



蒋甜甜, 豆斌斌, 邢慧欣, 等. 山青木水煎剂对急性酒精肝损伤保护的研究[J]. 黑龙江农业科学, 2023(3):79-83.

# 山青木水煎剂对急性酒精肝损伤保护的研究

蒋甜甜, 豆斌斌, 邢慧欣, 穆子诚, 方金峰, 张影, 王晓岩

(吉林农业科技学院 中药学院, 吉林 吉林 132101)

**摘要:** 为了促进山青木在预防和治疗酒精肝方面的开发利用。以民间解酒方山青木水煎剂为研究对象, 通过急性毒性试验, 判断其安全性, 观察酒后小鼠的行为指标, 测定血乙醇含量变化, 建立小鼠醉酒模型, 检测丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)以及超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)、丙二醇(MDA)的水平, 初步评价小鼠肝脏受损情况, 并记录身体质量。结果表明, 山青木水煎液剂量为  $30\sim 35\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 各组小鼠均未出现死亡情况, 说明山青木水煎剂在试验剂量下具有安全性。小鼠最佳致醉剂量为  $16\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$  的 56°白酒。山青木不同剂量组与模型对照组相比, 醉酒时间均显著延长, 高、中剂量组苏醒时间均降低。给药 2 h 后, 山青木高、中剂量组能够显著降低血乙醇浓度, 同时降低小鼠血清 ALT、AST 水平, 且使小鼠肝匀浆的 GSH 和 SOD 活性显著提高。说明山青木水煎剂安全性较高, 高、中剂量组解酒护肝效果良好。

**关键词:** 山青木; 酒精性肝病; 解酒护肝

过量饮酒会导致肝脏负担过重, 造成肝脏损伤。据统计, 40% 的肝硬化导致的死亡是因为酒精性肝病(Alcoholic Liver Disease, ALD)。酒精肝损伤是全世界临床比较常见的病理损伤, 初期为酒精性脂肪肝(Alcoholic Fatty Liver, AFL), 会恶化成酒精性肝炎(Alcoholic Hepatitis, AH)、酒精性肝纤维化(Alcohol Hepatic Fibrosis, AHF)和酒精性肝硬化(Alcoholic Cirrhosis, AC)<sup>[1-2]</sup>。研究表明, 乙醇使线粒体脂质过氧化物增加, AST、ALT 水平提高, 线粒体形态异常, 造成了酒精性的肝脏损伤。现今的解酒药大多是维生素类, 兴奋剂类、氨基酸之类的成分, 只具有暂时性的减轻效果, 很难达到护肝的效果<sup>[3-4]</sup>。肝损伤在中医上, 根据临床症状归为“黄疸”“胁痛”的范畴, 研究认为, 酒精性肝损伤病因为长期酗酒, 情志失调, 饮食不节等<sup>[5]</sup>。研究表明, 中药成分在治疗急性酒精肝损伤方面拥有巨大潜力, 以其多靶点、毒副作用小、药物依赖性小等优势, 逐渐引起社会的关注。枸杞芽叶、栀子、肾蕨、五味子、柴胡、葛根等的提取物, 以及柴胡疏肝汤、金匮护肝汤、柴蔻冲剂等复方制剂, 其中已有部分应用于临床治疗酒精性肝损伤<sup>[6-7]</sup>, 具有降酶效果, 显示出良好的护肝作用。

山青木(*Meliosma kirkii* Hemsl. et Wils.), 为清风藤科落叶乔木, 又称青楷槭, 有“护肝山参”之美誉。据报道, 山青木具有改善肝功能, 抗疲劳, 缓解过敏、腹泻, 改善手脚发麻, 保肝, 醒酒提神等功效<sup>[8]</sup>。山青木在延边地区的民间应用广泛, 主要发挥解酒和保肝作用, 未显示副作用。为了明确山青木解酒保肝作用机理, 研究山青木水煎液对急性酒精性肝损伤的保护作用, 通过测定血乙醇含量、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙二醇(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽(GSH)等水平, 为山青木在预防和治疗酒精性肝病方面的开发利用奠定前期研究基础<sup>[9]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

试验动物: 昆明种雄性小鼠[SCXK(辽)2020-0001], 6~8 周龄, 清洁级, 身体质量( $20\pm 2$ )g, 购于辽宁长生生物科技, 饲养于室温, 自由进食。

