

· 药理 ·

## 双黄调脂方及其有效成分发挥降脂作用的探讨

玄瑛美<sup>1</sup>, 张广平<sup>2</sup>, 马丽娜<sup>2</sup>, 苏萍<sup>2</sup>, 侯红平<sup>2</sup>, 杨依霏<sup>2</sup>, 叶祖光<sup>2\*</sup>

(1. 辽宁师范大学 生命科学学院, 辽宁 大连 116000;

2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** **目的:**通过体内外实验研究双黄调脂方的降脂作用,探讨其降脂机制。**方法:**昆明种小鼠随机分为正常组、模型组、阳性药组(血脂康,  $0.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )和双黄调脂高、低剂量组( $22.5, 7.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),观察双黄调脂方对 Triton-WR1339 诱导的高血脂模型的影响。基于整体实验,体外实验观察了双黄调脂主要有效成分姜黄素、黄连素、葛根素对油酸(oleic acid, OA)诱导的 HepG2 细胞模型胆固醇(CHO),甘油三酯(TG),3-羟基-3-甲基戊二酰 CoA(HMG-CoA)还原酶,高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C),低密度脂蛋白受体(LDL-R),胆固醇  $7\alpha$ -羟化酶(CYP7A1)和脂蛋白酯酶(LPL)含量的影响,探讨其可能降脂途径。**结果:**与正常组比较,模型组小鼠血清 CHO 和 TG 含量显著升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,双黄调脂方高剂量组能显著降低模型小鼠血清的 CHO, TG 水平( $P < 0.05, P < 0.01$ )。体外实验中,与空白组比较,模型组细胞 CHO, TG 和 HMG-CoA 还原酶含量显著升高( $P < 0.05, P < 0.01$ ), HDL-C, LDL-R, CYP7A1 和 LPL 含量显著降低( $P < 0.05$ );与模型组比较,姜黄素高剂量组( $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )能显著升高模型细胞 HDL-C, LDL-R 和 LPL 含量( $P < 0.05, P < 0.01$ ),降低 TG 和 HMG-CoA 含量( $P < 0.05, P < 0.01$ );黄连素高剂量组( $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )能显著升高模型细胞 CHO, HDL-C, LDL-R 和 CYP7A1 含量( $P < 0.05, P < 0.01$ );葛根素高剂量组( $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )能显著升高模型细胞 HDL-C, LDL-R, CYP7A1 和 LPL 含量( $P < 0.05, P < 0.01$ ),降低 CHO, TG 和 HMG-CoA 含量( $P < 0.05, P < 0.01$ )。**结论:**双黄调脂方可通过抑制内源性胆固醇合成、促进胆固醇逆转运(RCT)途径和低密度脂蛋白(LDL)受体途径、促进胆固醇转化以及促进甘油三酯降解等多个途径来发挥降脂作用。

**[关键词]** 双黄调脂方; HepG2 细胞; 胆固醇代谢; 甘油三酯代谢; 降脂机制

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)10-0079-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017100079

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170308.0941.022.html>

**[网络出版时间]** 2017-03-08 9:41

## Anti-hyperlipidemia Effect of Shuanghuang Tiaozhi Prescription by Regulating CHO and TG Metabolism

XUAN Ying-mei<sup>1</sup>, ZHANG Guang-ping<sup>2</sup>, MA Li-na<sup>2</sup>, SU Ping<sup>2</sup>,

HOU Hong-ping<sup>2</sup>, YANG Yi-fei<sup>2</sup>, YE Zu-guang<sup>2\*</sup>

(1. School of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian 116000, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of Shuanghuang Tiaozhi prescription *in vivo* and *in vitro*, in order to explore its lipid-lowering mechanism. **Method:** KM mice were randomly divided into normal control group, model group, positive drug group (Xuezhikang,  $0.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), high and low-dose Shuanghuang Tiaozhi prescription groups ( $22.5, 7.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). The effects of Shuanghuang Tiaozhi prescription on hyperlipidemic rat models induced by Triton-WR 1339 were studied. Based on the experiment *in vivo*, the effects of curcumin,

