

· 专题 ·

沉香醇提物对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[△]

王灿红¹, 王帅², 彭德乾³, 刘洋洋¹, 郭鹏^{1,2*}, 魏建和^{1,2*}

(1. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所海南分所(海南省南药资源保护与开发重点实验室, 国家中医药管理局沉香可持续利用重点研究室), 海南 海口 570311;

2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所(中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室, 濒危药材繁育国家工程实验室), 北京 100193;

3. 海南医学院 药学院, 海南 海口 571199)

[摘要] **目的:** 探讨沉香醇提物对四氯化碳(CCl₄)致小鼠急性肝损伤的保护作用。**方法:** 采用CCl₄腹腔注射制备小鼠急性肝损伤模型, 给药处理后计算肝脏指数; 检测血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)活性; 肝组织匀浆液中髓过氧化物酶(MPO)、一氧化氮(NO)、总抗氧化能力(T-AOC)和超氧化物歧化酶(SOD); 肝脏进行病理切片观察; 酶联免疫法(ELISA)检测血清中白介素-1β(IL-1β)、白介素-10(IL-10)的表达水平。**结果:** 与模型组相比, 通体沉香醇提物能剂量依赖性显著降低血清ALT、AST活性, 降低MPO活性、NO含量, 提高T-AOC能力及SOD活性; 缓解肝脏组织病理损伤; 减低IL-1β和升高IL-10的表达水平, 且通体沉香醇提物高剂量效果最好, 优于等剂量的野生沉香和火烙沉香醇提物。**结论:** 沉香醇提物对肝损伤有保护作用, 其机制可能与抗氧化应激, 抑制脂质过氧化及抗炎作用有关。

[关键词] 沉香醇提物; 四氯化碳; 急性肝损伤; 抗氧化损伤; 抗炎

Protective Effects of Alcohol Extract of Agarwood on Acute Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Mice

WANG Canhong¹, WANG Shuai², PENG Deqian³, LIU Yangyang¹, GUO Peng^{1,2*}, WEI Jianhe^{1,2*}

(1. Hainan Provincial Key Laboratory of Resources Conservation and Development of Southern Medicine & Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine for Agarwood Sustainable Utilization, Hainan Branch Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Haikou 570311, China;

2. Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education & National Engineering Laboratory for Breeding of Endangered Medicinal Materials, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;

3. School of Pharmacy, Hainan Medical College, Haikou, Hainan 571199)

[Abstract] **Objective:** This study is aimed to investigate the hepatoprotective effect of alcohol extract of agarwood on acute liver injury induced by carbon tetrachloride (CCl₄) in mice. **Methods:** Mice were injected with CCl₄ to establish acute liver injury model. Alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were measured of serum. The myeloperoxidase (MPO), nitric oxide (NO), total peroxide (T-AOC) and superoxide dismutase (SOD) of the liver tissue homogenate were measured, and observed degree of liver injury by pathological sections. The interleukin-1β (IL-1β) and Interleukin-10 (IL-10) expression levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results:** Compared with the model group, the alcohol extract of Agar-Wit agarwood groups significantly decreased the activities of serum ALT, AST,

[△] [基金项目] 海南省重大科技计划项目(ZDKJ2016004); 海南省自然科学基金(817290); 国家自然科学基金资助项目(81673545); 中组部“万人计划”(99950534)

* [通信作者] 郭鹏, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向: 心血管药理学研究, Tel: 010-57833235, E-mail: pguo@implad.ac.cn; 魏建和, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 药用植物基因资源、分子育种及次生代谢产物调控研究, Tel: 010-57833016, E-mail: wjianh@263.net

MPO and NO contents as well as the expression level of IL-1 β , enhanced the capacity of T-AOC, the activity of SOD and IL-10 level, and improved pathological injury of liver tissue, especially the alcohol extract of Agar-Wit agarwood 2.84 g/kg group. **Conclusion:** Alcohol extracts of agarwood show a significantly protective effect on acute liver injury in mice, and its mechanism may be related to anti-oxidative stress, inhibition of lipid peroxidation and anti-inflammatory effect.

