

文章编号:1000-5404(2014)11-1187-03

论著

山奈酚与野马追总黄酮对实验性高脂大鼠的降脂作用及其血液流变学比较

何海霞,孔令希,李秀英,周远大 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院药学部)

[摘要] 目的 观察山奈酚单体对实验性高脂大鼠的降脂作用和血液流变学的影响,并与野马追总黄酮进行比较。方法 70只大鼠分为空白对照组,高脂模型组,山奈酚大、小剂量组,野马追总黄酮大、小剂量组和阳性药物组。每天上午8:30左右,山奈酚大、小剂量组分别灌服300 mg/kg和100 mg/kg山奈酚,野马追总黄酮组灌服(生药)100 mg/kg和50 mg/kg,阳性药物组灌服非诺贝特20 mg/kg,各组动物给药容量0.5 mL/100 g,空白对照组灌服赋形剂0.5%羧甲基纤维素钠溶液;除空白对照组每天按常规给予基础饲料外,其余实验组给予高脂饲料。连续给药6周后,各组动物采血测定血清中TC、TG、HDL-c、LDL-c、SOD、MDA、NO和血液流变学。采用油红O染色观察山奈酚对氧化低密度脂蛋白(oxLDL)诱导的巨噬细胞泡沫化的影响。结果 山奈酚大、小剂量动物组血脂、血液流变学参数和MDA均明显低于高脂模型组($P < 0.01$);而与野马追总黄酮大、小剂量组相比,组间无统计学差异($P > 0.05$)。山奈酚有效抑制oxLDL诱导的巨噬细胞内脂质的聚集。结论 山奈酚单体连续给药能降低实验性高脂动物血脂、血液流变学参数和血清中MDA浓度而升高SOD活性,山奈酚也能抑制巨噬细胞泡沫化的形成。山奈酚单体有望替代野马追总黄酮用于降脂、抗氧化、抗炎等临床治疗。

[关键词] 山奈酚;野马追总黄酮;血脂;血液流变学

[中图分类号] R282.71; R589.205; R969.4

[文献标志码] A

Kaempferol vs lindley euqatorium herb total flavonoid for hyperlipemia and hemorheological parameters in rats

He Haixia, Kong Lingxi, Li Xiuying, Zhou Yuanda (Department of Pharmacy, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[Abstract] **Objective** To determine the effect of kaempferol on experimental hyperlipemia and hemorheological parameters in rats, and compare the effect with that of lindley euqatorium herb total flavonoid. **Methods** A total of 70 SD rats were randomly and equally divided into 7 groups, that is, blank control, hyperlipemia group, high- and low-dosed kaempferol groups, high- and low-dosed total flavonoid groups, and positive drug group (fenofibrate). The rats of the later 6 groups were fed with high-fat food for 6 weeks, and those of the treatment groups were given oral administration of 300 and 100 mg/kg kaempferol, 100 and 50 mg/kg crude total flavonoids, and 20 mg/kg fenofibrate respectively. After 6 weeks, all experimental rats were killed, and the serum levels of blood lipids and hemorheological parameters, the activity of SOD, the content of MDA were detected. Oil red O staining was employed to observe the effects of kaempferol on oxLDL-induced macrophage foam cell formation. **Results** Kaempferol decreased the serum levels of blood lipids and hemorheological parameters, blood viscosity, and serum content of MDA, but increased the activity of SOD when compared with hyperlipemia group ($P < 0.01$). There was no obvious difference in above indexes between the high- and low-dosed total flavonoid groups ($P > 0.05$). Kaempferol effectively inhibited oxLDL-induced lipid aggregation within macrophages. **Conclusion** Consecutive treatment of kaempferol decreases blood lipids, hemorheological parameters, and MDA content, but improves SOD activity. Kaempferol also inhibits the formation of macrophage foam cells. Kaempferol might substitute for lindley euqatorium herb total flavonoid in decreasing blood lipids and anti-inflammation in clinical practice.

[Key words] kaempferol; lindley euqatorium herb total flavonoid; blood lipids; hemorheology

Supported by the Project of Medical Scientific Research of Chongqing Municipal Health Bureau (07-2-075). Corresponding author: Zhou Yuanda, Tel: 86-23-68898185, E-mail: zhouyuanda001@163.com

[基金项目] 重庆市卫生局医学科研项目(07-2-075)

[通信作者] 周远大,电话:(023)68898185, E-mail: zhouyuanda001@163.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20131220.1113.015.html>(2013-12-20)

