

# 滇黄芩总黄酮不同极性萃取部位对非酒精性脂肪肝模型大鼠的改善作用研究<sup>△</sup>

王蒙蒙\*, 乔雪, 方琼莲, 付胜男, 李欣坪, 黄丰, 林玉萍<sup>#</sup>(云南中医药大学中药学院暨云南省南药可持续利用重点实验室, 昆明 650500)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)11-1338-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.11.10



**摘要** 目的 研究滇黄芩总黄酮不同极性萃取部位对非酒精性脂肪肝(NAFLD)模型大鼠的改善作用。方法 采用乙醇回流提取法制备滇黄芩总黄酮(SAF);将SAF用水分散后依次用乙酸乙酯、正丁醇进行萃取,分别得到滇黄芩总黄酮乙酸乙酯、正丁醇萃取部位(分别记为SAFA、SAFB)。将36只大鼠分为正常组( $n=6$ )和造模组( $n=30$ )。造模组大鼠通过饲以高脂饲料复制NAFLD模型。成模后,将造模组大鼠随机分为模型组(生理盐水)、非诺贝特组(阳性对照,20 mg/kg)、SAF组(300 mg/kg)、SAFA组(300 mg/kg)和SAFB组(300 mg/kg),每日灌胃1次,连续6周。末次灌胃后,计算大鼠的肝脏指数,检测大鼠血清中总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平和肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)、白细胞介素 $1\beta$ (IL- $1\beta$ )、IL-6、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平,并观察大鼠肝组织病理形态学变化。**结果** 与正常组比较,模型组大鼠肝脏指数和血清/肝组织中TC、TG、AST、ALT、LDL-C、MDA、IL- $1\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平均显著升高( $P<0.05$ ),而HDL-C、SOD、GSH-Px水平均显著降低( $P<0.05$ )。与模型组比较,除SAFA组大鼠血清中HDL-C、ALT水平差异无统计学意义外( $P>0.05$ ),滇黄芩总黄酮各极性萃取部位给药组大鼠血清/肝组织中上述指标均显著改善( $P<0.05$ ),肝组织炎症细胞浸润、脂肪空泡等现象明显改善。与SAF组和SAFA组比较,SAFB组大鼠血清/肝组织中TC、TG、AST、MDA、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平均显著降低( $P<0.05$ ),SOD水平显著升高( $P<0.05$ ),肝组织病理形态学变化改善更为明显。**结论** 滇黄芩总黄酮各极性萃取部位均可通过调控氧化应激、抑制炎症因子分泌而发挥其对NAFLD的改善作用,且以正丁醇萃取部位的效果更好。

**关键词** 滇黄芩;总黄酮;极性萃取部位;非酒精性脂肪肝;保肝;氧化应激;炎症因子

## Study on improvement effects of different polar parts from total flavonoids of *Scutellaria amoena* on non-alcoholic fatty liver model rats

WANG Mengmeng, QIAO Xue, FANG Qionglian, FU Shengnan, LI Xinping, HUANG Feng, LIN Yuping (School of Chinese Materia Medica & Key Laboratory of Sustainable Utilization of Southern Medicine of Yunnan Province, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To study the improvement effects of different polar parts from total flavonoids of *Scutellaria amoena* on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) model rats. **METHODS** The total flavonoids of *S. amoena* (SAF) were extracted by reflux extraction with ethanol, suspended with water, and then extracted with ethyl acetate and *n*-butanol in order to obtain the extraction parts of SAF (recorded as SAFA and SAFB respectively). Thirty-six rats were randomly divided into normal group ( $n=6$ ) and modeling group ( $n=30$ ). Modeling group was given high-lipid diet to induce NAFLD model. After modeling, modeling group was randomly divided into model group (normal saline), fenofibrate group (positive control, 20 mg/kg), SAF group (300 mg/kg), SAFA group (300 mg/kg) and SAFB group (300 mg/kg); they were given relevant intragastrical administration, once a day, for consecutive 6 weeks. After last administration, the liver index was calculated; the levels of total cholesterol (TC), triacylglycerol (TG), aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in serum, the levels of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), malondialdehyde (MDA), interleukin- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), IL-6 and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in liver tissue were detected; the pathomorphological changes of liver tissue were observed. **RESULTS** Compared with normal group, the liver index, the levels of TC, TG, AST, ALT, LDL-C, MDA, IL- $1\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  in serum/liver tissue of model group were all increased significantly ( $P<0.05$ ), while the levels of HDL-C, SOD and GSH-Px were all decreased significantly ( $P<0.05$ ). Compared with model group, except there was no statistical significance in the serum levels of HDL-C and ALT in SAFA group ( $P>0.05$ ), above indexes in serum/liver