[**Keywords**] Alcohol extracts of agarwood; Carbon tetrachloride; Acute liver injury; Anti-oxidant; Anti-inflammatory

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.8.008

国产沉香为瑞香科(Thymelaeaceae)植物白木香 *Aquilaria sinensis*(Lour.) Gilg. 含树脂的木材,主产于海南、广东、广西、云南等地。沉香味辛、苦,性微温,有行气止痛、温中止呕、纳气平喘的功效^[1]。沉香作药用已有千余年历史,有“药中黄金”之称。现代药理研究表明,沉香具有镇痛^[2-3]、抗炎^[4-5]、抗氧化^[6-7]、镇静安神^[8]等较广泛的药理活性,但受天然沉香药材匮乏的影响,现代药理研究还较粗浅;自2011年课题组发明的高效、稳定的白木香“通体结香”技术在国内外较广泛的应用,优质沉香已开始大规模产业化供应市场和临床^[9],也促进了沉香功效研究的深入。有研究显示,沉香叶醇提取物有肝脏保护作用^[10],但关于沉香本身防治肝损伤的研究尚未见报道。因此,本实验采用四氯化碳(CCl₄)致小鼠急性肝损伤模型,观察沉香醇提取物的保肝作用及可能机制,为沉香进一步研究开发及临床应用提供理论依据。

1 材料与仪器

1.1 药物

通体结香技术(专利号:ZL201010104119.5)产沉香(简称通体沉香)原料来自广东化州,野生沉香和火烙法产沉香(简称火烙沉香)购自广东省茂名市化州,由中国医学科学院药用植物研究所魏建和研究员鉴定均为白木香 *Aquilaria sinensis*(Lour.) Gilg. 产沉香。称取通体沉香1 000 g粉碎后,置于圆底烧瓶容器中,按通体沉香重量:95%乙醇体积=1:5的比例,向所述圆底烧瓶中加入5 L 95%乙醇,浸泡2 h后,将电热套缓缓加热至溶液沸腾,并保持微沸1 h,停止加热,自然冷却至室温后过滤,过滤后的药渣按照以上操作重复3次,最后合并滤液,减压浓缩得浸膏,继续蒸干4 h,至无醇味得到黑褐色固体即通体沉香醇提取物140 g,浸出率为14%,因其易吸潮,故置-20℃密封保存备用;野生沉香和火烙沉香醇提取物制备方法同上,所得醇提取物浸出率分别为10.5%和14%。

1.2 动物

雄性ICR小鼠70只,体重18~22 g,购自北京维通利华实验动物有限公司,许可证号:SCKX(京)2014-0001。饲养于中国医学科学院药用植物研究所SPF级动物房,温度20~24℃,湿度52%~58%,白昼光照周期12 h/12 h,自由饮水和摄食,适应性喂养3 d后进行实验。

1.3 试剂

AST、ALT检测试剂盒购于中生北控生物科技股份有限公司;四氯化碳(CCl₄)购自上海国药集团化学试剂有限公司。考马斯亮蓝蛋白定量试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化能力(T-AOC)、髓过氧化物酶(MPO)、一氧化氮(NO)购于南京建成生物科技公司,ELISA试剂盒IL-1 β 、IL-10购自Bossbio公司。

1.4 仪器

离心机(德国Heraeus公司,型号:Labofuge 400R);全自动生化仪(美国Beckman Coulter公司,型号:AU480);酶标仪(美国Bio-Tek公司,型号:MQX 200);荧光倒置显微镜(日本Olympus,型号:CKX 41)。