野马追对高脂血症大鼠具有降脂、降低血液黏度和抗氧化作用^[1-2]。现认为野马追总黄酮能促进外周组织中调节胆固醇向肝内转运,激活脂代谢相关酶的活性从而达到调节脂代谢而产生抗动脉粥样硬化的作用。另有文献[3]报道,从野马追总黄酮中提取物质之一山奈酚单体有明显降低血脂、血液黏度和抗氧化的作用,并通过阻止低密度脂蛋白氧化而防止动脉粥样硬化。研究表明,山奈酚具有同野马追相类似的作用^[4-5]。野马追成分复杂,国际上青睐的是单体有效成分,为了使该药物有更广阔的应用前景,我们用实验性高脂大鼠模型对山奈酚单体与野马追总黄酮的降脂作用和血液流变学进行了对照研究。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验药物、试剂和仪器 野马追总黄酮,棕黑色液体,味苦,每毫升含野马追生药 20 g(采用分光光度计测定总黄酮含量为 5.2%),250 mL 玻璃瓶分装,由重庆市中药研究所药化室提供,批号:200863。山奈酚,黄色粉末,不溶于水,纯度:98%,由南京泽朗科技有限公司提供,批号:10071743。非诺贝特胶囊(商品名力平之),规格:200 mg/粒,由法国利博福尼制药公司制造,批号:16567。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)及一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒由南京建成试剂公司提供。胆固醇由广州天马精细化工厂进口分装。氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)购自 Sigma 公司,RAW264.7 巨噬细胞由重庆医科大学生命科学院提供。日立 7060 全自动生化分析仪。

1.1.2 动物 SPF 级健康成年 SD 大鼠,雌雄各半,体质量 160~200 g,由重庆医科大学实验动物中心提供。动物生产许可证号:SCXF(渝)2007-0001。

1.2 方 法

1.2.1 动物分组及造模 选取 SPF 级大鼠 70 只,分为空白对照组,高脂模型组,阳性药物组,山奈酚大、小剂量组和野马追总黄酮大、小剂量组。参照文献[3]配制高脂饲料,建立实验性高脂大鼠模型(胆固醇 1%,胆盐 0.1%,猪油 10%,蛋黄粉与全脂奶粉分别占 5%,剩余为普通饲料的配方^[6])。每天上午 8:30 左右,山奈酚大、小剂量组分别灌服 300 mg/kg 和 100 mg/kg 山奈酚,野马追总黄酮组灌服(生药)100 mg/kg 和 50 mg/kg,阳性药物组灌服非诺贝特 20 mg/kg,各组动物给药容量 0.5 mL/100 g,空白对照组灌服赋形剂 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液;除空白对照组每天按常规给予基础饲料外,其余实验组给予高脂饲料。实验期间每周称体质量,观察大鼠摄食、活动及死亡情况,连续喂养 6 周。

1.2.2 采血与测定 动物处死前禁食 24 h,麻醉后经颈总动脉采血,采用日立 7020 全自动生化仪测定 TC、TG、HDL-c、

LDL-c 和全自动血流变检测仪测定全血高切黏度、全血低切黏度及血浆黏度;用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活性;硫代戊巴比妥法测定 MDA 水平;硝酸还原酶法测定 NO 浓度。

1.2.3 细胞培养与实验分组 正常生长的 RAW264.7 巨噬细胞培养于含 10% 小牛血清、20 mmol/L Hepes 及 125 mg/L 谷氨酰胺的 RPMI1640 培养基中,培养条件为 37 ℃、5% CO₂。实验分为 3 组:对照组(正常生长的 RAW264.7 细胞)、oxLDL 诱导组(100 μg/mL oxLDL 作用于 RAW264.7 细胞 24 h)、山奈酚组(RAW264.7 细胞与 100 μg/mL oxLDL、5 μg/mL 山奈酚共孵育 24 h)。

1.2.4 油红 O 染色 去掉上清液,PBS 洗细胞 1 次,用 4% 多聚甲醛固定细胞 30 min。PBS 洗去多余的甲醛后加入 1% 油红 O 染液染色 20 min,再用苏木精复染 20 s,于显微镜下观察并照相。

1.3 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 统计软件,多组比较行方差分析,2 组比较行组间 *t* 检验。

2 结 果

2.1 山奈酚与野马追总黄酮对实验性高脂大鼠血脂及自由基的影响

与高脂模型组比较,山奈酚实验动物大、小剂量组以及野马追总黄酮大、小剂量组 TC、TG、LDL-c、MDA 明显降低($P < 0.05, P < 0.01$),HDL-c、SOD、NO 明显升高($P < 0.01$);但是山奈酚大、小剂量组分别与野马追总黄酮大、小剂量组比较,指标差异无统计学意义($P > 0.05$,表 1、2)。

表 1 山奈酚与野马追总黄酮对实验性高脂大鼠血脂的影响 (mmol/L, n = 10, $\bar{x} \pm s$)