<sup>△</sup> 基金项目:云南省科技计划项目[No.2017FF117(-022)];云南省应用基础研究项目-中医联合专项面上项目(No.202001AZ070001-042);云南省教育厅科学研究基金项目(No.2022Y356)

\* 硕士研究生。研究方向:中药资源与开发。E-mail: 1907964048@qq.com

<sup>#</sup> 通信作者:副教授,硕士生导师,硕士。研究方向:中药、天然药物活性。E-mail: 11217005@qq.com

tissue of rats in groups of polar parts from total flavonoids of *S. amoena* were significantly improved ( $P < 0.05$ ); inflammatory cell infiltration and fatty vacuoles in liver tissue were significantly improved. Compared with SAF group and SAFA group, the levels of TC, TG, AST, MDA, IL-6 and TNF- $\alpha$  were decreased significantly in SAFB group ( $P < 0.05$ ), while the level of SOD was increased significantly ( $P < 0.05$ ); pathomorphological changes of liver tissue were improved more significantly. **CONCLUSIONS** Each polar part from total flavonoids of *S. amoena* can improve NAFLD by regulating oxidative stress and inhibiting the secretion of inflammatory factors. The *n*-butanol polar part has more obvious effect.

**KEYWORDS** *Scutellaria amoena*; total flavonoids; polar parts; non-alcoholic fatty liver disease; hepatoprotective effect; oxidative stress; inflammatory factors

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种常见的慢性肝病,在发达国家发病率较高,是隐源性肝硬化和慢性肝病的主要病因之一<sup>[1-2]</sup>。NAFLD的全球患病率约为25%,如果不进行及时治疗,可能发展为肝硬化以及肝功能衰竭和肝细胞癌,甚至导致死亡<sup>[3]</sup>。与NAFLD发展密切相关的危险因素包括胰岛素抵抗、脂代谢紊乱、氧化应激、炎症、细胞凋亡和纤维化等,调节脂代谢紊乱、减轻氧化应激和炎症是中药治疗NAFLD的关键<sup>[4]</sup>。

滇黄芩为唇形科植物滇黄芩 *Scutellaria amoena* C. H. Wright 的根,又名枯芩、西南黄芩等,主要分布在云南、四川、贵州等地<sup>[5-6]</sup>。《云南民族药大辞典》记载,其味苦、性寒,归肝、肺、胃、胆、大肠经,彝医常用于治疗肝病、传染性肝炎、肺咳等疾病<sup>[7]</sup>。关于滇黄芩药理活性的研究报道较少,目前的研究报道仅显示其具有抗氧化<sup>[8-9]</sup>、抗心律失常<sup>[10]</sup>、改善四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)所致肝损伤等作用<sup>[11]</sup>。本课题组前期研究发现,滇黄芩主要以黄酮类成分为主,具有较好的降脂作用<sup>[12-13]</sup>。本研究拟以高脂饮食诱导建立NAFLD大鼠模型,考察滇黄芩总黄酮不同极性萃取部位对模型大鼠的保肝作用,探究滇黄芩在抗氧化、保肝等方面的药用价值,为民族药滇黄芩资源的充分利用提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有 Infinite M200 PRO 型酶标仪(瑞士 Tecan 公司), H1850R 型台式高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司), DY89-II 型电动玻璃匀浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司), RM2016 型组织切片机(上海徠卡仪器有限公司), XB220A 型电子分析天平(瑞士 Precisa 公司), Nikon ECLIPSE C1 型正置显微镜、Nikon Digital Sight DS-FI2 型成像系统(日本 Nikon 公司)。