**[收稿日期]** 20161213(008)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09301002-002-003);中国中医科学院中药研究所新药开发基金项目

**[第一作者]** 玄瑛美,在读硕士,从事中药药理毒理研究, Tel:18646848775, E-mail: Xuanym92@163.com

**[通讯作者]** \*叶祖光,研究员,博士生导师,从事中药药理毒理研究, E-mail: zgye@icmm.ac.cn

berberine and puerarincan on the contents of cholesterol (CHO), triglyceride (TG), 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase, high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein receptor (LDL-R), cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase (CYP7A1) and lipoprotein lipase (LPL) in HepG2 cells induced by oleic acid (OA) were studied to explore the ways of reducing blood lipid. **Result:** Compared with normal control group, serum CHO and TG content of model mice were significantly increased ( $P < 0.01$ ). Compared with model group, high-dose Shuanghuang Tiaozhi prescription ( $22.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) can significantly decrease serum CHO and TG content of model mice ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). *In vitro*, compared with normal control group, CHO, TG and HMG-CoA reductase content of model cells significantly increased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), HDL-C, LDL-R, CYP7A and LPL content of model cells were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, high-dose curcumin ( $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) can significantly increase HDL-C, LDL-R, LPL content and decrease TG, HMG-CoA content in model cells ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); high-dose berberine ( $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) can significantly increase CHO, HDL-C, LDL-R, CYP7A1 content in model cells ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); high-dose puerarincan ( $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) can significantly increase HDL-C, LDL-R, CYP7A1, LPL content and decrease CHO, TG, HMG-CoA content in model cells ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Shuanghuang Tiaozhi prescription can reduce blood lipid by inhibiting endogenous cholesterol synthesis, promoting RCT and LDL receptor pathway, cholesterol transformation and degradation of triglyceride.

[**Key words**] Shuanghuang Tiaozhi prescription; HepG2; cholesterol (CHO) metabolism; triglyceride (TG) metabolism; lipid-lowering mechanism

心脑血管疾病是威胁人类健康的头号杀手,国内外实验研究和临床经验的结果表明,血脂紊乱是导致动脉血管粥样硬化、脑血栓和冠心病的主要危险因素之一<sup>[1-3]</sup>。降脂药可以减少心脑血管疾病的发生率,降低病死率。目前降脂药物的种类有很多,西药降脂均存在不同程度的副作用,且临床疗效并不理想,中药因其确切疗效,服用安全,已逐渐被人们所接受。此外相对于西医的单一靶点治疗,中药复方通过多种途径和环节进行干预,这也是中药复方的药效特点和优势<sup>[4-5]</sup>。因而开发安全,疗效肯定的降脂中药及具市场潜力。

双黄调脂方是以姜黄、黄连和葛根等中药组成的新型降脂中药复方。姜黄来源于姜科姜黄属植物姜黄的干燥根茎,具有破血,行气,通经,止痛的功效;姜黄素是从姜黄中提取的主要活性成分,具有降血脂、抗炎、抗氧化、抗微生物等作用<sup>[6-7]</sup>。黄连是毛茛科植物黄连、三角叶黄连或云南黄连的干燥根茎,具有清热燥湿、泻火解毒的功效<sup>[8-9]</sup>;黄连素是黄连的主要活性成分,具有降脂、降糖、抗炎、抗癌等作用<sup>[10]</sup>。葛根为豆科植物野葛或甘葛藤的干燥根,具有解肌退热、生津、透疹、生阳止泻的功效<sup>[11]</sup>;葛根素是葛根的重要活性成分,具有扩张血管、降血脂、降血压等作用<sup>[12]</sup>。本实验通过研究双黄调脂方对高血脂小鼠血脂的影响,并分析双黄调脂方中的效成分姜黄素、黄连素和葛根素对油酸(oleic acid,

OA)诱导的 HepG2 细胞中胆固醇(cholesterol, CHO)和甘油三酯(triglyceride, TG)代谢途径的影响,探讨双黄调脂方及其有效成分降脂作用及其机制,为其新药开发与临床应用提供一定的依据。

## 1 材料

**1.1 动物及细胞** SPF 级昆明种小鼠,雄性,体重( $20 \pm 2$ ) g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2013-0001,本研究所涉及的动物相关操作均在中国中医科学院中药研究所动物伦理委员会的批准下进行(批准号 20162018);肝癌细胞 HepG2,购自北京协和细胞库。

