

巴西莓对急性酒精中毒小鼠的解酒及保肝作用研究

王林元 陈绍红 屈胜胜 李 伟 黄银峰 张建军

(北京中医药大学, 北京, 100029)

摘要 目的:研究巴西莓解酒防醉及对急性酒精性肝损伤的影响。方法:急性酒精中毒实验:小鼠按 0.15 mL/10 g 灌胃 50% 乙醇,建立急性酒精中毒动物模型,观察小鼠活动状况,醉酒潜伏期,醒酒时间。急性酒精性肝损伤实验:小鼠按 0.12 mL/10 g 灌胃 50% 乙醇,建立小鼠急性酒精性肝损伤模型,观察巴西莓对小鼠肝细胞膜通透性,肝脏脂质过氧化反应等的影响。结果:巴西莓可以延长醉酒潜伏期($P < 0.05$),缩短醉酒动物睡眠时间,且可降低血清 ALT、AST($P < 0.01$),升高肝脏 GSH($P < 0.05$)、SOD 水平,降低肝脏 MDA、TG 含量($P < 0.05$),结论:巴西莓具有解酒防醉作用,且对酒精性肝损伤具有一定的保护作用。

关键词 巴西莓;酒精中毒;肝损伤;抗氧化

The Detoxication and Protective Effect of Acai Against Acute Alcohol Toxication and Acute Alcohol Liver Injury in Mice

Wang Linyuan, Chen Shaohong, Qu Shengsheng, Li Wei, Huang Yinfeng, Zhang Jianjun

(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract Objective: To study the effects of Acai (*Euterpe Oleraceae* Mart.) on acute alcohol toxication and protective effect on acute alcohol liver injury in mice. **Methods:** Acute alcohol toxication animal model was established by alcohol gavaged (50% at 15 mL/kg). The acute liver injury animal model was established by alcohol gavaged (50% at 12 mL/kg). The serum levels of ALT, AST and the content of MDA, TG, the activity of GSH, SOD in liver of the mice were measured. **Results:** Acai can shorten the recovery time of rightening reflex compared with the model groups ($P < 0.05$). The groups of Acai significantly reduced the levels of serum ALT, AST ($P < 0.01$) which were induced by ethanol, and the content of MDA, TG ($P < 0.05$), the activity of GSH in liver were significantly different compared with those of the model groups ($P < 0.05$). **Conclusion:** Acai has effect of relieving alcohol toxicity and a protective effect on acute alcohol liver injury in mice and its mechanism may relate to the capacity of anti-oxidant.

Key Words Acai; Ethanol; Toxication; Liver injury; Anti-oxidant

中图分类号:R285.5;R575 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.10.024

巴西莓(英文名:Acai,阿萨伊)来源于棕榈科植物阿萨伊棕榈树(*Euterpe Oleraceae* Mart.)的新鲜果实。巴西莓原产于南美,秘鲁传统医学用该植物治疗糖尿病、发烧、脱发、出血、肝炎、黄疸、肾脏疾病、肝脏疾病、疟疾、月经不调、经期疼痛和肌肉酸痛等^[1]。研究表明巴西莓主要具有降低氧化应激、抗炎、调节免疫力、降低血脂、降低血糖等作用。目前巴西莓在世界范围内引起广泛关注,具有巨大的开发前景。

巴西莓已于 2013 年作为新资源食品引入我国^[2]。鉴于国外有用巴西莓的相关产品减轻饮酒后的不适症状,本研究拟探讨巴西莓的防醉及保肝作用,为将其开发为解酒保肝产品提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料 巴西莓冻干粉,由蒙维(上海)贸易有限公司提供,用蒸馏水调成糊状置于胶体磨研磨,稀释

成 0.16 g/mL、0.08 g/mL、0.04 g/mL 的溶液;盐酸纳洛酮注射液,北京凯因科技有限公司(批号:20120107);联苯双酯滴丸,北京协和药厂(批号:11090203),用蒸馏水配成浓度为 20 mg/mL 的溶液。