### 1.2 主要药品与试剂

滇黄芩药材于2017年采自云南省新平县,经云南中医药大学中药学院普春霞副教授鉴定为唇形科植物滇黄芩 *S. amoena* C. H. Wright 的根。总胆固醇(total cholesterol, TC)测定试剂盒(批号 20191102)、三酰甘油(triacylglycerol, TG)测定试剂盒(批号 20191203)、天冬

氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)测定试剂盒(批号 20191130)、丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT)测定试剂盒(批号 20191129)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)测定试剂盒(批号 20191202)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)测定试剂盒(批号 20191129)均购自南京建成生物工程研究所;丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒(批号 120718190301)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)检测试剂盒(批号 032219190408)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)检测试剂盒(批号 112618190311)、白细胞介素 1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )检测试剂盒(批号 20032602R)、IL-6 检测试剂盒(批号 20032603R)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )检测试剂盒(批号 20032607R)均购自江苏酶免实业有限公司;黄芩苷对照品(批号 110715-201016,纯度 $\geq 98\%$ )购自中国食品药品检定研究院;其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

### 1.3 动物

本研究所用动物为 SPF 级 SD 大鼠,共 36 只,雄性,6~8 周龄,体质量 180~200 g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司[实验动物生产许可证号为 SCXK(湘)-2016-0002]。购入后,将大鼠饲养于温度(25 $\pm$ 2)  $^{\circ}$ C、相对湿度(45 $\pm$ 5)%、12 h 明暗交替的环境中,喂养期间予其自由摄食和饮水。本实验通过了云南中医药大学动物伦理委员会的伦理审核(动物伦理学审查编号为 R-06201945)。

## 2 方法

### 2.1 滇黄芩总黄酮不同极性萃取部位的制备

取滇黄芩粉末 2 kg,加入 8 倍量(16 L) 95%乙醇,加热回流提取 3 次、每次 2.5 h,分别过滤并收集滤液。合并 3 次滤液,减压回收溶剂得到滇黄芩总黄酮提取物(记为 SAF,得率为 7.76%;经高效液相色谱法测定,SAF 中总黄酮含量为 61.7  $\mu$ g/mL,主要含黄芩苷、鞣黄芩素 II -7-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖醛酸甲酯、去甲汉黄芩素 II -7-*O*- $\beta$ -D-吡喃糖醛酸甲酯、黄芩素、高车前素、汉黄芩素、白杨素和千层纸素 A 等成分)。取适量 SAF,用水分散后,依次用乙酸乙酯、正丁醇萃取 3 次,回收溶剂后分

别得到滇黄芩总黄酮乙酸乙酯、正丁醇萃取部位浸膏(分别记为SAFA、SAFB,得率分别为46.14%、17.26%)。将上述提取物的浸膏冷冻干燥成粉末,室温保存,使用时用生理盐水溶解。

## 2.2 造模、分组与给药

将36只大鼠适应性饲养1周后,随机挑选6只作为正常组,给予普通饲料;其余30只大鼠为造模组,给予高脂饲料。所有大鼠均喂养12周,然后将造模组大鼠按照随机数字表法分为模型组、非诺贝特组(阳性对照)、SAF组、SAFA组和SAFB组,每组6只。正常组、模型组大鼠给予生理盐水(10 mL/kg);非诺贝特组大鼠给予非诺贝特(20 mg/kg),剂量参考人体给药剂量设置;SAF组、SAFA组和SAFB组大鼠分别给予相应提取物300 mg/kg(均以提取物的量计),剂量参考前期预实验结果设置。每日灌胃1次,连续6周。

## 2.3 样本取材及处理

末次灌胃后,大鼠禁食不禁水12 h,称定其体质量。腹腔注射2%戊巴比妥钠麻醉大鼠后,于腹主动脉取血;将血液于4℃静置30 min后,以3 000 r/min低温离心15 min,分离血清。同时,冰上取大鼠肝脏组织,观察肝脏组织的一般外部形态(包括颜色、大小、厚度)。

