

岗梅根总皂苷对高脂血症大鼠降血脂作用的实验研究

喻良文¹, 张敏敏¹, 张玲玲², 李耿¹, 孔秀娟¹, 吴庆光¹

1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 孝感市药检所, 湖北 孝感 432000

[摘要] 目的: 探讨岗梅根总皂苷对高脂血症大鼠的降血脂作用。方法: 将 72 只大鼠, 随机分为 6 组, 正常组、模型组、辛伐他汀组、岗梅根总皂苷高、中、低剂量组。通过给予大鼠饲喂高脂饲料, 建立高脂血症大鼠模型。正常组和模型组均灌胃等体积生理盐水, 辛伐他汀组灌胃辛伐他汀 4 mg/kg, 岗梅根总皂苷高、中、低剂量组分别灌胃 440 mg/kg、220 mg/kg、110 mg/kg 岗梅根总皂苷混悬液。连续给药 10 周, 每天 1 次。测量血清中总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、血清瘦素 (LEP)、脂联素 (ADP)、白细胞介素-6 (IL-6)、C-反应蛋白 (CRP) 水平。结果: 与模型组比较, 岗梅根总皂苷高、中、低剂量组大鼠血清中 TC、TG、LDL-C、LEP、CRP 和 IL-6 水平均显著降低 ($P < 0.01$), 岗梅根总皂苷各剂量组 HDL-C 水平均显著升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 岗梅根总皂苷高剂量可显著升高 ADP 水平 ($P < 0.05$)。结论: 岗梅根总皂苷对高脂血症大鼠有降血脂作用。

[关键词] 高脂血症; 岗梅根; 总皂苷; 降血脂

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2014) 07-0191-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2014.07.089

Experiment Research of Total Saponins from Radix Ilicis Asprellae for Decreasing Blood Lipid in Hyperlipidemia Rats

YU Liangwen, ZHANG Minmin, ZHANG Lingling, et al

Abstract: Objective: To observe the effect of total saponins from Radix Ilicis Asprellae for decreasing blood lipid in hyperlipidemia rats. Methods: Seventy two rats were randomly divided into six groups, namely normal group, model group, Simvastatin group, and high (H)-, middle (M)-, low (L)- dose Radix Ilicis Asprellae groups. After the establishment of hyperlipidemia model by high-fat feeding, the normal group and the model group were given normal saline with the same volume as that for other groups, and Simvastatin group was administrated with Simvastatin, 4mg for per kilogram of body weight, while H group, M group and L group were administrated with total saponins from Radix Ilicis Asprellae 440 mg, 220 mg, 110 mg for per kilogram of body weight respectively. The treatment course lasted 10 weeks. The levels of serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), leptin (LEP), adiponectin (ADP), interleukin-6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) were observed. Results: The levels of TC, TG, LDL-C, LEP, CRP and IL-6 were decreased ($P < 0.01$) and HDL-C was increased ($P < 0.05$) in H, M, L groups, and ADP was increased ($P < 0.05$) in H group after treatment as compared with those in the model group. Conclusion: Total saponins from Radix Ilicis Asprellae can markedly decrease blood lipid in hyperlipidemia rats.

Keywords: Hyperlipidemia; Radix Ilicis Asprellae; Total saponin; Decreasing blood lipid

岗梅来源于冬青科植物梅叶冬青的干燥根及茎。味苦、甘, 性凉, 具有清热解毒、生津利咽等功效, 为广东、广西等岭南地区习用中药。岗梅根还为王老吉凉茶、沙溪凉茶的主要原料, 岭南民间也广泛用其自制凉茶。现代药理学研究表明, 冬青属植物如苦丁茶、大叶冬青等, 大多具有降血脂的作用,

其主要的物质基础为总皂苷类化合物^[1-2]。广州中医药大学吴庆光教授以岗梅为主药所拟龙岗降脂汤治疗高血脂疾病, 在临床上取得了较好效果。因此本实验运用高脂血症大鼠就岗梅根总皂苷的降血脂作用进行了初步研究, 本研究结果为降血脂药物的研制提供实验数据。

[收稿日期] 2014-03-12

[基金项目] 广东省科技计划项目 (编号: 00748281120227033); 东莞市高等院校科研机构科技计划项目 (编号: 201210802013)

