFP 和 INH 合用引起的 MDA 增加。RFP 和 INH 等抗结核药引起活性氧(ROS)增加,并伴随抗氧化酶 SOD 和非酶自由基清除剂 GSH-PX 活性改变,并进一步刺激脂质过氧化反应,引起细胞膜损伤和瓦解^[14]。本研究结果发现,高、低剂量竹节参总皂苷能明显改善 INH 和 RFP 合用引起的 SOD 和 GSH-PX 活性降低,同时上调 SOD 和 GSH-PX mRNA 的表达,但 SOD₁ 的 mRNA 表达上调并不明显,SOD₂ 的 mRNA 表达却明显上调 ($P < 0.01$)。在哺乳类动物体内,仅含分布在胞浆中的 Cu、Zn-SOD(SOD₁)和分布于线粒体中的 Mn-SOD(SOD₂)^[15]。因此,笔者推测线粒体氧化应激在 INH 和 RFP 诱导的肝损伤中起到了极其重要的作用,但具体的机制有待后续的深入研究。

本研究通过 HE 染色发现,模型组小鼠肝脏存在中性粒细胞浸润。嗜中性粒细胞在炎症灶中是产生 ROS 的潜在来源,进而触发脂质过氧化反应引起氧化应激和肝脏损伤,而高、低剂量竹节参总皂苷能明显改善 RFP 和 INH 合用引起的肝细胞水肿和脂肪变性、坏死、炎症细胞浸润等病理改变。

综上所述,竹节参总皂苷能明显改善 INH 和 RFP 合用引起的肝脏损伤,其机制可能与抗脂质过氧化反应有关,但其确切的作用机制尚待进一步研究。

参考文献

- [1] Higuchi N, Tahara N, Yanagihara K, et al. NAT2 6A, a haplotype of the N-acetyltransferase 2 gene, is an important biomarker for risk of anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Japanese patients with tuberculosis[J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(45): 6 003.
- [2] Cho HJ, Koh WJ, Ryu YJ, et al. Genetic polymorphisms of NAT2 and CYP2E1 associated with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Korean patients with pulmonary tuberculosis[J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2007, 87(6): 551.
- [3] Possuelo LG, Castelan JA, de Brito TC, et al. Association of slow N-acetyltransferase 2 profile and anti-TB drug-induced hepatotoxicity in patients from Southern Brazil[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2008, 64(7): 673.
- [4] Kopanoff DE, Snider DE Jr, Caras GJ. Isoniazid-related hepatitis: a US. Public Health Service cooperative surveillance study[J]. *Am Rev Respir Dis*, 1978, 117(6): 991.
- [5] Centers for Disease Control and Prevention (CDCP). Severe isoniazid-associated liver injuries among persons being treated for latent tuberculosis infection-United States, 2004-2008[J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2010, 59(8): 224.
- [6] Adhvaryu MR, Reddy NM, Vakhana BC. Prevention of hepatotoxicity due to anti tuberculosis treatment: A novel intergrative approach[J]. *Gastroenterology*, 2008, 14(30): 4 753.
- [7] Chen X, Xu J, Zhang C, et al. The protective effects of ursodeoxycholic acid on isoniazid plus rifampicin induced liver injury in mice[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 659(1): 53.
- [8] 樊文研,罗力元.三七总皂苷对异烟肼和利福平合用所致小鼠肝损伤的保护作用[J]. *中国医药导报*, 2009, 6(35): 7.
- [9] 贺海波,许佳,徐媛青,等.竹节参总皂苷预处理对冠脉结扎致大鼠急性心肌缺血损伤的影响[J]. *中药材*, 2012, 35(5): 745.
- [10] 王洪武,李守超,贺海波,等.竹节参提取物对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2012, 17(9): 961.
- [11] 何毓敏,鲁科明,袁丁,等.竹节参总皂苷的制备工艺及含量测定[J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(22): 2 607.
- [12] Cevik MU, Acar A, Ekinici A, et al. Toxic effects of isoniazid and rifampicin on rat brain tissue: the preventive role of caffeic acid phenethyl ester[J]. *Int J Pharm*, 2012,

肉桂提取物对 α -葡萄糖苷酶活性及糖尿病模型大鼠餐后高血糖的抑制作用^A

董志超^{1*}, 何际婵¹, 王天群², 王新春², 晏小霞¹, 王建荣¹(1.中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/农业部热带作物种质资源利用重点开放实验室,海南儋州 571737;2.哈尔滨医科大学附属第二医院急诊科,哈尔滨 150086)