2 方法

2.1 模型的建立与分组给药

70只小鼠随机分别为正常组、模型组、野生沉香醇提取物组(相当于生药2.84 g/kg)、火烙沉香醇提取物组(相当于生药2.84 g/kg)、通体沉香醇提取物低、中、高剂量组(相当于生药0.71, 1.42, 2.84 g/kg)。正常组和模型组给予等体积的蒸馏水灌胃,受试药物组灌胃给予相应药物,20 mL/kg,连续给药7 d。末次给药1 h后,除正常组外,每只小鼠腹腔注射0.1% CCl₄花生油溶液,10 mL/kg,复制急性肝损伤模型。禁食不禁水,24 h后称体重,摘眼球取血,3000 rpm离心15 min,取血清,冻存于-20℃。脱臼处死动物,摘取肝脏称重,小心用剪刀剪取一块,

置于4%多聚甲醛溶液中固定,做病理组织切片观察;剩余肝脏置于-80℃保存,用于其他指标检测。

2.2 肝脏指数

动物称重,摘眼球取血,颈椎脱臼处死小鼠,剥离肝脏用电子天平精密称重,计算肝脏指数。肝脏指数(mg/g) = $\frac{\text{肝脏重量(mg)}}{\text{动物体重(g)}}$

2.3 肝脏病理切片观察

取肝脏组织,置4%多聚甲醛溶液中固定,按照常规脱水,石蜡包埋,切片5 μm厚度,进行苏木精-伊红染色,在高倍显微镜(×400)下观察肝细胞脂肪变性、炎症浸润、肝细胞脱落、坏死等。

2.4 肝组织匀浆上清中 MPO、NO、T-AOC 和 SOD 的检测

称取-80℃保存的肝组织约100 mg,按1:9加入生理盐水,冰浴、充分匀浆,制备10%的组织匀浆液,4℃,3000 rpm离心15 min,吸取上清,冻

存于-80℃;通过BCA蛋白定量试剂盒检测组织上清的蛋白浓度,按照脂质过氧化及抗氧化试剂盒操作说明检测MPO、NO、T-AOC和SOD含量。

2.5 采用 ELISA 方法检测血清中 IL-1β 和 IL-10

摘眼球采血后,3000 rpm离心15 min,吸取上清,冻存于-20℃。参照试剂盒说明书操作检测IL-1β和IL-10含量。

2.6 统计学处理

采用统计分析软件SPSS17.0处理,实验数据用($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,组间进行多重比较,以 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠肝脏重量和肝脏指数的影响

与正常组相比,模型组小鼠的肝脏重量和肝脏指数均显著升高($P < 0.01$),说明CCl₄导致肝脏发生明显肿胀。与模型组相比,野生沉香醇提取物和通体沉香醇提取物均能不同程度显著降低肝脏重量和肝脏指数($P < 0.05$),见表1。

表1 对小鼠肝脏重量和肝脏指数的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	动物体重(g)	肝脏重量(g)	肝脏指数(mg/g)
正常对照		27.38 ± 1.91	1.10 ± 0.09	40.38 ± 3.07
模型对照		27.38 ± 2.19	1.32 ± 0.08**	48.41 ± 3.13**
野生沉香醇提取物	2.84	27.28 ± 2.18	1.25 ± 0.09 [#]	46.05 ± 2.52 [#]
火烙沉香醇提取物	2.84	27.38 ± 2.19	1.32 ± 0.10	48.18 ± 2.57
通体沉香醇提取物	0.71	26.59 ± 1.30	1.28 ± 0.09	48.08 ± 3.20
	1.42	27.92 ± 1.94	1.26 ± 0.12	45.20 ± 3.37 [#]
	2.84	27.19 ± 2.95	1.24 ± 0.12 [#]	45.70 ± 1.78 [#]

注:与正常组相比,** $P < 0.01$;与模型组相比,[#] $P < 0.05$

3.2 对血清中 ALT 和 AST 的影响

与正常组相比,模型组小鼠血清中ALT和AST水平均显著升高($P < 0.001$),表明肝脏出现显著损伤,模型制备成功。与模型组相比,野生沉香醇提取物、火烙沉香醇提取物和通体沉香醇提取物均能不同程度降低ALT和AST水平($P < 0.05$, $P < 0.01$),且通体沉香醇提取物2.84 g/kg效果最显著,见表2。