[作者简介] 喻良文 (1977-), 男, 副教授, 主要从事中药材鉴定、品质评价和药效研究。

[通讯作者] 吴庆光, E-mail: zyx321@gzucm.edu.cn。

1 材料与方法

1.1 药物 岗梅药材采集于广东从化,经广州中医药大学中药学院赖小平教授鉴定为冬青科植物梅叶冬青的干燥根。岗梅根总皂苷由广州中医药大学实验室提取。

1.2 试剂 总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒(均购自中生北控生物科技股份有限公司);脂联素(ADP)、瘦素(LEP)、C-反应蛋白(CRP)、白细胞介素-6(IL-6)试剂盒(均购自广州齐云生物技术有限公司,批号:20111110);维生素D₃(购自美国Sigma公司,批号:38718),水合氯醛(天津市大茂化学试剂厂,批号2010022),苦味酸(分析纯,天津市大茂化学试剂厂,批号:110403)。

1.3 仪器 TDL-5-A 离心机(上海安亭科学仪器厂);Olympus 2700 型生化自动分析仪(Olympus,日本);DENLEY DRAGON Wellscan MK3 酶标仪(Thermo,芬兰);Wellwash 4MK2 洗板机(Thermo,芬兰);微量移液器(Finnpipette 100 01 000 μL,型号:ZY10462);TC-3K 电子天平(深圳市华恒科技有限公司)。

1.4 动物 SPF 级 SD 大鼠,体重 180~220 g,雄性。由广州中医药大学实验动物中心提供,合格证号:SCXK(粤)2008-0020。动物饲养于广州中医药大学中药学院实验动物观察室(国家中医药管理局中医药科研实验室三级认证),根据实验要求,分别喂以标准普通颗粒饲料和高脂饲料。

1.5 高脂饲料配方 由 81.3%基础饲料加 10%猪油、5%白糖、3%胆固醇(粉剂)、0.2%丙基硫氧嘧啶(片剂)、0.5%胆酸钠(粉剂)混合,加工成外观与普通饲料相似的高脂饲料(购自广东省医学实验动物中心,批号:20110317)。

1.6 造模及给药方法^[3-5] 大鼠 72 只,随机分为 6 组,正常组、模型组、辛伐他汀组、岗梅总皂苷高、中、低剂量组,每组 12 只。大鼠适应性饲养 3 天后开始实验。除正常组外,其余各组大鼠在实验开始一次性腹腔注射维生素 D₃ 60 万 U/kg,随后正常组喂普通饲料,其余各组饲喂高脂饲料。每天上午在喂食之前,各组分别灌胃给药。正常组和模型组均灌胃等体积生理盐水,辛伐他汀灌胃辛伐他汀 4 mg/kg,岗梅根总皂苷用蒸馏水配成 44 mg/mL、22 mg/mL、11 mg/mL 的混悬液,按 440 mg/kg、220 mg/kg、110 mg/kg 予高、中、低剂量组分别灌胃。连续给药 10 周,每天 1 次。

1.7 取材方法 药物治疗 10 周后对大鼠进行血清取样,在实验结束前 24 h 上午 8 点开始禁食不禁水。第 2 天上午各组大鼠分别用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉后,将大鼠固定在鼠板上,腹主动脉取血 6 mL 于普通离心管中,离心(3 000 r/min, 10 min, 4℃),静置后取上清液。

1.8 观察指标 ①大鼠活动状态观察:在实验过程中每天观察大鼠饮食、活动情况,每周称体重记录 1 次。②血清各项指标测定方法:按照试剂盒说明书的要求,用酶联免疫吸附

(ELISA)盒对血脂各项指标(TC、TG、LDL-C、HDL-C)、ADP、LEP、CRP、IL-6 进行测定。

1.9 统计学方法 数据均采用 SPSS17.0 统计软件单因素方差分析法进行统计,计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示。

2 结果

2.1 大鼠活动状态观察 正常组大鼠毛发较有光泽,行为活跃,体重在持续增长。模型组大鼠给予高脂饲料喂养,早期饮食较少,体重明显减少,毛色逐渐松散暗淡,活动减少,后期饮食量多,体重有所增加。辛伐他汀组、岗梅总皂苷高、中、低剂量组大鼠体重变化、活动情况稍好于模型组。