山青木水煎液的制备: 取干燥的山青木茎 100 g, 粉碎过 20 目筛, 加 10 倍量水浸泡 1 h, 煎煮 2 次, 每次 30 min, 合并滤液, 浓缩至  $1\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 小鼠灌胃剂量分别为 25, 20 和  $15\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

对照药品: 肝爽颗粒(保定天浩制药公司, 批号: Z20027671), 水飞蓟宾葡甲胺片(湖南千金协力药业有限公司, 批号: 20190706)。

试剂: 丙氨酸氨基转移酶(ALT, 南京建成生物工程研究所), 天冬氨酸氨基转移酶(AST, 南京建成生物工程研究所), 丙二醇(MDA, 南京建

收稿日期: 2022-10-06

基金项目: 吉林省高等学校大学生创新创业训练计划项目(2020061)。

第一作者: 蒋甜甜(2000—), 女, 硕士研究生, 从事中药资源研究与开发。E-mail: 2043303183@qq.com。

通信作者: 张影(1974—), 女, 博士, 教授, 从事中药资源研究与开发。E-mail: jlzhangying@163.com。

成生物工程研究所),超氧化物歧化酶(SOD,南京建成生物工程研究所),谷胱甘肽(GSH,南京建成生物工程研究所),白酒(56°,北京顺鑫农业股份有限公司)。

主要仪器:数控超声波提取机(THC型,济宇天华超声电子仪器有限公司),薄膜旋转蒸发仪(OSB-2100型,日本东京理化 EYELA),电子天平(CP214型,先行者),高速离心机(800型电动离心沉凝器),酶标仪(Tecan, InfiniteM200)。

## 1.2 方法

1.2.1 急性毒理试验 小鼠18只,分为6组,每组3只,按身体质量分别灌胃30,31,32,33,34和35 mL·kg<sup>-1</sup>山青木水煎液药液,观察24 h小鼠死亡率。

1.2.2 致醉剂量的确定 小鼠100只,随机分为10组,每组10只,试验前禁食12 h,自由饮水,以56°白酒设定剂量为9,10,11,12,13,14,15,16,17和18 mL·kg<sup>-1</sup>,对小鼠进行灌胃,观察小鼠翻正反应消失率(小鼠灌酒后一定时间将小鼠仰卧,小鼠不能自行翻正,保持仰卧姿势30 s以上,则为翻正反应消失)和24 h死亡率,从而确定小鼠醉酒的最佳致醉剂量。

1.2.3 小鼠醉酒睡眠试验 通过建立小鼠醉酒睡眠试验,用小鼠发生翻正反应时间(醉酒睡眠时间)和醒酒时间比较山青木不同剂量水煎剂的解酒、醒酒效果。小鼠75只,随机分为5组,空白组,酒精组。山青木水煎液高、中、低剂量组,每组15只。适应性饲养3 d后,禁食不禁水12 h,各组小鼠按身体质量灌胃给予相应药液,高、中、低剂量组给药分别为25,20和15 mL·kg<sup>-1</sup>。给药30 min后,各组小鼠56°白酒灌胃,16 mL·kg<sup>-1</sup>,空白对照组给予等体积生理盐水。记录小鼠白酒灌胃后翻正反射消失和恢复的时间,得出各组小鼠醉酒时间和醒酒时间。醉酒时间为从灌胃到翻正反射消失的时间,醒酒时间为从翻正反射消失到恢复的时间<sup>[10]</sup>。

1.2.4 血乙醇含量变化测定 配制6个乙醇标准浓度(0.2%、0.3%、0.4%、0.5%和0.6%),建立乙醇浓度标准曲线。

小鼠112只,随机分为7组,每个试验组16只:空白组:不灌胃药液;

模型对照组:不灌胃药液,白酒灌胃。

中药阳性药物(肝爽颗粒)对照组:灌胃11.6 mg·kg<sup>-1</sup>,10%肝爽颗粒;

西药阳性药物(水飞蓟宾葡甲胺片)对照组:1%水飞蓟宾葡甲胺片按3.9 mg·kg<sup>-1</sup>灌胃给药;

山青木水煎液高剂量组、中剂量组、低剂量组:分别灌胃15,20和25 mL·kg<sup>-1</sup>。

给药0.5 h后白酒灌胃,白酒灌胃后0.5,1.0,2.0和3.0 h,各组分别取4只小鼠眼球取血,以水为参比液,测其在595 nm处的吸光度值,用重铬酸钾法测定血乙醇浓度,测3次取平均值<sup>[11]</sup>。测定小鼠白酒灌胃后4个时间点的乙醇浓度变化情况,研究山青木水煎液对小鼠体内乙醇代谢的影响<sup>[12]</sup>。