1.2 试剂及仪器 95% 乙醇,分析纯,北京化工厂,批号:20110918,用时用蒸馏水稀释到 50%;GOT 测定试剂盒,购自南京建成生物研究所(批号:20121121);GPT 测定试剂盒,购自南京建成生物研究所(批号:2121119);GSH 测定试剂盒,南京建成生物研究所(批号:20120629);SOD 测定试剂盒,购自南京建成生物研究所(批号:20121119);TG 测定试剂盒,购自北京北化康泰临床试剂有限公司(批号:20121105);JMS 胶体磨,廊坊市冠通机械有限公司;752-C 紫外-可见分光光度计:上海第三分析仪器厂;WD-2102A 型自动酶标仪:北京六一仪器厂;CM1850 冰冻切片机,上海徠

卡仪器有限公司;Nikon Eclipse Ti-SR 倒置荧光显微镜,日本尼康。

1.3 动物 健康雄性昆明种小鼠,体重(20 ± 2)g,由斯贝福(北京)实验动物中心提供,合格证号:SCXK(京)2011-0004。

1.4 方法

1.4.1 巴西莓对急性酒精中毒小鼠翻正反射的影响

雄性小鼠随机均分成模型组,盐酸纳洛酮组,巴西莓冻干粉 0.4 g/kg,0.8 g/kg,1.6 g/kg 3 个剂量组,每组 16 只。实验前 12 h 禁食不禁水,模型组按 0.1 mL/10 g 灌胃给予生理盐水,巴西莓冻干粉组按 0.1 mL/10 g 灌胃给予不同浓度巴西莓冻干粉(0.4 g/kg,0.8 g/kg,1.6 g/kg),30 min 后,模型组与巴西莓冻干粉组小鼠按 0.15 mL/10 g 分别灌胃给予 50% 乙醇,30 min 后阳性药组腹腔注射盐酸纳洛酮 2 mg/kg。观察小鼠活动状况,以翻正反射消失时间为醉酒潜伏期,翻正反射恢复时间为醒酒时间。

1.4.2 巴西莓对急性酒精性肝损伤的保护作用 所用动物随机分成正常对照组、模型组,联苯双酯组,巴西莓冻干粉 0.4 g/kg,0.8 g/kg,1.6 g/kg 组,每组 10 只。正常对照组和乙醇模型对照组均 0.1 mL/10 g 给予蒸馏水,阳性对照组给予联苯双酯 200 mg/kg,巴西莓冻干粉组按 0.1 mL/10 g 灌胃给予不同浓度巴西莓冻干粉(0.4 g/kg,0.8 g/kg,1.6 g/kg),连续 30 d。末次经口灌胃给予受试物 0.5 h 后,阳性药、巴西莓各剂量组和乙醇模型对照组经口 1 次给予 50% 乙醇 0.12 mL/10 g^[3],正常对照组给予蒸馏水。禁食 16 h 后,摘眼球取血,3 500 r/min 离心 10 min 分离血清,按试剂盒方法检测 ALT、AST。取肝脏左叶,OCT 包埋,并运用冰冻组织切片油红 O 染色技术对肝细胞进行染色,观察肝细胞脂肪滴的变化,利用 Image Pro Plus 6.0 软件测定阳性细胞累积光密度(IOD 值),分析肝脏的脂肪病变程度^[4]。取部分肝组织匀浆按试剂盒方法测定 GSH、SOD、MDA、TG 含量^[5]。

1.5 统计处理 采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行处理,结果以($\bar{x} \pm s$)表示,数据采用单因素方差分析(One-WayANOVA)进行统计学分析和 Dunnett 检验,以 $P < 0.05$ 作为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 巴西莓对急性酒精中毒小鼠翻正反射的影响