2.2 各组大鼠血脂比较 见表 1。与正常组比较,模型组 TC、TG、LDL-C 均显著升高($P < 0.01$),HDL-C 浓度显著降低($P < 0.05$)。提示高脂血症大鼠模型成功。与模型组比较,辛伐他汀组 TC、TG、LDL-C 浓度均显著降低($P < 0.01$),HDL-C 显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,岗梅总皂苷高、中、低剂量组 TC、TG、LDL-C 水平均显著降低($P < 0.01$);各剂量组 HDL-C 水平均显著升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。提示岗梅总皂苷具有显著的降低血液中脂质含量的作用,可调整高脂血症引起的血脂水平紊乱。

表 1 各组大鼠血脂比较($\bar{x} \pm s$, $n=12$) mmol/L

组别	TC	TG	LDL-C	HDL-C
正常组	2.28±0.15	0.45±0.06	0.93±0.06	1.17±0.10
模型组	18.05±1.00 ^①	1.25±0.15 ^②	16.12±0.68 ^③	0.92±0.07 ^④
辛伐他汀组	4.54±0.36 ^②	0.52±0.05 ^②	3.60±0.33 ^②	1.57±0.09 ^③
岗梅总皂苷低剂量组	10.75±0.49 ^③	0.96±0.06 ^③	9.53±0.38 ^③	1.17±0.09 ^④
岗梅总皂苷中剂量组	7.82±0.33 ^③	0.77±0.08 ^③	6.73±0.30 ^③	1.24±0.09 ^④
岗梅总皂苷高剂量组	5.47±0.41 ^④	0.59±0.06 ^③	4.67±0.49 ^③	1.62±0.11 ^④

与正常组比较,① $P < 0.05$,② $P < 0.01$;与模型组比较,③ $P < 0.05$,④ $P < 0.01$

2.3 各组大鼠 LEP、ADP 比较 见表 2。与正常组比较,模型组 LEP 水平显著升高($P < 0.01$),ADP 水平显著降低($P < 0.05$)。与模型组比较,辛伐他汀组 LEP 水平显著降低($P < 0.01$),ADP 水平显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,岗梅总皂苷各剂量组 LEP 水平均显著降低($P < 0.01$),高剂量组对 ADP 水平显著升高($P < 0.05$)。

2.4 各组大鼠 CRP、IL-6 水平比较 见表 3。与正常组比较,模型组 CRP、IL-6 水平均显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,辛伐他汀组 CRP 及 IL-6 水平显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与模型组比较,岗梅根总皂苷高、中、低剂量均可显著降低 CRP($P < 0.01$)及 IL-6 水平($P < 0.01$)。与正常组比较,岗梅总皂苷高剂量可使高脂血症大鼠血清 CRP 和 IL-6 基本恢复到正常水平。

3 讨论

高脂血症主要是指 TC 或 TG 水平过高和(或)HDL-C 水平

表 2 各组高脂血症大鼠 LEP、ADP 比较($\bar{x} \pm s, n=12$) ng/ml

组别	LEP	ADP
正常组	2.67 ± 0.23	6.50 ± 0.41
模型组	14.58 ± 1.53 ^①	5.36 ± 0.42 ^②
辛伐他汀组	3.76 ± 0.33 ^③	6.55 ± 0.31 ^④
岗梅总皂苷低剂量组	7.31 ± 0.36 ^③	5.69 ± 0.11
岗梅总皂苷中剂量组	5.06 ± 0.11 ^③	6.08 ± 0.19
岗梅总皂苷高剂量组	3.98 ± 0.17 ^③	6.31 ± 0.20 ^③

与正常组比较, ① $P < 0.01$, ② $P < 0.05$; 与模型组比较, ③ $P < 0.01$, ④ $P < 0.05$

表 3 各组大鼠 CRP、IL-6 水平比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	CRP($\mu\text{g/ml}$)	IL-6(pg/ml)
正常组	8.40 ± 0.19	65.09 ± 1.95
模型组	14.14 ± 2.02 ^①	289.16 ± 12.20 ^①
辛伐他汀组	8.56 ± 3.14 ^②	67.71 ± 3.31 ^③
岗梅总皂苷低剂量组	10.84 ± 0.58 ^③	135.48 ± 9.95 ^③
岗梅总皂苷中剂量组	9.49 ± 0.50 ^③	93.82 ± 3.12 ^③
岗梅总皂苷高剂量组	8.74 ± 0.33 ^③	72.19 ± 1.88 ^③