组别	TC	TG	HDL-c	LDL-c
空白对照组	3.48 ± 1.62 ^b	1.07 ± 0.32 ^b	1.27 ± 0.36 ^a	1.31 ± 0.44 ^b
高脂模型组	6.55 ± 0.99	1.37 ± 0.22	1.02 ± 0.29	11.88 ± 1.72
阳性药物组	4.81 ± 1.27 ^b	0.98 ± 0.19 ^b	1.94 ± 0.40 ^b	6.33 ± 1.12 ^b
山奈酚大剂量组	4.52 ± 1.27 ^b	0.83 ± 0.13 ^b	1.92 ± 0.32 ^b	5.06 ± 1.23 ^b
山奈酚小剂量组	4.96 ± 1.32 ^b	0.94 ± 0.12 ^b	1.82 ± 0.33 ^b	4.92 ± 1.74 ^b
野马追总黄酮大剂量组	5.12 ± 1.54 ^b	1.06 ± 0.36 ^b	1.89 ± 0.28 ^b	5.44 ± 1.18 ^b
野马追总黄酮小剂量组	5.67 ± 1.29 ^b	1.15 ± 0.24 ^a	1.78 ± 0.31 ^b	6.32 ± 1.62 ^b

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与高脂模型组比较

表 2 山奈酚与野马追总黄酮对实验性高脂大鼠血浆 SOD、MDA 及 NO 的影响 (μmol/L, n = 10, $\bar{x} \pm s$)

组别	SOD	MDA	NO
空白对照组	68.72 ± 6.18 ^a	9.35 ± 1.47 ^a	72.35 ± 5.43 ^a
高脂模型组	42.23 ± 7.85	18.74 ± 3.06	46.28 ± 7.28
阳性药物组	74.33 ± 6.02 ^a	8.96 ± 1.17 ^a	81.25 ± 9.78 ^a
山奈酚大剂量组	77.54 ± 3.24 ^a	8.28 ± 2.04 ^a	79.33 ± 6.81 ^a
山奈酚小剂量组	68.47 ± 5.74 ^a	7.64 ± 1.18 ^a	66.47 ± 8.42 ^a
野马追总黄酮大剂量组	75.52 ± 8.32 ^a	8.66 ± 1.47 ^a	80.87 ± 9.47 ^a
野马追总黄酮小剂量组	68.46 ± 7.12 ^a	9.88 ± 1.71 ^a	68.34 ± 8.18 ^a

a: $P < 0.01$, 与高脂模型组比较

表3 山奈酚与野马追总黄酮对实验性高脂大鼠血液流变学参数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	高切黏度(MPa·s)	低切黏度(MPa·s)	血液黏度(MPa·s)	红细胞刚性指数	红细胞聚集指数
空白对照组	4.09 ± 0.22 ^a	7.26 ± 0.34 ^a	1.20 ± 0.05 ^a	4.65 ± 0.73 ^a	5.72 ± 0.48 ^a
高脂模型组	6.98 ± 0.73	13.40 ± 1.28	2.13 ± 0.18	8.02 ± 1.22	9.88 ± 0.64
阳性药物组	4.23 ± 0.32 ^a	6.88 ± 0.38 ^a	1.33 ± 0.28 ^a	4.68 ± 1.12 ^a	5.56 ± 0.48 ^a
山奈酚大剂量组	4.18 ± 0.82 ^a	5.92 ± 0.77 ^a	1.42 ± 0.29 ^a	4.88 ± 1.02 ^a	5.87 ± 0.54 ^a
山奈酚小剂量组	4.78 ± 0.66 ^a	6.42 ± 0.58 ^a	1.52 ± 0.19 ^a	4.92 ± 0.88 ^a	6.82 ± 0.47 ^a
野马追总黄酮大剂量组	4.26 ± 0.31 ^a	5.64 ± 0.68 ^a	1.38 ± 0.21 ^a	4.58 ± 0.62 ^a	5.48 ± 0.52 ^a
野马追总黄酮小剂量组	4.52 ± 0.44 ^a	5.98 ± 0.82 ^a	1.44 ± 0.11 ^a	4.87 ± 0.23 ^a	5.77 ± 0.62 ^a

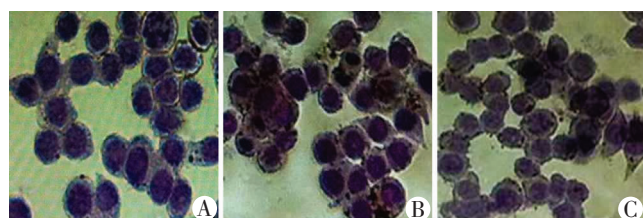
a: $P < 0.01$, 与高脂模型组比较

2.2 山奈酚及野马追总黄酮对实验性高脂大鼠血液流变学的影响

与高脂模型组比较,山奈酚大、小剂量组及野马追总黄酮大、小剂量组明显降低高切、低切血液的黏度、红细胞聚集指数和红细胞刚性指数($P < 0.01$),但是山奈酚大、小剂量组分别与野马追总黄酮大、小剂量组比较,指标差异无统计学意义($P > 0.05$,表3)。