中图分类号 R285;R961.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)47-4421-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.47.02

摘要 目的:研究肉桂提取物对 α -葡萄糖苷酶活性及糖尿病模型大鼠餐后高血糖的抑制作用。方法:采用大鼠肠 α -葡萄糖苷酶体外活性抑制实验观察肉桂提取物的抑制作用,并采用酶动力学分析模块法对肉桂提取物抑制 α -葡萄糖苷酶动力学进行研究。采用腹腔注射链脲佐菌素以复制大鼠糖尿病模型,观察肉桂提取物对麦芽糖和蔗糖负荷餐后高血糖的抑制效果。结果:体外实验表明,肉桂提取物对大鼠肠 α -葡萄糖苷酶的抑制作用呈剂量依赖性,其半数抑制浓度值为529 $\mu\text{g/ml}$,酶动力学数据符合竞争性抑制的特征。在体实验表明,300、600 mg/kg 的肉桂提取物能明显缓解糖尿病模型大鼠麦芽糖和蔗糖负荷餐后血糖的升高,但不能缓解葡萄糖负荷餐后血糖的升高。结论:肉桂提取物可缓解餐后血糖升高,其机制可能与抑制 α -葡萄糖苷酶的活性有关。
关键词 肉桂; α -葡萄糖苷酶;大鼠;餐后血糖

Inhibitory Effects of *Cinnamomum cassia* Extract on α -glucosidase Activity and Postprandial Hyperglycemia in Diabetic Rats

DONG Zhi-chao¹, HE Ji-chan¹, WANG Tian-qun², WANG Xin-chun², YAN Xiao-xia¹, WANG Jian-rong¹(1.Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Key Laboratory of Tropical Crops Germplasm Utilization, Ministry of Agriculture, Hainan Danzhou 571737, China; 2.Emergency Department, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the inhibitory effects of *Cinnamomum cassia* extract on α -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia in diabetic rats. METHODS: The inhibitory effects of *C. cassia* extract were observed by studying the activity of rat intestinal α -glucosidase in vitro. The kinetics of enzyme inhibition was studied by EKM method. The diabetic rat model was induced by STZ, and therapeutic efficacy of *C. cassia* extracts for postprandial hyperglycemia after disaccharide loading was observed. RESULTS: *in vitro* studies had indicated inhibitory activity of *C. cassia* extract against α -glucosidase in dose-dependent manner with the IC_{50} value of 529 $\mu\text{g/ml}$. Enzyme kinetics data was up to a competitive mode of inhibition. *in vivo* animal experiments showed that *C. cassia* extracts (300 mg/kg and 600 mg/kg) could alleviate postprandial hyperglycemia significantly in maltose and sucrose loaded STZ induced diabetic rats but not in glucose-loaded rats. CONCLUSIONS: *C. cassia* extracts can inhibit postprandial hyperglycemia, which may be associated with the inhibition of α -glucosidase activity.

KEY WORDS *Cinnamomum cassia*; α -glucosidase; Rat; Postprandial hyperglycemia

2型糖尿病患者由于胰岛素分泌不足及分泌高峰延迟,不足以控制餐后血糖,其餐后血糖持续增高,致使与进食相关的第1时相胰岛素分泌严重减弱或消失餐后血糖^[1]。餐后高血糖是糖尿病血管病变的主要危险因素。餐后血糖的急剧变化较

之慢性持续性高血糖更能特异地触发氧化应激反应。由此提示治疗目标不仅要降低平均血糖浓度,而且要减少急性血糖波动^[2]。

α -葡萄糖苷酶抑制剂可抑制小肠黏膜 α -葡萄糖苷酶的活

8(6):555.
[13] Saad EI, El-Gowilly SM, Sherhaa MO, et al. Role of oxidative stress and nitric oxide in the protective effects of α -lipoic acid and aminoguanidine against isoniazid-rifampicin-induced hepatotoxicity in rats[J]. *Food Chem Toxicol*

[△]基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目(No.1630032013017)

* 副研究员。研究方向:南药产品研发。E-mail: dongzc2002@aliyun.com

ca, 2010, 48(7):1 869.

[14] Pal R, Rana SV, Vaiphei K, et al. Isoniazid-rifampicin induced lipid changes in rats[J]. *Clin Chim Acta*, 2008, 389(1/2):55.

[15] Faraci FM, Didion SP. Vascular protection superoxide dismutase forms in the vessel wall [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(1):1 367.

(收稿日期:2013-08-08 修回日期:2013-09-10)