与正常组比较, ① $P < 0.01$; 与模型组比较, ② $P < 0.05$, ③ $P < 0.01$

过低, 为中老年人的常见病和多发病。随着人们生活水平的提高和生活习惯的改变, 该病的发病率明显增加, 发病的年龄也有所提前。全球每年约有 1 200 万人死于心血管病和脑中风^④。据预测, 到 2020 年全球心血管疾病死亡病例有可能占总死亡病例数的 36%, 位居人类各种致死病因的首位^⑤。在临床上, 治疗高脂血症, 西药一般采用他汀类、胆汁酸结合树脂类等, 虽然疗效确切, 但常常引起腹泻、腹胀, 甚至引起肌炎等不良反应。而近年来临床研究证明, 许多中药治疗高脂血症都收到了较好的疗效。例如冬青属植物大叶冬青和苦丁茶冬青都具有降血脂作用, 初步研究表明该功效与这 2 种植物中的活性三萜皂苷元有关。而本研究用冬青属植物的岗梅根总皂苷灌胃高脂血症模型大鼠, 结果显示岗梅总皂苷可显著降低血清 TC、TG、LDL-C, 显著升高大鼠血清 HDL-C 水平, 表明岗梅根总皂苷提取物具有降低血脂的作用。

另有研究表明, 高脂血症是许多心脑血管疾病, 如动脉粥样硬化(AS)、脑中风等发病的重要原因。动脉粥样硬化主要是由于肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-6、单核细胞趋化蛋白 1(MCP1)和抵抗素等促炎性细胞因子与 NO 和 ADP 等抗炎性因子的失衡所致。其中 IL-6 参与动脉粥样硬化的发生。CRP 是

一种由细胞因子如 IL-6 诱导的炎性介质, 被认为是动脉粥样硬化的标志物。在动脉粥样硬化斑块内可以刺激炎性介质的释放与表达, 是冠心病的独立危险因素^⑥。而在本研究中发现岗梅根总皂苷可显著降低高脂血症大鼠血清 CRP($P < 0.05$)及 IL-6 水平($P < 0.01$)。与正常组比较, 岗梅总皂苷高剂量可使高脂血症大鼠血清 CRP 和 IL-6 基本恢复到正常水平。ADP 与血清 LEP 均为脂肪组织分泌的具有内分泌激素特性的脂肪细胞因子, 二者均参与动脉粥样硬化性疾病的发生。ADP 能抑制内皮细胞中细胞黏附因子、细胞间黏附因子、E 选择素的表达, 从而减少由 TNF- α 介导的单核细胞对人主动脉内皮细胞的黏附, 在抗动脉粥样硬化方面起保护作用。血清 LEP 通过氧化应激、促进巨噬细胞和平滑肌细胞的增殖、加速炎症反应、促进血栓形成以及影响血压和脂质代谢等, 加速动脉粥样硬化的进程。本实验结果表明, 岗梅根总皂苷高剂量对 ADP 有显著性的升高作用($P < 0.05$), 各剂量均可显著降低高脂血症大鼠血清 LEP 水平($P < 0.01$)。

本研究结果表明岗梅根总皂苷对高脂血症大鼠有降血脂作用。还可降低 CRP、IL-6 及血清 LEP 等炎症因子, 升高 ADP 这一抗炎因子, 通过维持炎症因子与抗炎因子之间的平衡而影响抗动脉粥样硬化作用。

[参考文献]

- 董文彦, 郑颖, 刘晓兵, 等. 苦丁茶降血脂作用的研究[J]. 北京联合大学学报, 1994(1): 24-29.
- 刘彬, 许宏大. 苦丁茶降血脂的实验及临床研究[J]. 护理研究, 2005(1): 21-22.
- 余学钊, 杨伟峰, 刘合刚, 等. 葛根苓连汤对高脂模型大鼠降脂作用研究[J]. 亚太传统医药, 2012(11): 12-14.
- Dietschy J M. Theoretical consideration of what regulates low-density lipoprotein cholesterol[J]. Am Clin Nuh, 1997, 65(suppl): 1581-1589.
- 吴冬梅, 潘涛, 施广飞. 血脂康对高脂血症大鼠脂联素、瘦素及炎症因子的影响[J]. 中国中医急症, 2011, 20(1): 100-101.
- 王海勇, 王林. 降血脂药物的研究进展[J]. 国外医学: 药学分册, 2004, 31(3): 160-165.
- 张庆军, 刘德培, 梁值权. 动脉粥样硬化的基础研究[J]. 中华医学杂志, 2005, 85(6): 428-431.

(责任编辑: 马力)