## 2.4 肝脏指数测定

取“2.3”项下肝组织,以冰生理盐水清洗干净后,用滤纸吸干多余水分,称量肝脏湿质量,并计算肝脏指数:肝脏指数(%)=肝脏湿质量/大鼠体质量×100%<sup>[4]</sup>。

## 2.5 血清中TC、TG、AST、ALT、HDL-C、LDL-C水平测定

取“2.3”项下血清,采用生化法检测各组大鼠血清中TC、TG、AST、ALT、HDL-C、LDL-C水平,具体操作按照相应试剂盒说明书方法进行。

## 2.6 肝组织中SOD、GSH、MDA、IL-1β、IL-6、TNF-α水平测定

取“2.3”项下肝组织,以生理盐水制备10%组织匀浆,然后将匀浆在4℃下以3 500 r/min离心15 min,吸取上层匀浆液。采用酶联免疫吸附测定法检测各组大鼠肝组织中SOD、GSH-Px、MDA、IL-1β、IL-6、TNF-α水平,具体操作按照相应试剂盒说明书方法进行。

## 2.7 肝组织病理形态学观察

取“2.3”项下肝组织,用4%多聚甲醛固定,常规制备石蜡切片(3 μm),行苏木精-伊红(HE)染色后,在显微镜下观察各组大鼠肝组织病理形态学变化。

## 2.8 统计学方法

采用SPSS 18.0软件对数据进行统计分析。结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,方差齐性时两组间比较采用LSD-*t*检验,方差不齐性时两组间比较采用非参数检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 3 结果

### 3.1 大鼠体质量、肝脏湿质量和肝脏指数测定结果

与正常组比较,模型组大鼠的体质量、肝脏湿质量和肝脏指数均显著升高( $P<0.05$ );与模型组比较,仅SAFB组大鼠的体质量显著降低( $P<0.05$ ),但所有给药组大鼠的肝脏湿质量和肝脏指数均显著降低( $P<0.05$ )。各组大鼠体质量、肝脏湿质量和肝脏指数测定结果见表1。

表1 各组大鼠体质量、肝脏湿质量、肝脏指数测定结果( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	体质量/g	肝脏湿质量/g	肝脏指数/%
正常组	509.67±26.33	12.12±1.09	2.38±0.12
模型组	572.52±37.21 <sup>a</sup>	21.87±2.62 <sup>a</sup>	3.68±0.88 <sup>a</sup>
非诺贝特组	530.90±59.82	16.93±1.78 <sup>b</sup>	3.20±1.22 <sup>b</sup>
SAF组	533.15±31.88	13.07±1.62 <sup>b</sup>	2.44±0.17 <sup>b</sup>
SAFA组	537.45±39.44	12.86±1.43 <sup>b</sup>	2.39±0.23 <sup>b</sup>
SAFB组	520.33±16.51 <sup>b</sup>	12.21±0.65 <sup>b</sup>	2.31±0.11 <sup>b</sup>

a:与正常组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$

### 3.2 大鼠血清中TC、TG、HDL-C、LDL-C、ALT、AST水平测定结果

与正常组比较,模型组大鼠血清中TC、TG、LDL-C、ALT、AST水平均显著升高( $P<0.05$ ),而HDL-C水平显著降低( $P<0.05$ );与模型组比较,除非诺贝特组大鼠血清中HDL-C水平和SAFA组大鼠血清中HDL-C、ALT水平差异无统计学意义外( $P>0.05$ ),其余各给药组大鼠上述指标均显著改善( $P<0.05$ );与SAF组、SAFA组比较,SAFB组大鼠血清中TC、TG、AST水平均显著降低( $P<0.05$ )。各组大鼠血清中TC、TG、HDL-C、LDL-C、ALT、AST水平测定结果见表2。