3.3 对肝组织病理切片形态学的影响

肝组织切片结果显示,正常组肝小叶结构清晰,细胞排列整齐,大小均匀无坏死、变性等病理变化,未见炎症细胞浸润(见图1A)。模型组肝小叶结构严重破坏,细胞排列紊乱,大面积肝细胞坏死或细胞

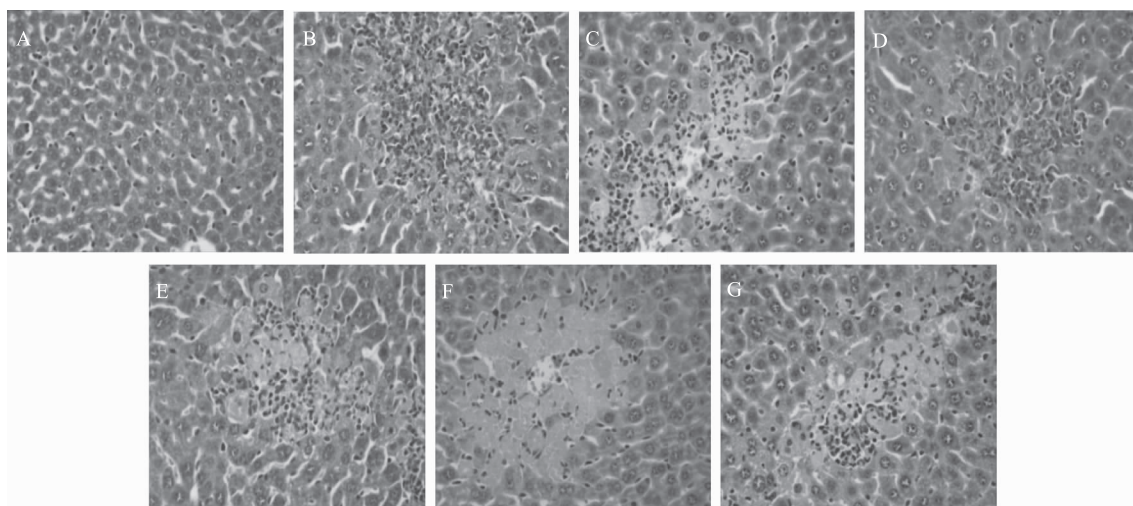
核溶解,可见大量炎症细胞浸润和坏死灶(见图1B)。

表2 对血清中 ALT 和 AST 的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	ALT(IU/L)	AST(IU/L)
正常对照		29.26 ± 15.53	117.53 ± 22.42
模型对照		692.84 ± 184.62***	837.44 ± 123.99***
野生沉香醇提取物	2.84	453.40 ± 234.85 [#]	497.03 ± 258.05 [#]
火烙沉香醇提取物	2.84	557.89 ± 177.28	681.79 ± 184.42 [#]
通体沉香醇提取物	0.71	627.53 ± 162.07	650.50 ± 235.64 [#]
	1.42	547.66 ± 137.23 [#]	601.28 ± 284.05 [#]
	2.84	428.21 ± 185.80 ^{##}	484.34 ± 194.12 ^{##}

注:与正常组相比,*** $P < 0.001$;与模型组相比,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

而野生沉香、火烙沉香和通体沉香醇提取物组均不同程度改善肝细胞损伤,其中通体沉香醇提取物 2.84 g/kg 组效果最好,肝细胞坏死、炎症细胞浸润等均较显著减轻(见图 1G);野生沉香醇提取物作用次之(见图 1C);通体沉香醇提取物 1.42 g/kg 组与火烙沉香醇提取物组效果相当(见图 1F 和图 1D);而通体沉香醇提取物 0.71 g/kg 组改善肝损伤程度较轻,肝细胞仍见轻度肿胀,炎症细胞浸润,但灶性坏死显著减少(见图 1E)。