与模型组相比,巴西莓 0.4 g/kg、0.8 g/kg、1.6 g/kg 醉酒潜伏期延长,巴西莓 0.8 g/kg 具有统计学意义($P < 0.05$),与模型组相比,巴西莓 0.8 g/kg、1.6 g/kg 的醒酒时间有所缩短(见表 1)。

表 1 巴西莓对急性酒精中毒小鼠翻正反射的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg)	例数	醉酒潜伏期(min)	例数	醒酒时间(min)
模型组		15	16.4 ± 13.5	6	298.1 ± 66.6
盐酸纳洛酮组	0.002	13	22.8 ± 19.7	13	232.7 ± 40.6
巴西莓低剂量组	0.4	16	19.2 ± 17.6	9	300.9 ± 59.5
巴西莓中剂量组	0.8	13	36.2 ± 24.0 [△]	6	297.1 ± 33.4
巴西莓高剂量组	1.6	15	23.7 ± 16.7	9	261.1 ± 85.5

注:药物组与模型组比较,[△]为 $P < 0.05$ 。

2.2 巴西莓对急性酒精性肝损伤小鼠血清 ALT、AST 的影响 实验期间小鼠活动正常,精神状态、进食以及排便情况未见异常。模型组的 ALT、AST 均明显高于空白组($P < 0.01$)。与模型组相比,巴西莓 3 个剂量组 ALT 值均显著降低,其中 0.4 g/kg($P < 0.01$)、0.8 g/kg($P < 0.05$)、1.6 g/kg($P < 0.01$);巴西莓 0.4 g/kg、0.8 g/kg、1.6 g/kg AST 值均显著降低($P < 0.01$),见表 2。

表 2 巴西莓对急性酒精性肝损伤小鼠血清 ALT、AST 的影响($\bar{x} \pm s$, $N = 10$)

组别	剂量(g/kg)	ALT(卡门氏单位)	AST(卡门氏单位)
空白组		27.9 ± 1.3	31.5 ± 4.3
模型组		51.7 ± 19.9**	51.1 ± 6.5**
联苯双酯组	0.2	41.1 ± 5.4 [△]	44.5 ± 10.3 [△]
巴西莓低剂量组	0.4	38.2 ± 11.8 ^{△△}	39.6 ± 8.6 ^{△△}
巴西莓中剂量组	0.8	39.9 ± 4.3 [△]	40.0 ± 6.2 ^{△△}
巴西莓剂量组	1.6	38.7 ± 9.6 ^{△△}	39.8 ± 3.6 ^{△△}

注:模型组与空白组比较,**为 $P < 0.01$;药物组与模型组比较,[△]为 $P < 0.05$,^{△△}为 $P < 0.01$ 。

2.3 巴西莓对急性酒精性肝损伤小鼠肝脏匀浆 GSH、SOD、MDA、TG 的影响 模型组的 GSH 明显低于空白组($P < 0.05$),具有统计学意义;与模型组相比巴西莓 0.8 g/kg、1.6 g/kg GSH 明显升高,均具有统计学意义($P < 0.05$)。模型组的 SOD 低于空白组;与模型组相比巴西莓 0.4 g/kg、0.8 g/kg、1.6 g/kg SOD 具有一定的升高趋势,但不明显。模型组的 MDA 及 TG 均明显高于空白组($P < 0.01$);与模型组相比,巴西莓 0.4 g/kg、0.8 g/kg、1.6 g/kg MDA 及 TG 明显降低($P < 0.05$)见表 3。

2.4 巴西莓对急性酒精性肝损伤小鼠肝组织病理改变的影响 油红 O 染色结果显示,模型组大量棕色脂滴浸润到肝细胞中,肝细胞脂肪变性,模型组阳性染色细胞的 IOD 值明显高于空白组,具有统计学意义($P < 0.01$)(见表 4)。巴西莓各剂量具有一定的改善作用,巴西莓 0.4 g/kg、0.8 g/kg、1.6 g/kg 与模型组相比具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$)(见图 1)。