表2 各组大鼠血清中TC、TG、HDL-C、LDL-C、ALT、AST水平测定结果( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	HDL-C/(mmol/L)	LDL-C/(mmol/L)	ALT/(U/L)	AST/(U/L)
正常组	2.47±0.38	0.59±0.12	1.34±0.27	0.43±0.69	15.00±5.90	15.13±3.84
模型组	4.28±0.36 <sup>a</sup>	1.16±0.25 <sup>a</sup>	0.71±0.13 <sup>a</sup>	0.86±0.18 <sup>a</sup>	27.17±6.36 <sup>a</sup>	26.83±0.61 <sup>a</sup>
非诺贝特组	2.63±0.78 <sup>b</sup>	0.68±0.14 <sup>b</sup>	0.85±0.19	0.45±0.16 <sup>b</sup>	16.95±7.43 <sup>b</sup>	20.64±4.81 <sup>b</sup>
SAF组	3.49±0.44 <sup>b</sup>	0.82±0.14 <sup>b</sup>	0.95±0.15 <sup>b</sup>	0.51±0.06 <sup>b</sup>	17.92±8.12 <sup>b</sup>	20.71±3.59 <sup>b</sup>
SAFA组	3.54±0.53 <sup>b</sup>	0.87±0.24 <sup>b</sup>	0.89±0.15	0.47±0.16 <sup>b</sup>	19.02±8.56	21.67±4.57 <sup>b</sup>
SAFB组	2.85±0.67 <sup>bcd</sup>	0.60±0.11 <sup>bcd</sup>	1.01±0.19 <sup>b</sup>	0.48±0.11 <sup>b</sup>	16.27±7.76 <sup>b</sup>	15.46±1.29 <sup>bcd</sup>

a:与正常组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ ;c:与SAF组比较, $P<0.05$ ;d:与SAFA组比较, $P<0.05$

### 3.3 大鼠肝组织中MDA、GSH-Px、SOD水平测定结果

与正常组比较,模型组大鼠肝组织中MDA水平显著升高( $P<0.05$ ),而GSH-Px、SOD水平均显著降低( $P<0.05$ );与模型组比较,各给药组大鼠肝组织中MDA水平显著降低( $P<0.05$ ),而GSH-Px、SOD水平均显著升高( $P<0.05$ );与SAF组和SAFA组比较,SAFB组大鼠肝组织中MDA水平显著降低( $P<0.05$ ),SOD水平显著升高( $P<0.05$ )。各组大鼠肝组织中MDA、GSH-Px、SOD

水平测定结果见表3。

表3 各组大鼠肝组织中MDA、GSH-Px、SOD水平测定结果( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	MDA/(nmol/g)	GSH-Px/(ng/g)	SOD/(nmol/g)
正常组	17.33 ± 2.45	163.23 ± 5.41	86.82 ± 3.43
模型组	49.18 ± 1.95 <sup>a</sup>	70.78 ± 15.18 <sup>a</sup>	39.81 ± 4.83 <sup>a</sup>
非诺贝特组	37.33 ± 4.17 <sup>b</sup>	167.60 ± 6.20 <sup>b</sup>	67.60 ± 6.20 <sup>b</sup>
SAF组	34.21 ± 5.03 <sup>b</sup>	108.95 ± 25.44 <sup>b</sup>	64.52 ± 12.55 <sup>b</sup>
SAFA组	33.14 ± 5.13 <sup>b</sup>	115.61 ± 20.26 <sup>b</sup>	65.24 ± 10.86 <sup>b</sup>
SAFB组	28.04 ± 4.95 <sup>bcd</sup>	124.88 ± 13.53 <sup>b</sup>	77.19 ± 6.01 <sup>bcd</sup>

a: 与正常组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与SAF组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与SAFA组比较,  $P < 0.05$

### 3.4 大鼠肝组织中IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平测定结果

与正常组比较, 模型组大鼠肝组织中IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平均显著升高( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 各给药组大鼠肝组织中IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平均显著降低( $P < 0.05$ ); 与SAF组比较, SAFA组大鼠肝组织中IL-1 $\beta$ 水平显著升高, SAFB组大鼠肝组织中IL-6、TNF- $\alpha$ 水平均显著降低( $P < 0.05$ ); 与SAFA组比较, SAFB组大鼠肝组织中IL-1 $\beta$ 、IL-6和TNF- $\alpha$ 水平均显著降低( $P < 0.05$ )。各组大鼠肝组织中IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平测定结果见表4。