1.2.5 生化指标测定 小鼠105只,随机分为7组,空白组、模型对照组、中药阳性对照组(肝爽颗粒)、西药阳性对照组(水飞蓟宾葡甲胺片)、山青木水煎液高、中、低剂量组,每组15只,适应性饲养14 d后,模型对照组不灌胃药液,灌胃等体积生理盐水,其余各组按体质量灌胃给予相应药液,给药30 min后灌胃白酒16 mL·kg<sup>-1</sup>。连续灌胃14 d,记录每日身体质量,第14天灌胃后,禁食不禁水12 h后,眼球取血,用于检测丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST),丙二醇(MDA),超氧化物歧化酶(SOD),谷胱甘肽(GSH)水平<sup>[13]</sup>。

1.2.6 数据分析 所有数据以平均数±标准差(SD)表示,采用SPSS 19.0进行统计分析。为确定差异的显著性,采用单因素方差分析(ANOVA),然后采用Duncan's检验方法,以 $P < 0.05$ 为显著性<sup>[14]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 急性毒理试验结果

药剂剂量为30~35 mL·kg<sup>-1</sup>,各组小鼠均未出现死亡情况,说明山青木水煎剂在试验剂量下具有安全性。

### 2.2 酒精致醉剂量结果

由表1可知,酒精灌胃剂量达到15 mL·kg<sup>-1</sup>时,出现小鼠死亡;灌胃剂量为16 mL·kg<sup>-1</sup>时,小鼠死亡数目不增加,小鼠翻正反应发生数增加;而灌胃剂量为17 mL·kg<sup>-1</sup>及以上,小鼠死亡数目持续增加。为保证醉酒剂量,综合考虑,选定最佳致醉剂量为16 mL·kg<sup>-1</sup>。

表 1 小鼠最佳醉酒剂量测定

给药剂量 (mL·kg <sup>-1</sup> )	翻正反应 次数/只	死亡数 量/只	给药剂量 (mL·kg <sup>-1</sup> )	翻正反应 次数/只	死亡数 量/只
9	0	0	14	1	0
10	0	0	15	5	1
11	0	0	16	6	1
12	1	0	17	6	2
13	2	0	18	10	3

2.3 小鼠醉酒睡眠试验结果

由表 2 可知,山青木不同剂量组与模型对照组相比,出现醉酒时间均显著延长( $P<0.05$ ),不同剂量组间差异不显著,山青木高、中、低剂量组相较于模型对照组醉酒时间分别延长 65.14、51.93和 51.71 min。对于醒酒时间的影响,与模型对照组相比,山青木不同剂量组呈剂量依赖性关系,其中山青木高、中剂量组醒酒时间显著降低( $P<0.05$ ),醒酒时间与灌胃剂量成反比;高、中、低剂量组相较于酒精组的醒酒时间分别缩短 103.14、96.36 和 42.00 min。说明山青木水煎剂解酒效果良好,能够延缓醉酒时间,缩短醒酒时间,且解酒效果随着剂量的增加而增加。低剂量组由于剂量较低,解酒效果不明显,与酒精组相比差异不显著。

2.4 醉酒小鼠血乙醇含量变化

小鼠体内血乙醇含量变化,小鼠血中乙醇浓度在 0.2%~0.6%时线性关系良好,回归方程为

$Y=4.51X+0.601$ ,相关系数为 0.9900。具体数据见表 3。

表 2 山青木对小鼠行为学指标的影响

组别	醉酒时间/min	醒酒时间/min
空白组	0	0
模型对照组	21.00±7.69 b	237.50±36.14 a
低剂量组	72.71±32.89 a	195.50±45.08 ab
中剂量组	72.93±32.77 a	141.14±42.24 b
高剂量组	86.14±11.38 a	133.86±42.54 b