注: A: 正常对照; B: 模型对照; C: 野生沉香醇提取物 2.84 g/kg; D: 火烙沉香醇提取物 2.84 g/kg; E: 通体沉香醇提取物 0.71 g/kg; F: 通体沉香醇提取物 1.42 g/kg; G: 通体沉香醇提取物 2.84 g/kg

图 1 对肝损伤小鼠肝组织病理形态学的影响(HE, $\times 400$)

表 3 对肝脏组织匀浆上清中 MPO、NO、T-AOC 和 SOD 的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	MPO(U/g)	NO($\mu\text{mol/g}$)	T-AOC(U/mg)	SOD(U/mg)
正常对照		1.08 $\pm$ 0.43	2.36 $\pm$ 0.26	0.64 $\pm$ 0.19	237.32 $\pm$ 52.75
模型对照		4.40 $\pm$ 0.32 ^{**}	4.48 $\pm$ 0.97 ^{**}	0.47 $\pm$ 0.08 [*]	193.99 $\pm$ 27.39 [*]
野生沉香醇提取物	2.84	3.10 $\pm$ 0.28 ^{##}	1.97 $\pm$ 0.51 ^{##}	0.56 $\pm$ 0.07 [#]	277.35 $\pm$ 53.28 ^{##}
火烙沉香醇提取物	2.84	4.02 $\pm$ 0.50	1.84 $\pm$ 0.66 ^{##}	0.84 $\pm$ 0.17 ^{##}	283.85 $\pm$ 73.64 ^{##}
通体沉香醇提取物	0.71	3.22 $\pm$ 0.44 ^{##}	1.60 $\pm$ 0.26 ^{##}	0.51 $\pm$ 0.19	263.29 $\pm$ 67.43 [#]
	1.42	2.71 $\pm$ 0.67 ^{##}	1.53 $\pm$ 0.39 ^{##}	0.60 $\pm$ 0.09 [#]	263.43 $\pm$ 61.92 [#]
	2.84	0.83 $\pm$ 0.22 ^{##}	1.42 $\pm$ 0.66 ^{##}	0.66 $\pm$ 0.16 [#]	287.69 $\pm$ 79.52 [#]

注:与正常组相比,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与模型组相比,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

3.5 对血清中 IL-1 β 和 IL-10 的影响

相比正常组,模型组炎性细胞因子 IL-1 β 水平显著升高($P < 0.01$),而抗炎细胞因子 IL-10 则显著降低($P < 0.01$)。与模型组相比,各沉香醇提取物组均不同程度降低炎性细胞因子 IL-1 β 和升高抗炎细胞因子 IL-10 水平($P < 0.01$),且通体沉香醇提取物呈现剂量依赖性,见表 4。

3.4 对肝脏组织匀浆中 MPO、NO、T-AOC 和 SOD 的影响

相比正常组,模型组髓过氧化物酶 MPO 活性和 NO 的含量显著升高($P < 0.01$),而总抗氧化能力 T-AOC 和 SOD 活性则显著降低($P < 0.05$)。而给予各沉香醇提取物后均不同程度的降低 MPO 活性和 NO 含量($P < 0.01$),升高 T-AOC 能力和 SOD 活性($P < 0.05$, $P < 0.01$),且通体沉香醇提取物呈现剂量依赖性地降低或升高,见表 3。