**1.2 药物及试剂** 双黄调脂提取物(由中国中医科学院中药研究所化学室提供,批号 20150520),血脂康胶囊(北大维信公司,批号 Z10950029),姜黄素、黄连素和葛根素(中国科学院成都生物研究所,批号分别为 MUST-16050404, MUST-16031814, MUST-16011207), Triton WR-1339 和 OA(美国 Sigma 公司);CHO 试剂盒和 TG 试剂盒(中生北控生物科技股份有限公司,批号分别为 151881, 157381);3-羟基-3-甲基戊二酰 CoA (HMG-CoA) 还原酶,高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C),低密度脂蛋白受体(LDL-R),胆固醇 7 $\alpha$ -羟化酶(CYP7A1),脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL)试剂盒(北京博瑞捷科技发展有限公司,批号均为 201610);BCA 蛋白试剂盒(赛默飞世尔生物化学制品有限公司,批号

NL 181480); RIPA 裂解液(索莱宝公司,批号 20151231)。

**1.3 仪器** TBA-40 FR Accute 型全自动生化分析仪(日本东芝集团),AR 3130 型电子天平(美国奥豪斯仪器有限公司),5424 R 型冷冻离心机(艾本德股份公司),CKX 53 型荧光显微镜(日本 Olympus 公司),HERACELL 240i 型 CO<sub>2</sub> 培养箱(美国 Thermo 公司),FCH-1300 B 型负压超净工作台(亚泰科隆仪器技术有限公司)。

## 2 方法

**2.1 双黄调脂方对 Triton WR-1339 导致急性高血脂小鼠血脂的影响** 适应性喂养小鼠 3 d,按照体重随机分为正常组,模型组,血脂康组(0.6 g·kg<sup>-1</sup>),双黄调脂方高、低剂量组(22.5,7.5 g·kg<sup>-1</sup>),每组 10 只。各给药组灌胃给药,给药体积 25 mL·kg<sup>-1</sup>,连续给药 7 d,模型组和正常组给同体积蒸馏水。给药第 6 天除正常组外其余各组腹腔注射 Triton WR-1339 600 mg·kg<sup>-1</sup>,注射体积为 10 mL·kg<sup>-1</sup>,正常组注射等体积的生理盐水。第 6 天晚禁食不禁水,第 7 天末次给药 1 h 后(禁食物 16 h),即注射完 Triton 约 24 h 后,摘眼球取血,3 000 r·min<sup>-1</sup>离心 15 min,取血清,全自动生化分析仪测定 CHO 和 TG 含量。

**2.2 油酸诱导 HepG2 细胞模型及给药处理** 将 HepG2 细胞接种于 6 孔板,置于 37 ℃ 5% CO<sub>2</sub> 培养箱孵育 24 h 后取出,设置空白组、模型组、姜黄素高、中、低剂量组,每组均设 6 个复孔。空白组加 MEM 培养液,模型组加含 1 mmol·L<sup>-1</sup>油酸的 MEM 培养液,各给药组加含 1 mmol·L<sup>-1</sup>油酸和相应浓度药物的 MEM 培养液,孵育 24 h 后去除培养液,用 PBS 清洗 2 遍,再用 RIPA 细胞裂解液裂解细胞,12 000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,收集上清液。用 BCA 蛋白试剂盒测定每个样品的总蛋白含量。黄连素和葛根素实验方法与上述相同,仅是 3 种药物浓度各不相同。

**2.3 姜黄素、黄连素和葛根素分别对油酸诱导 HepG2 细胞中 CHO 和 TG 的影响** 将收集的上清液采用酶法按 CHO 和 TG 试剂盒说明书进行操作,酶标仪波长 505 nm 测定吸光度 A,空白孔调零后,根据说明书提供的公式计算出 CHO, TG 的含量,得到的结果再除以各总蛋白含量,以每克蛋白所含 CHO 和 TG 的量显示最终结果。

**2.4 姜黄素、黄连素、葛根素分别对油酸诱导 HepG2 细胞中 HMG-CoA, HDL-C, LDL-R, CYP7A1 和 LPL 含量的影响** 将收集的上清液采用 ELISA

法检测 HMG-CoA 还原酶, HDL-C, LDL-R, CYP7A1 和 LPL 含量,操作方法按照各试剂盒说明书进行,450 nm 波长依序测量 A,空白孔调零后,通过标准曲线计算相应浓度,得到的结果再除以各总蛋白含量,以每克蛋白所含 HMG-CoA, HDL-C, LDL-R, CYP7A1 和 LPL 的量显示最终结果。