2.3 山奈酚对巨噬细胞泡沫化的影响

如图1所示,与oxLDL诱导组比较,5 μg/mL山奈酚显著抑制了巨噬细胞内脂质的聚集。



A: 对照组; B: oxLDL 诱导组; C: 山奈酚组

图1 山奈酚对 oxLDL 诱导的巨噬细胞泡沫化的影响 (油红 O ×400)

3 讨论

野马追总黄酮所含主要成分为棕矢车菊素、山奈酚、柚皮素、三叶豆昔何金丝桃昔^[1]。野马追总黄酮的药理作用主要表现为抗菌、抗炎、止咳平喘等^[7];文献^[8]报道其降脂作用明显。而另有文献^[9-10]报道了野马追总黄酮中山奈酚单体的主要药理作用,认为有抗菌、抗炎、抗癌、降脂等作用,其作用与野马追总黄酮相类似。

本研究重点比较了山奈酚与野马追总黄酮对高脂大鼠降脂作用和对血液流变学的影响,结果表明山奈酚的降脂作用明显,其大剂量对 TC、TG、HDL-c 和 LDL-c 降脂数值与野马追总黄酮比较差异无统计学意义;抗炎抗氧化作用结果显示,山奈酚大剂量对 SOD、MDA 和 NO 的作用与野马追总黄酮大剂量组比较差异无统计学意义;高脂大鼠血液流变学的实验结果显示,山奈酚大剂量组高切黏度、低切黏度和血液黏度与野马追总黄酮比较,差异也无统计学意义。以上实验结果提示,山奈酚虽是野马追总黄酮中的一种成分,但其降脂、抗氧化作用和对血液流变学的影响与野马追

总黄酮差异无统计学意义;山奈酚亦能有效抑制 ox-LDL 诱导的巨噬细胞内脂质的聚集,与山奈酚体内降血脂的作用一致。此外,陈育华等^[10]报道,山奈酚广泛存在于各种水果、蔬菜及饮料中,人们已经从茶叶、椰菜、巫榛子、蜂胶、柚子以及其他绿色植物提取到它的纯品。

综上所述,野马追总黄酮为复合物,成分复杂,不良反应可能比单体山奈酚多,山奈酚疗效与野马追总黄酮相近,且山奈酚来源广泛,易于获得,因此,山奈酚单体有望替代野马追总黄酮用于降脂、抗氧化、抗炎等临床治疗。

参考文献:

- [1] 陈万一, 秦剑, 何海霞, 等. 野马追总黄酮对实验性高脂血症大鼠脂代谢的影响[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(16): 1589 - 1591.
- [2] 王柯静, 秦剑, 陈万一, 等. 野马追改善高脂血症大鼠血液流变性及其抗氧化作用研究[J]. 中药药理与临床, 2009, 25(2): 80 - 82.
- [3] 王柯静, 程渝, 周远大. 野马追提取液对动脉粥样硬化家兔炎症反应的防治作用[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(18): 1853 - 1591.
- [4] Kong L, Luo C, Li X, et al. The anti-inflammatory effect of kaempferol on early atherosclerosis in high cholesterol fed rabbits [J]. Lipids Health Dis, 2013, 12: 115.
- [5] Li X Y, Kong L X, Li J, et al. Kaempferol suppresses lipid accumulation in macrophages through the downregulation of cluster of differentiation 36 and the upregulation of scavenger receptor class B type I and ATP-binding cassette transporters A1 and G1 [J]. Int J Mol Med, 2013, 31(2): 331 - 338.
- [6] 林征, 吴小南, 汪家梨. 雄性 SD 大鼠高脂血症模型饲料配方的实验研究[J]. 海峡预防医学杂志, 2007, 13(6): 56 - 57.
- [7] 周远大, 吴妍, 朱深银, 等. 野马追抗菌、止咳、平喘作用[J]. 中国药房, 2001, 12(12): 716 - 718.
- [8] 周远大, 江舟, 何海霞, 等. 野马追对大、小鼠实验性高脂血症的防治作用[J]. 中国药房, 2007, 18(3): 178 - 179.
- [9] 张燕玲, 薛小平. 山奈酚的作用机理研究[J]. 化学与生物工程, 2011, 28(12): 1 - 3.
- [10] 陈育华, 周克元, 袁汉尧. 山奈酚药效的研究进展[J]. 广东医学, 2010, 31(8): 1064 - 1066.

(收稿:2013-10-09;修回:2013-11-30)

(编辑 张 维)