表 3 巴西莓对急性酒精性肝损伤小鼠肝脏 GSH、SOD、MDA、TG 的影响($\bar{x} \pm s$, N = 10)

组别	剂量(g/kg)	GSH(mgGSH/gprot)	SOD(U/mgprot)	MDA(nmol/mgprot)	TG(nmol/L)
空白组		3.79 ± 0.85	462.0 ± 95.2	1.24 ± 0.36	0.54 ± 0.24
模型组		2.49 ± 0.58 *	402.8 ± 58.6	4.75 ± 2.03 * *	1.22 ± 0.42 * *
联苯双酯组	0.2	2.64 ± 1.01	469.3 ± 129.6	3.16 ± 1.09 [△]	0.76 ± 0.29 [△]
巴西莓低剂量组	0.4	2.89 ± 1.32	459.3 ± 140.8	3.50 ± 1.108 [△]	0.86 ± 0.28 [△]
巴西莓中剂量组	0.8	3.46 ± 1.07 [△]	421.6 ± 123.7	3.61 ± 1.04 [△]	0.87 ± 0.23 [△]
巴西莓高剂量组	1.6	3.42 ± 0.70 [△]	436.1 ± 91.0	3.06 ± 1.35 [△]	0.85 ± 0.18 [△]

注:模型组与空白组比较,*为 $P<0.05$,**为 $P<0.01$;药物组与模型组比较,[△]为 $P<0.05$ 。

表 4 巴西莓对急性酒精性肝损伤小鼠病理改变的影响
($\bar{x} \pm s$, N = 6)

组别	剂量(g/kg)	IOD 值
空白组		44660.1 ± 4890.1
模型组		71000.3 ± 10092.6 * *
联苯双酯组	0.2	47525.6 ± 3003.3 ^{△△}
巴西莓低剂量组	0.4	63267.5 ± 12470.7 *
巴西莓中剂量组	0.8	61206.0 ± 9089.0 ^{△△}
巴西莓高剂量组	1.6	53071.9 ± 14717.6 ^{△△}