表4 各组大鼠肝组织中IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平测定结果( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	IL-1 $\beta$ /(pg/mL)	IL-6/(pg/mL)	TNF- $\alpha$ /(pg/mL)
正常组	96.93 ± 9.82	63.93 ± 11.51	202.10 ± 46.13
模型组	180.42 ± 10.53 <sup>a</sup>	252.60 ± 16.10 <sup>a</sup>	492.52 ± 46.22 <sup>a</sup>
非诺贝特组	76.18 ± 8.81 <sup>b</sup>	162.03 ± 15.25 <sup>b</sup>	350.96 ± 52.41 <sup>b</sup>
SAF组	101.95 ± 9.14 <sup>b</sup>	103.99 ± 12.49 <sup>b</sup>	361.07 ± 24.42 <sup>b</sup>
SAFA组	144.18 ± 8.83 <sup>bc</sup>	104.59 ± 9.72 <sup>b</sup>	358.83 ± 23.84 <sup>b</sup>
SAFB组	127.71 ± 7.33 <sup>bd</sup>	87.38 ± 13.29 <sup>bcd</sup>	310.80 ± 37.65 <sup>bcd</sup>

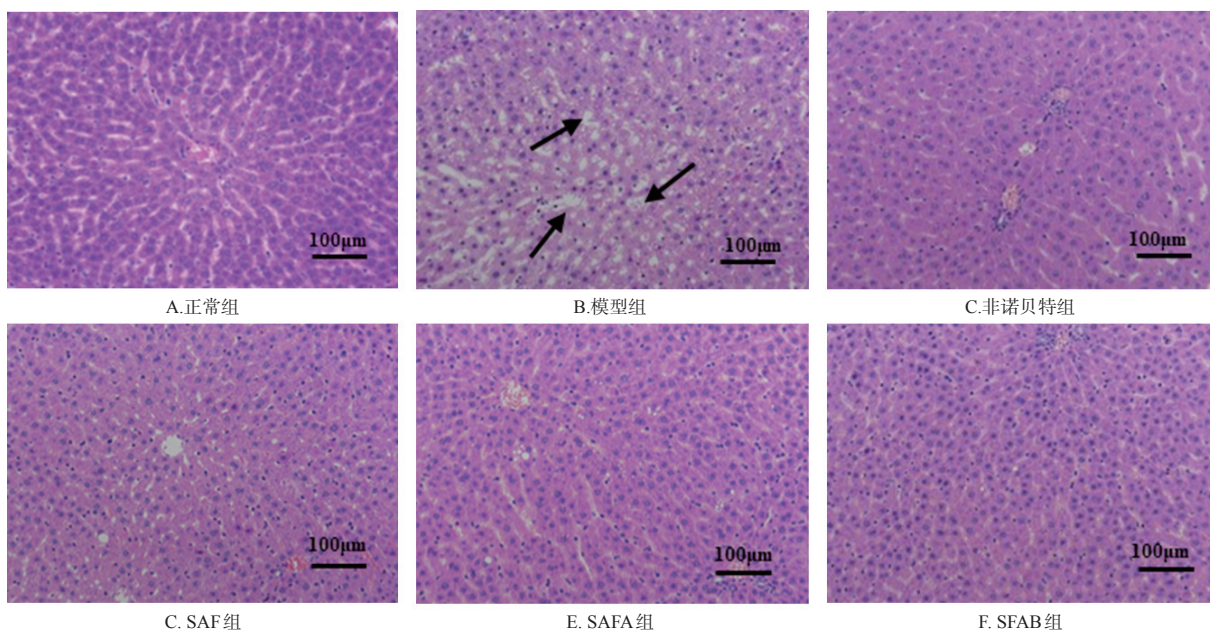
a: 与正常组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与SAF组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与SAFA组比较,  $P < 0.05$