注:不同小写字母表示在  $P<0.05$  水平差异显著。下同。

由表 3 可知,小鼠白酒灌胃后,血乙醇含量呈现先升高再降低的趋势,在 0.5~1.0 h 期间,除西药阳性药物(水飞蓟宾葡甲胺片)对照组血乙醇浓度降低外,其他 5 组均呈现上升趋势。1.0 h 后,中药阳性药物(肝爽颗粒)对照组、西药阳性药物对照组以及山青木不同剂量组血乙醇浓度与酒精组相比,显著降低( $P<0.05$ ),说明山青木水煎剂不同剂量组均能呈现出良好的解酒效果。2.0 h 后,山青木高、中、低剂量组均显示较好的降低血乙醇浓度的作用,与模型对照组相比差异显著。其中高剂量组呈现最佳解酒作用,优于西药阳性药物对照组和中药阳性药物对照组。

表 3 小鼠血乙醇含量变化

组别	剂量	血乙醇变化/(mg·mL <sup>-1</sup> )			
		0.5 h	1.0 h	2.0 h	3.0 h
模型对照组	16.0 mL·kg <sup>-1</sup>	6.76±1.20 a	7.64±0.31 a	6.72±0.65 a	6.16±1.04 a
中药阳性药物对照组	11.6 mg·kg <sup>-1</sup>	4.65±0.90 b	4.72±0.18 b	4.43±1.70 b	0.86±0.14 d
西药阳性药物对照组	3.9 mg·kg <sup>-1</sup>	6.56±0.80 a	4.79±0.12 b	2.29±0.83 cd	0.62±0.15 d
山青木高剂量组	25.0 mL·kg <sup>-1</sup>	4.06±0.12 b	4.53±0.50 b	0.46±0.25 d	0.35±0.02 d
山青木中剂量组	20.0 mL·kg <sup>-1</sup>	4.48±1.90 b	4.86±1.40 b	2.48±0.42 c	1.68±0.15 c
山青木低剂量组	15.0 mL·kg <sup>-1</sup>	5.14±0.21 ab	5.52±0.61 b	4.68±1.70 b	3.05±0.15 b

2.5 生化指标分析及药物对小鼠身体质量的影响

2.5.1 生化指标数据分析 由图 1 可知,与空白组相比,模型对照组 ALT、AST、MDA 均有显著升高( $P<0.05$ ),GSH、SOD 活性显著降低( $P<0.05$ ),说明模型对照组小鼠肝脏显著性损伤,建模成功。中药阳性药物(肝爽颗粒)对照组、西药阳性药物(水飞蓟宾葡甲胺片)对照组以及不同剂量的山青木水煎剂处理后的小鼠血清 ALT、AST 均较模

型对照组有显著降低( $P<0.05$ ),其中山青木高剂量组以及中药阳性药物对照组、西药阳性药物对照组的小鼠血清 ALT、AST 已接近正常水平。山青木水煎剂高、中剂量组小鼠肝匀浆的 GSH 和 SOD 活性较模型对照组显著提高( $P<0.05$ ),基本接近中药阳性药物对照组和西药阳性药物对照组的水平,且山青木高剂量组和西药阳性药物对照组基本接近空白组水平,可见山青木水煎剂

高剂量组具有良好的解酒护肝效果。模型对照组MDA活性与空白组相比提高了69.71%，山青木高、中剂量组与中药阳性药物对照组、西药阳性药物对照组相比差异不显著，接近正常水平。综上