表 4 对血清中 IL-1 β 和 IL-10 的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	IL-1 β (pg/mL)	IL-10(pg/mL)
正常对照		9.14 $\pm$ 4.13	427.26 $\pm$ 43.48
模型对照		24.86 $\pm$ 4.26 ^{**}	313.58 $\pm$ 33.77 ^{**}
野生沉香醇提取物	2.84	9.82 $\pm$ 2.59 ^{##}	466.44 $\pm$ 46.11 ^{##}
火烙沉香醇提取物	2.84	11.16 $\pm$ 5.31 ^{##}	401.13 $\pm$ 24.41 ^{##}
通体沉香醇提取物	0.71	12.20 $\pm$ 5.20 ^{##}	401.50 $\pm$ 29.22 ^{##}
	1.42	11.06 $\pm$ 2.20 ^{##}	404.39 $\pm$ 34.74 ^{##}
	2.84	10.78 $\pm$ 2.88 ^{##}	429.66 $\pm$ 37.20 ^{##}

注:与正常组相比,^{**} $P < 0.01$;与模型组相比,^{##} $P < 0.01$

4 讨论

肝脏是人体最大的实质器官,也是解毒代谢的重要场所。当各种化学物质、药物、毒物及机体代谢产物等超过肝脏负荷则对其造成损伤。 CCl_4 是经典的诱导肝损伤的化学物质,其诱导肝损伤的机制为, CCl_4 产生的大量有毒氯自由基代谢产物,损伤肝细胞DNA和生物膜,引起脂质过氧化降解;细胞内各种酶、毒素等释放到血液,诱导炎症反应发生,促进肝星形细胞(HSC)增殖、分化,导致肝纤维化;严重则激活细胞内凋亡相关蛋白,最终诱发肝细胞凋亡、坏死^[11]。

CCl_4 在肝细胞内经肝细胞色素P450代谢酶激活,生成大量氯自由基攻击肝细胞膜引发脂质过氧化,引起肝细胞膜通透性增高,使正常情况下主要分布于肝细胞浆和线粒体的ALT、AST大量释放入血,使血清中酶的活性显著增高,检测血清中ALT、AST升高情况能反应肝细胞坏死的程度^[12];病理损伤可见肝脏肿胀、炎症细胞浸润、肝细胞空泡变性和灶性坏死等^[13]。本实验结果显示,通体沉香醇提取物呈剂量依赖性地降低肝损伤小鼠血清中AST、ALT的水平,减轻肝脏重量和肝脏指数,并能显著减轻肝组织的病理损伤程度,提示通体沉香醇提取物能够有效改善急性肝损伤小鼠的肝功能,对肝脏损伤起保护作用。

目前公认的 CCl_4 肝损伤的作用机制主要是脂质过氧化反应。 CCl_4 作用机体后,可产生大量过氧化自由基,在MPO等的催化反应下形成大量脂质过氧化物MPO、NO、MDA、ROS等,它们可严重破坏细胞膜结构,导致细胞肿胀、坏死^[14-15]。正常情况下,机体的抗氧化防御系统可清除自由基,修复损伤及诱导总抗氧化能力T-AOC、抗氧化酶SOD、GSH-Px等的分泌。当化学药物诱导肝损伤后,会导致抗氧化能力降低,同时促进过氧化物的产生^[16]。当体内毒素激活巨噬细胞、多形核白细胞等,能诱发诱导型NOS合成大量NO,对邻近组织产生毒性,也参与炎症反应;同时NO也是参与氧化应激损伤的主要自由基之一,其含量增加可抑制多种与线粒体有关的酶,导致自由基产生增多,加重氧化应激反应^[17]。本实验结果显示,通体沉香醇提取物呈剂量依赖性显著降低肝损伤小鼠肝组织匀浆MPO活性和NO含量,升高总抗氧化能力T-AOC和抗氧化酶SOD活性,这提示通体沉香醇提取物可能是通过减少自由基的生成,抑制脂质过氧化损伤,进而达到保