### 3.5 大鼠肝组织病理形态学观察结果

正常组大鼠肝细胞呈规则的放射状排列, 大小均匀, 肝组织结构 and 形态均正常。模型组大鼠肝细胞周围可见大量的脂肪空泡, 多处细胞核萎缩坏死, 有大量炎症细胞浸润。与模型组比较, 非诺贝特组大鼠肝细胞损伤状况明显改善, 脂肪空泡明显减少, 细胞核大小正常, 炎症细胞浸润明显改善。滇黄芩总黄酮各极性萃取部位组大鼠肝损伤状态均有不同程度改善, 脂肪空泡和细胞坏死现象明显减少, 但仍有少量炎症细胞浸润; 其中, 以SAFB组大鼠肝组织病理形态学变化的改善更为明显。各组大鼠肝组织病理形态学观察显微图见图1。

## 4 讨论

非诺贝特是临床上常用于治疗高脂血症的药物, 也常作为阳性药物在NAFLD相关研究中使用, 故本研究选择非诺贝特作为阳性对照药物。血清中TC、TG、HDL-C、LDL-C、AST、ALT水平是反映NAFLD程度最常用的指标<sup>[15]</sup>。本研究结果显示, 以高脂饲料饲养12周后, 模型组大鼠的体质量、肝脏指数均明显升高, 肝组织出现炎症细胞浸润, 且血清中TC、TG、LDL-C、AST、ALT水平升高, 血清中HDL-C水平降低, 提示建模成功。而非诺贝特组和滇黄芩总黄酮各极性萃取部位组大鼠肝脏指数均显著降低, 肝组织病理形态学变化得到一定程度改善, 血清中TC、TG、LDL-C、AST、ALT水平降低, 血清中HDL-C水平升高, 并且SAFB降低模型大鼠血清中TC、TG、AST水平和改善模型大鼠肝组织病理形态学变化的效果比SAF和SAFA更好。



注: 箭头所指为脂肪空泡

图1 各组大鼠肝组织病理形态学观察显微图(HE染色)

人体内氧化与抗氧化是一个动态平衡的过程,肝组织中的主要抗氧化酶系(包括 SOD、GSH-Px 等)能够抑制氧化损伤,是氧化应激中重要的靶点<sup>[16]</sup>。MDA 是脂质过氧化反应的终产物,也是反映细胞氧化程度、病变进程的重要指标<sup>[17]</sup>。因此,SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量通常作为反映机体氧化损伤程度的指标。在 NAFLD 期间,氧化应激可能促进肝脏脂质堆积、浸润性炎症进展及间质纤维化进展,因此,减轻活性氧诱导的氧化应激、保持肝脏氧化还原稳态,可能是防治 NAFLD 的有利策略<sup>[18]</sup>。本研究结果显示,模型组大鼠肝组织中 MDA 水平升高,SOD、GSH-Px 水平降低;而非诺贝特组与滇黄芩总黄酮各极性萃取部位组大鼠肝组织中 MDA 水平降低,SOD、GSH-Px 水平升高;并且,SAFB 降低模型大鼠肝组织中 MDA 水平和升高 SOD 水平的作用较 SAF 和 SAFA 更优。

氧化应激介导的炎症反应是 NAFLD 发生的重要病理机制,当氧化应激水平升高后,会促进 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  等炎症因子的产生,诱导肝损伤<sup>[19]</sup>。本研究结果显示,模型组大鼠肝组织中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平显著升高;非诺贝特组与滇黄芩总黄酮各极性萃取部位给药组大鼠肝组织中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平较模型组显著降低,并且 SAFB 组大鼠肝组织中 IL-6、TNF- $\alpha$  水平较 SAF 组和 SAFA 组降低得更为明显。该结果表明,滇黄芩总黄酮可减轻 NAFLD 模型大鼠肝脏的炎症反应,从而缓解 NAFLD 的病理进程,其中以 SAFB 的效果更好。

综上所述,滇黄芩总黄酮各极性萃取部位均可通过调控氧化应激、抑制炎症因子的分泌发挥其对 NAFLD 的改善作用,且以正丁醇萃取部位的效果更好。

## 参考文献

[1] TRÉPO E, VALENTI L. Update on NAFLD genetics: from new variants to the clinic[J]. *J Hepatol*, 2020, 72(6): 1196-1209.