可见，山青木水煎剂表现出良好的护肝作用，其中山青木高、中剂量组护肝效果与中药阳性药物对照组、西药阳性药物对照组水平较为接近。

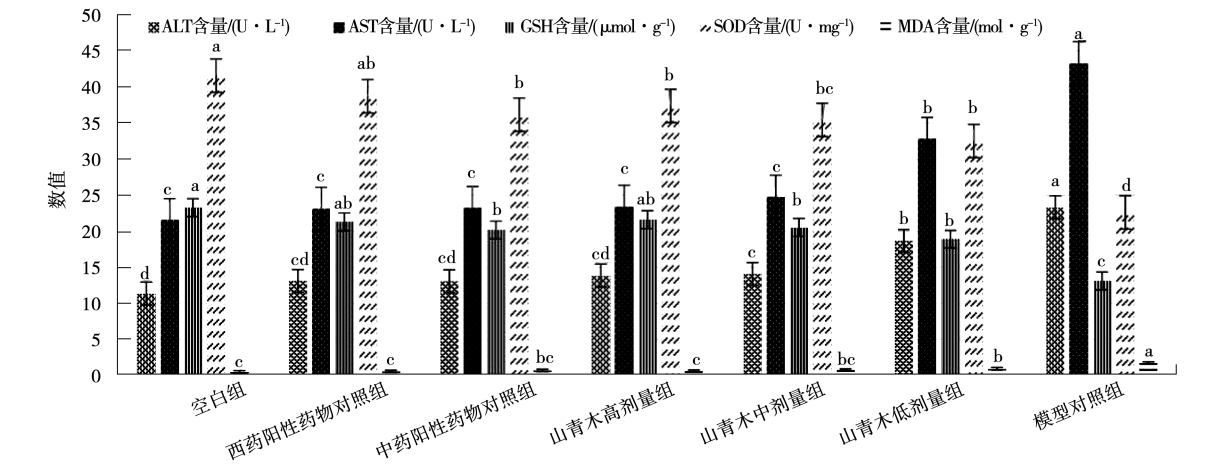


图1 药物对 ALT,AST,GSH,SOD 和 MDA 的影响  
注:不同小写字母表示同一生化指标不同处理间在 P<0.05 水平显著差异。下同。

2.5.2 多日灌胃对小鼠身体质量的影响 由表4可知,各组小鼠的初始身体质量差异不显著。空白组小鼠与其他各组小鼠的最终身体质量间,均存在显著差异(P<0.05),说明白酒灌胃后,对 各组小鼠的身体质量和健康状态都产生了一定的影响。空白组小鼠的身体质量有上升趋势,其他 各组与空向组相比均有所下降。其中,山青木高 剂量组、中药以及西药阳性药物对照组小鼠最后 的身体质量都稍高于其他3组,低剂量组的身体 质量与模型对照组较为接近。

药中还有一类是胃黏膜保护剂,可以延缓酒精的 吸收,反而会令人喝下更多的酒,对身体造成更 大的损伤。中药类解酒药成分多为枳子、葛根、肉 豆蔻等,作用迟缓,机理不明,只能起到轻微缓解 酒后不适的症状,让身体更舒服。保健品类解酒 “药”实际上属于食品,只是在营养食品中添加了一 部分葛花、葛根等中药成分,所能起到的作用更 是有限。

表 4 药物对小鼠身体质量影响		
组别	初始质量/g	最终质量/g
空白组	19.20±3.58	34.10±3.93a
模型对照组	19.60±3.58	21.90±1.68 c
中药阳性药物对照组	19.18±1.19	27.20±1.44 b
西药阳性药物对照组	19.26±2.82	26.26±4.53 bc
山青木高剂量组	18.50±1.59	27.30±0.71 bc
山青木中剂量组	19.18±3.56	23.60±0.43 bc
山青木低剂量组	19.02±3.63	22.50±0.75 bc

山青木水煎液在民间的应用上已经显示出良 好的解酒作用,且暂无过敏反应和胃肠道不良反 应,但其解酒护肝的药理学机制尚不明确,并且医 药用价值尚未被进行开发研究,只在民间使用,没 有严格的科学讨论和证实。经过此次研究,可以 初步证明山青木水煎剂不仅安全性高,具有较好 的解酒护肝作用,能够明显延缓醉酒时间,并有效 缩短醒酒时间。相较于模型对照组,给药后3个 剂量组血乙醇含量显著降低,同时降低了小鼠 AST、ALT 和 MDA 含量,升高 SOD 和 GSH 含 量,发挥较好的肝脏保护作用。说明白酒灌胃后, 对 各组小鼠的身体质量和健康状态都产生了一定的 影响。空白组小鼠的身体质量有上升趋势,其 他各组均较模型对照组有所下降,其中,山青木高 剂量组、中药以及西药阳性药物对照组小鼠最后 的身体质量都稍高于其他3组,表现出较好的促 进健康恢复作用。

3 讨论

酒精性肝损伤具有很大的研究空间,其有效 药物研究中,毒副作用是考虑的重要指标<sup>[15]</sup>。在 临床上,西药类解酒药多是兴奋剂、维生素与氨基 酸的成分,提供的是安慰和缓解头痛的作用。西



基于酒精在人体内的代谢途径与生物酶相关,因此,山青木对急性酒精性肝损伤保护作用中,在后续的相关研究中还应考虑到乙醇脱氢酶和乙醛脱氢酶的作用,以获得更加综合的数据。

4 结论

综上所述,山青木水煎液在高剂量给药下具有安全性,不仅能够延缓醉酒时间,还能缩短醒酒时间,其水煎剂应用于预防和治疗急性酒精肝损伤具有效果显著、毒副作用小等特点,在治疗急性酒精肝损伤的应用上具有良好的前景。

参考文献:

[1] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会消化病学会,等.酒精性肝病基层诊疗指南(2019年)[J].中华全科医师杂志,2020,19(11):990-996.