**2.5 统计学分析** 采用 SPSS 16.0 软件进行处理,实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,用单因素方差分析,组间比较用 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 双黄调脂方对 Triton WR-1339 导致急性高血脂小鼠血脂的影响** 与正常组比较,模型组小鼠血清 CHO 和 TG 含量明显升高(*P* < 0.01)。与模型组比较,血脂康组小鼠血清 CHO 和 TG 含量明显降低(*P* < 0.05),双黄调脂方高剂量组小鼠血清 CHO 和 TG 含量显著降低(*P* < 0.05, *P* < 0.01);低剂量组小鼠血清 CHO 和 TG 含量虽有降低趋势,但没有显著性差异。见表 1。

表 1 双黄调脂方对小鼠腹腔注射 Triton WR-1339 的血脂影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effect of Shuanghuang Tiaozhi prescription on serum lipid of mice which intraperitoneal injection of Triton WR-1339 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	CHO	TG
正常	-	3.66 ± 0.49	1.08 ± 0.19
模型	-	15.13 ± 3.49 <sup>1)</sup>	30.86 ± 7.70 <sup>1)</sup>
血脂康	0.6	10.53 ± 5.58 <sup>2)</sup>	17.24 ± 14.48 <sup>2)</sup>
双黄调脂方	7.5	13.79 ± 5.52	25.69 ± 13.81
	22.5	7.92 ± 6.64 <sup>2)</sup>	14.01 ± 15.76 <sup>3)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> *P* < 0.01;与模型组比较<sup>2)</sup> *P* < 0.05, <sup>3)</sup> *P* < 0.01。

**3.2 姜黄素、黄连素和葛根素对油酸诱导 HepG2 细胞的 CHO 和 TG 的影响** 与空白组比较,模型组细胞 CHO 和 TG 含量显著升高(*P* < 0.01)。与模型组比较,姜黄素中、高剂量组 TG 含量明显降低(*P* < 0.05, *P* < 0.01);黄连素高剂量组 CHO 含量明显升高(*P* < 0.05);葛根素高剂量组 CHO 和中、高剂量组 TG 含量明显降低(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。其余各组的作用不明显。见表 2~4。

**3.3 姜黄素、黄连素、葛根素分别对油酸诱导 HepG2 细胞中 HMG-CoA, HDL-C, LDL-R, CYP7A1 和 LPL 含量的影响** 与空白组比较,模型组 HMG-CoA 还原酶含量明显升高(*P* < 0.05), HDL-C, LDL-R, CYP7A1 和 LPL 含量明显降低(*P* < 0.05)。与模

表 2 姜黄素对油酸诱导 HepG2 细胞的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 2 Effect of curcumin on OA-induced HepG2 cell ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	CHO	TG
空白	-	59.10 ± 6.55	212.24 ± 28.58
模型	-	72.97 ± 3.18 <sup>1)</sup>	379.01 ± 19.31 <sup>1)</sup>
姜黄素	2.5	64.43 ± 5.80	335.42 ± 53.33
	5	68.78 ± 9.29	329.38 ± 31.70 <sup>2)</sup>
	10	68.54 ± 7.40	323.80 ± 22.94 <sup>3)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ (表 3,4 同)。

表 3 黄连素对油酸诱导 HepG2 的细胞的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 3 Effect of berberine on OA-induced HepG2 cell ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	CHO	TG
空白	-	46.38 ± 1.92	107.71 ± 7.30
模型	-	58.02 ± 5.10 <sup>1)</sup>	209.62 ± 40.78 <sup>1)</sup>
黄连素	10	52.29 ± 5.94	219.15 ± 41.28
	20	63.44 ± 9.08	219.09 ± 30.72
	40	72.42 ± 8.32 <sup>2)</sup>	228.20 ± 26.08

型组比较,姜黄素低剂量组 HDL-C 和 LPL 含量明显升高 ( $P < 0.05$ ),姜黄素中剂量组 HDL-C, LDL-R 和 LPL 含量明显升高 ( $P < 0.05$ ),姜黄素高剂量组 HDL-C, LDL-R 和 LPL 含量明显升高 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ) 且 HMG-CoA 还原酶含量明显降低 ( $P <$