护肝细胞的作用。

有研究报道, CCl_4 可诱导肝组织枯否细胞(Kuffer cells)分泌炎症细胞因子,如IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等引起炎症反应发生,导致肝损伤^[18]。白介素是重要的炎症介质和免疫调节因子家族,可诱导核转录因子NF- κ B的激活、表达,启动炎症介质、粘附分子等的转录引发炎症,同时又促使IL-1 β 、IL-6及TNF- α 等的大量生成,导致炎症反应的加重^[19]。白介素10(IL-10)是一种多细胞源、多功能的细胞因子,可调节细胞的生长、分化,参与机体炎症调节和免疫反应,是目前公认的抗炎与免疫抑制因子^[20]。本实验结果显示,通体沉香醇提取物呈剂量依赖性地降低肝损伤小鼠血清中炎症细胞因子IL-1 β 的分泌,升高抗炎细胞因子IL-10的水平。这提示通体沉香醇提取物保肝的机制可能是通过抑制炎症细胞因子的分泌,阻断炎症反应的发生来实现。

综上所述,通体沉香醇提取物呈剂量依赖性地降低 CCl_4 所致肝损伤模型小鼠血清中转氨酶ALT和AST的活性,降低髓过氧化物酶MPO和NO含量,升高抗氧化能力T-AOC和抗氧化酶SOD的活性,降低炎症细胞因子IL-1 β 水平,升高抗炎细胞因子IL-10的表达,改善肝组织的病理损伤程度,发挥肝脏保护作用,且通体沉香醇提取物高剂量效果最好,优于等剂量的野生沉香和火焰沉香醇提取物,可能的保肝机制是抗氧化应激及抗炎作用,还可能涉及线粒体损伤和细胞凋亡等信号通路,但具体作用机制有待进一步研究证实。

参考文献

- [1] 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,2015,172-173.
- [2] 李红念,梅全喜,林煥泽,等. 沉香叶与沉香药材镇痛作用的对比研究[J]. 时珍国医国药,2012,23(8):1958-1959.
- [3] Zhou M H, Wang H G, Suolangjiba, et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg. leaves extract [J]. J Ethnopharmacol, 2008, 117(2):345-350.
- [4] Zhu Z, Gu Y, Zhao Y, et al. GYF-17, a chloride substituted 2-(2-phenethyl)-chromone, suppresses LPS-induced inflammatory mediator production in RAW264.7 cells by inhibiting STAT1/3 and ERK1/2 signaling pathways [J]. Inter Immunopharmacol, 2016, 35(35):185-192.
- [5] Kumphune S, Prompant E, Phaebuaw K, et al. Anti-inflammatory effects of the ethyl acetate extract of *Aquilaria crass-*