[2] XU Y, GUO W, ZHANG C, et al. Herbal medicine in the treatment of non-alcoholic fatty liver diseases—efficacy, action mechanism, and clinical application[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 601.

[3] HUANG D Q, EL-SERAG H B, LOOMBA R. Global epidemiology of NAFLD-related HCC: trends, predictions, risk factors and prevention[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(4): 223-238.

[4] ZHANG J L, ZHANG H M, DENG X L, et al. Baicalin attenuates non-alcoholic steatohepatitis by suppressing key regulators of lipid metabolism, inflammation and fibrosis

in mice[J]. *Life Sci*, 2018, 192: 46-54.

[5] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志:第六十五卷[M].北京:科学出版社,2004:192.

[6] 杨本雷,于惠祥.中国彝族药学[M].昆明:云南民族出版社,2004:78-80.

[7] 郑进,张超,钱子刚.云南民族药大辞典[M].上海:上海科学技术出版社,2019:2673-2675.

[8] 刘海鸥,虎春艳,赵声兰,等.滇黄芩总黄酮酶解超声提取工艺及抗氧化活性研究[J].*中国酿造*, 2016, 35(1): 110-114.

[9] 李欣坪,王蒙蒙,王子晨,等.滇黄芩茎叶乙醇提取物及其不同溶剂萃取部位的抗氧化和降脂活性研究[J].*中国药房*, 2021, 32(2): 220-225.

[10] 何晓山,周宁娜,林青,等.滇黄芩总黄酮抗心律失常作用的实验研究[J].*中国中药杂志*, 2010, 35(4): 508-510.

[11] 付胜男,李欣坪,虎春艳,等.滇黄芩醇提物及其不同溶剂萃取部位对 CCl<sub>4</sub>致小鼠肝损伤的保护作用研究[J].*中国药房*, 2020, 31(22): 2731-2735.

[12] 付胜男,李欣坪,王蒙蒙,等.滇黄芩根化学成分的研究[J].*中成药*, 2021, 43(6): 1493-1499.

[13] 李欣坪,乔雪,王蒙蒙,等.滇黄芩黄酮的调脂保肝作用及其对肝组织 HMGCR、CYP7A1 活性影响的研究[J].*中国现代应用药学*, 2022, 39(2): 168-173.

[14] 徐万鹏,梁英琴,韦秀桂,等.老鼠筋生物碱 A 对大鼠非酒精性脂肪肝的改善作用及其机制研究[J].*中国药房*, 2020, 31(16): 1955-1960.

[15] 谭丹枫,陶月英,姜媛,等.胆石六号颗粒对模型小鼠非酒精性脂肪肝的改善作用研究[J].*中国药房*, 2018, 29(22): 3106-3110.

[16] DLUDLA P V, NKAMBULE B B, MAZIBUKO-MBEJE S E, et al. N-acetyl cysteine targets hepatic lipid accumulation to curb oxidative stress and inflammation in NAFLD: a comprehensive analysis of the literature[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(12): 1283.

[17] 王琪,潘国庆,党军.唐古特虎耳草抗肝损伤药效物质基础研究[J].*青海科技*, 2021, 28(2): 34-37.

[18] 周静,张德新.基于氧化应激探讨中药活性成分防治非酒精性脂肪性肝病的研究进展[J].*临床肝胆病杂志*, 2021, 37(12): 2951-2956.

[19] XIAO M L, CHEN G D, ZENG F F, et al. Higher serum carotenoids associated with improvement of non-alcoholic fatty liver disease in adults: a prospective study[J]. *Eur J Nutr*, 2019, 58(2): 721-730.

(收稿日期:2021-12-01 修回日期:2022-05-04)

(编辑:林 静)