[2] 王春.血府逐瘀汤在酒精性肝硬化患者辅助治疗中的效果观察[J].哈尔滨医药,2021,41(1):127-128.

[3] 邓艳,甘雨,孙李建.临床治疗酒精性肝损伤分析[J].当代医学,2015,21(13):26-27.

[4] 冯书营,欧丽娜,张改娜,等.一种解酒护肝组合物、解酒护肝饮品及制备方法和应用:CN108126123B[P].2021-04-27.

[5] 董金材,王曦,李凤娇,等.酒精性肝损伤研究及中药治疗进展[J].辽宁中医杂志,2019,46(8):1772-1779.

[6] 栾倩,樊毅,张森,等.枸杞芽叶有效成分对急性酒精性肝损伤保护作用研究[J].天然产物研究与开发,2020,32(11):1803-1810,1817.

[7] 毕聪,郑如文,江志强,等.小柴胡颗粒的药理学研究进展[J].药学研究,2020,39(10):590-592,596.

[8] 姜靖平,刘文华.观赏树种青楷槭的人工培育[J].科技创新与应用,2015(18):291.

[9] LEE C E,JEONG H H,CHO J A,et al. *In vitro* and *in vivo* anti-oxidative and anti-inflammatory activities of *Acer tegmentosum* maxim extracts [J]. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition,2017,46(1):1-9.

[10] 丁运文.解酒护肝饮解酒及对急慢性酒精性肝损伤保护作用的研究[D].上海:上海交通大学,2018.

[11] 吴洁,田亚丽,伍宏宇,等.包葛颗粒剂对小鼠醒酒防醉及急性酒精性肝损伤保护作用的研究[J].新疆医科大学学报,2019,42(7):861-864.

[12] 蔡天娇,王瑞珍,魏君慧,等.白桦脂酸与红枣总三萜酸对小鼠酒精肝损伤的保护作用[J].食品科学,2018,39(11):191-195.

[13] 左保林.人血中乙醇含量的分光光度法检测[J].刑事技术,1995(2):12-13.

[14] 刘泽鑫,刘畅,钱和.白首乌花多糖对小鼠酒精性肝损伤的保护作用[J].食品研究与开发,2020,41(13):72-79.

[15] 王燕.酒精性肝损伤保护作用的研究进展[J].科技展望,2014(20):221.

Protective Effect of *Meliosma kirkii* Hemsl. et Wils. Decoction on Acute Alcoholic Liver Injury

JIANG Tiantian, DOU Binbin, XING Huixin, MU Zicheng, FANG Jinfeng, ZHANG Ying, WANG Xiaoyan

(College of Chinese Medicine,Jilin Agricultural Science and Technology College,Jilin 132101,China)

**Abstract:**In order to promote the development and utilization of *Meliosma kirkii* Hemsl. et Wils. in the prevention and treatment alcoholic liver injury. The research was carried out on the antialcoholic decoction of folk medicine. The acute toxicity test was used to determine its safety, observed the behavior of drunken mice, measured the changes of blood alcohol content, established the model of drunken mice, and detected the levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH) and propylene glycol (MDA) to evaluate liver damage,the body weight was also recorded. The results showed that there was no death occurred in each group with 30-35 mL•kg<sup>-1</sup> dosage of the decoction of *Meliosma kirkii*, and indicating that the water decoction of *Meliosma kirkii* was safe at the experimental dose. The optimal intoxicating dose of 56° Baijiu for mice was 16 mL•kg<sup>-1</sup>. Compared with the model control group, the time of intoxication in different dosage groups of *Meliosma kirkii* was significantly prolonged, and the recovery time of high-dose and medium-dose groups decreased. Two hours after administration, the serum ethanol concentration and serum ALT and AST levels of mice were significantly decreased, while the activities of GSH and SOD in the liver homogenate of mice were significantly increased in in the high-dose and medium-dose groups. These results indicated that the decoction was safety, and the high and medium dose groups had a good effect on relieving alcohol and protecting liver.

**Keywords:***Meliosma kirkii*; alcoholic liver disease; protect liver therapy