- na inhibits LPS-induced tumor necrosis factor- α production by attenuating P38 MAPK activation[J]. *Inter J Gre Pharmacy*, 2011, 5(1): 291-296.
- [6] 陈地灵, 吴伟, 林励, 等. 沉香茶提取物的体外抗氧化和体内降血脂作用评价[J]. *现代食品科技*, 2013, 29(6): 1198-1201.
- [7] 段宙位, 李维国, 窦志浩, 等. 沉香叶黄酮类化合物的提取及其抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2015, 36(6): 45-50.
- [8] Takemoto H, Ito M, Shiraki T, et al. Sedative effects of vapor inhalation of agarwood oil and spikenard extract and identification of their active components[J]. *J Nat Med*, 2008, 62(1): 41-46.
- [9] Liu Y, Chen H, Yang Y, et al. Whole-tree agarwood-inducing technique: an efficient novel technique for producing high-quality agarwood in cultivated *Aquilaria sinensis* trees[J]. *Molecules*, 2013, 18(3): 3086-3106.
- [10] Alam J, Mujahid M, Badruddeen, et al. Hepatoprotective potential of ethanolic extract of *Aquilaria agallocha* leaves against paracetamol induced hepatotoxicity in SD rats[J]. *J Trad & Comple Med*, 2017, 7(1): 9-13.
- [11] 王颖芳, 王宇亮. 中药治疗肝损伤作用机理的实验研究进展[J]. *中医学报*, 2003, 18(1): 33-34.
- [12] Hwang Y P, Choi J H, Jeong H G. Protective effect of the *Aralia continental* root extract against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice[J]. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(1): 75-81.
- [13] Klamt F, Dal Pizzol F, Conte DF MJ, et al. Imbalance of antioxidant defense in mice lacking cellular prion protein. *Free Radic Biol Med*, 2001, 30(10): 1137-1144.
- [14] Deng X, Wu K, Wan J, et al. Aminotriazole attenuated carbon tetrachloride-induced oxidative liver injury in mice. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(9): 3073-3078.
- [15] Abdullah, Khan M A, Ahmad W, et al. Hepatoprotective effect of the solvent extracts of *Viola canescens* Wall. ex. Roxb. against CCl_4 induced toxicity through antioxidant and membrane stabilizing activity[J]. *Bmc Complementary & Alternative Med*, 2017, 17(1): 10.
- [16] Michiels C, Raes M, Toussaint O, et al. Importance of SE-glutathione peroxidase, catalase and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic Biol Med*, 1994, 7(3): 235-248.
- [17] Zhu W, Fung P C. The roles played by crucial free radicals like lipid free radicals, nitric oxide, and enzymes NOS and NADPH in CCl_4 -induced acute liver injury of mice[J]. *Free Radic Biol Med*, 2000, 29(9): 870-880.
- [18] 黄振青, 韦燕飞, 刘雪梅, 等. 穗花杉双黄酮对急性肝损伤大鼠炎症相关因子的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(11): 147-150.
- [19] Chen Q, Qi Z, Li Y, et al. Schisandra Lignan Extract Protects against Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury in Mice by Inhibiting Oxidative Stress and Regulating the NF- κ B and JNK Signaling Pathways[J]. *Evidence-based complement and alter med: eCAM*, 2017, 2017: 5140297.
- [20] Turovsky E A, Turovskaya M V, Gaidin S G, et al. Cytokine IL-10, activators of PI3-kinase, agonists of α -2 adrenoreceptor and antioxidants prevent ischemia-induced cell death in rat hippocampal cultures[J]. *Arch Biochem & Biophys*, 2017, 615: 35-43.

(收稿日期 2017-05-30)

(上接第1090页)

KM小鼠灌胃 $40 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的给药剂量换算为成人(60 kg)的口服剂量约为 $3.24 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1[7]}$, 以沉香药材生药量计算成人(60 kg)的口服剂量约为 $18.51 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 即成人(60 kg)一日剂量高达 1.11 kg 沉香药材。而《中华人民共和国药典》规定成人服用沉香药材的1日常用剂量为 $1 \sim 5 \text{ g}^{[1]}$ 。因此, 可认为成人以临床常用量服用通体结香技术产沉香药材安全可行。

致谢: 本实验由中国医学科学院药用植物研究所海南分所提供通体结香技术产沉香的提取物实验材料, 并委托海南省药物安全性评价研究中心在该中心 GLP 实验室进行实验, 在此对中心给予本研究提供帮助的所有老师一并致谢。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:

中国医药科技出版社, 2010: 172.

- [2] 卢之颐. 本草乘雅半偈[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 450.
- [3] 张争, 杨云, 魏建和, 等. 白木香结香机理研究进展及防御反应诱导结香假说[J]. *中草药*, 2010, 41(1): 19-21.
- [4] Liu Y Y, Chen H Q, Yang Y, et al. Whole-tree agarwood-inducing technique: An efficient novel technique for producing high-quality agarwood in cultivated *Aquilaria sinensis* trees[J]. *Molecules*, 2013, 18, 3086-3106.
- [5] 刘洋洋, 杨云, 魏建和, 等. 不同产地通体香沉香药材的质量分析[J]. *中国现代中药*, 2014, 16(3): 183-186.
- [6] 国家食品药品监督管理局. 中药、天然药物急性毒性研究技术指导原则[Z]. 2005.
- [7] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学(第4版)[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 71, 383.

(收稿日期 2017-05-30)