注:模型组与空白组比较,*为 $P<0.01$;药物组与模型组比较,*为 $P<0.05$,^{△△}为 $P<0.01$ 。

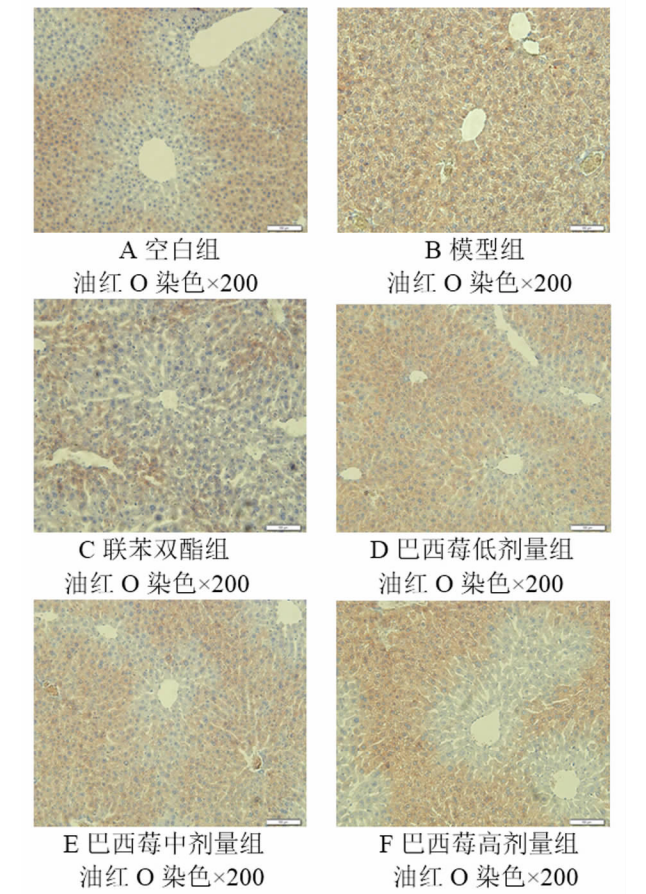


图 1 巴西莓对急性酒精性肝损伤小鼠病理改变的影响

3 讨论

回归自然的热潮使得各国竞相挖掘本民族的天然

植物用于医疗保健。数百年来南美土著使用植物治疗疾病成为一种传统,而这些传统草药也越来越多的进入国际市场,是传统药理学将科研转化成生产力的成功范例^[6]。近年来我国相继引入了一些南美药食两用品种如巴西莓(阿萨伊果)、玛咖等。它们做为新资源食品合法进入我国,经过了严格的检验和审批,其安全性有充分的保证,如在我国成功引种,对繁荣我国经济具有重要意义。

随着人民生活水平的提高,酒精的消费逐年增加,酒精中毒造成的神经及消化系统损害也与日俱增^[7],如何能利用世界各种植物资源开发解酒保肝的药物及保健品受到医药及食品行业的广泛关注。进入人体的乙醇对人体的损害是多方面的,一方面,大量饮酒后酒精的吸收大于代谢,过量的乙醇就会通过循环作用于中枢神经系统而导致生理及行为异常,另一方面,乙醇在肝脏氧化代谢时产生大量的自由基,可引起肝脏脂质过氧化反应,使肝细胞膜及细胞器结构遭到破坏从而引起肝细胞代谢和功能的障碍,导致转氨酶升高。乙醇在代谢过程中产生大量的乙醛,可以直接与肝脏内的抗氧化物质如还原型谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)结合降低其活性,造成内源性抗氧化剂耗竭,产生大量的丙二醛(MDA)等氧化物,肝脏进一步损伤,其脂肪代谢随之发生紊乱,三酰甘油(TG)升高^[8]。

巴西莓富含花青素,原花青素,黄酮,植物甾醇等成分^[9],其活性主要为抗氧化,抗炎,降脂作用等^[10-12]。本研究显示小鼠服用酒精前给予巴西莓可以延长急性酒精中毒小鼠醉酒潜伏期,并缩短其昏睡时间,具有一定的解酒作用。巴西莓可以显著降低急性酒精性肝损伤小鼠血清 ALT、AST,改善肝功能。同时,可以升高 SOD、GSH 活性,且能降低 MDA、TG 含量,说明巴西莓可以增强机体清除自由基能力,使肝脏受自由基攻击程度降低,脂代谢趋于正常。病理结果也显示巴西莓对急性酒精性肝损伤造成的肝脏脂代谢

紊乱具有一定的改善作用。

我国传统中药很多具有保肝作用,如五味子,始载于《神农本草经》,有收敛固涩,益气生津,补肾宁心之功效^[13],是常用中药之一。本研究保肝实验所用阳性对照药联苯双酯是合成五味子中木质素类成分五味子丙素的中间体,是我国研究五味子时创制的一种治疗肝炎的降酶药物^[14]。

巴西莓是南美洲地区常用草药^[1],其引入极大丰富了我国药食同源原料资源。加强对这些品种的活性成分,药理作用等方面的基础研究,可以促进传统植物资源的有效利用,同时也促进国外天然资源与我国特有中药资源相融合,进行更加合理的应用。研究表明巴西莓具有一定的解酒及保肝作用,其机制有待深入研究。

参考文献

- [1] 许利嘉,肖伟,马培,等. 具开发前景的南美洲常用草药简介[J]. 现代药物与临床,2011,26(2):84-90.
- [2] 申海鹏. 卫生部关于批准茶树花等 7 种新资源食品的公告[J]. 食品安全导刊,2013(1):19-19.
- [3] 曾涛,王倩,于丽华,等. 大蒜油对急性乙醇处理小鼠某些生化指标的影响[J]. 毒理学杂志,2008,22(1):48-49.
- [4] 王聪,许玉芳,孙华毅,等. 二氧化硫对高脂饲养大鼠肝组织胆固醇水平的影响[J]. 中华老年心脑血管病杂志,2010,12(6):548-551.
- [5] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[S]. 保健

食品检验与评价技术规范,2003:135-139.

- [6] 肖培根,刘勇,肖伟. 玛卡-全球瞩目的保健食品[J]. 中国食品卫生杂志,2006(4):396.
- [7] 芦志雁,李丽. 解醒四逆散治疗酒精性肝病的疗效观察[J]. 中国药物与临床,2008,8(2):155-156.
- [8] Dey A, Cederbaum A I. Alcohol and oxidative liver injury[J]. Hepato, 2006,43(S1):S63-S74.
- [9] Schauss A G, Wu X, Prior R L, et al. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Acai)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006,54(22):8598-8603.
- [10] Kang J, Xie C, Li Z, et al. Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities[J]. Food Chem, 2011,128(1):152-157.
- [11] Kang J, Li Z, Wu T, et al. Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) [J]. Food Chem, 2010,122(3):610-617.
- [12] Feio C A, Izar M C, Ihara S S, et al. *Euterpe oleracea* (acai) modifies sterol metabolism and attenuates experimentally-induced atherosclerosis[J]. J athero thro, 2011,19(3):237-245.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:61.
- [14] 刘耕陶. 从五味子的研究到联苯双酯的发现[J]. 药学报,1983,18(9):714-720.

(2014-06-25 收稿 责任编辑:张文婷)

(上接第 1333 页)

- [9] 温跃才. 加味黄连解毒汤治疗脑梗塞 100 例[J]. 吉林中医药,1998,18(1):27.
- [10] 史一峰,陈维泽. 黄连解毒汤治疗中风后遗症 34 例[J]. 中国疗养医学,1996,5(3):50-52.
- [11] 唐晓玲,唐敏. 黄连解毒汤临床研究进展[J]. 实用中西医结合临床,2010,10(5):90-92.
- [12] Margaritescu O, Pirici D, Margaritescu C. VEGF expression in human brain tissue after acute ischemic stroke[J]. Rom J Morphol Embryol, 2011,52(4):1283-1292.
- [13] Dzielko M, Derugin N, Wendland M F, et al. Delayed VEGF Treatment Enhances Angiogenesis and Recovery After Neonatal Focal Rodent Stroke[J]. Transl Stroke Res, 2013,4(2):189-200.
- [14] Sun Y, Jin K, Xie L, et al. VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after focal cerebral ischemia[J]. Journal of Clinical

Investigation, 2003,111(12):1843-1851.

- [15] Namiecinska M, Marciniak K, Nowak J Z. VEGF as an angiogenic, neurotrophic, and neuroprotective factor[J]. Postepy Hig Med Dosw, 2005,59:573-583.
- [16] Ye Y, Huang C, Jiang L, et al. Huanglian-Jie-Du-Tang extract protects against chronic brain injury after focal cerebral ischemia via hypoxia-inducible factor-1alpha-regulated vascular endothelial growth factor signaling in mice[J]. Biol Pharm Bull, 2012,35(3):355-361.
- [17] 王志潭, 窦锦明, 王修彬, 等. 黄连解毒汤药效部位对大鼠脑缺血/再灌注损伤的保护作用研究[J]. 山东中医杂志, 2012,31(5):354-356.
- [18] 吴彦, 孙建宁, 张爱林, 等. 黄连解毒汤有效部位对实验性脑缺血的保护作用[J]. 中药材, 2004,27(5):357-360.

(2014-04-03 收稿 责任编辑:曹柏)