表 5 姜黄素对油酸诱导 HepG2 细胞中 HMG-CoA, HDL-C, LDL-R, CYP7A1, LPL 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 5 Effect of curcumin on HMG-CoA, HDL-C, LDL-R, CYP7A1, LPL content in OA-induced HepG2 cell ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	HMG-CoA/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	HDL-C/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$	LDL-R/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	CYP7A1/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	LPL/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$
空白	-	33.26 ± 3.15	1.95 ± 0.50	225.70 ± 58.55	134.75 ± 23.92	249.40 ± 70.79
模型	-	42.07 ± 3.99 <sup>1)</sup>	1.22 ± 0.19 <sup>1)</sup>	137.42 ± 36.53 <sup>1)</sup>	105.77 ± 11.11 <sup>1)</sup>	135.02 ± 28.98 <sup>1)</sup>
姜黄素	2.5	37.64 ± 12.93	1.73 ± 0.32 <sup>2)</sup>	172.37 ± 37.65	98.01 ± 13.54	236.37 ± 41.48 <sup>2)</sup>
	5	34.50 ± 13.24	1.67 ± 0.24 <sup>2)</sup>	191.72 ± 40.59 <sup>2)</sup>	92.72 ± 9.14	268.96 ± 58.65 <sup>2)</sup>
	10	30.86 ± 3.22 <sup>2)</sup>	1.87 ± 0.28 <sup>3)</sup>	210.55 ± 45.03 <sup>2)</sup>	117.72 ± 6.87	299.64 ± 56.38 <sup>3)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ (表 6,7 同)。

表 6 黄连素对油酸诱导 HepG2 细胞中 HMG-CoA, HDL-C, LDL-R, CYP7A1, LPL 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 6 Effect of berberine on HMG-CoA, HDL-C, LDL-R, CYP7A1, LPL content in OA-induced HepG2 cell ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	HMG-CoA/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	HDL-C/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$	LDL-R/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	CYP7A1/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	LPL/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$
空白	-	24.25 ± 3.65	1.42 ± 0.19	156.39 ± 31.83	85.26 ± 9.65	214.94 ± 52.72
模型	-	31.83 ± 2.38 <sup>1)</sup>	0.89 ± 0.22 <sup>1)</sup>	106.30 ± 11.42 <sup>1)</sup>	58.99 ± 12.26 <sup>1)</sup>	111.70 ± 9.63 <sup>1)</sup>
黄连素	10	36.97 ± 6.89	0.96 ± 0.07	149.17 ± 34.38	64.46 ± 15.47	146.20 ± 51.89
	20	36.40 ± 7.80	1.51 ± 0.56	170.51 ± 46.70 <sup>2)</sup>	83.52 ± 23.26	122.87 ± 6.74
	40	45.49 ± 10.67	2.06 ± 0.27 <sup>3)</sup>	210.25 ± 32.81 <sup>3)</sup>	106.73 ± 31.15 <sup>2)</sup>	143.20 ± 46.06

表 4 葛根素对油酸诱导 HepG2 细胞的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 4 Effect of puerarican on OA-induced HepG2 cell ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	CHO	TG
空白	-	46.12 ± 5.57	132.99 ± 16.48
模型	-	72.21 ± 13.13 <sup>1)</sup>	296.07 ± 20.82 <sup>1)</sup>
葛根素	75	58.14 ± 9.37	251.82 ± 50.02
	150	58.62 ± 4.60	246.48 ± 17.93 <sup>2)</sup>
	300	51.34 ± 3.09 <sup>3)</sup>	230.02 ± 7.85 <sup>3)</sup>

0.05);黄连素中剂量组 LDL-R 含量明显升高 ( $P < 0.05$ ),黄连素高剂量组 HDL-C, LDL-R 和 CYP7A1 含量明显升高 ( $P < 0.05, P < 0.01$ );葛根素低剂量组 HDL-C 含量明显升高 ( $P < 0.05$ ),葛根素中剂量组 HDL-C, LDL-R 和 LPL 含量明显升高 ( $P < 0.05$ ) 且 HMG-CoA 还原酶含量明显降低 ( $P < 0.05$ ),葛根素高剂量组 HDL-C, LDL-R, CYP7A1 和 LPL 含量明显升高 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ) 且 HMG-CoA 还原酶含量明显降低 ( $P < 0.05$ )。其余各组作用不明显。见表 5 ~ 7。

#### 4 讨论

高脂血症是常见而多发的代谢和内分泌疾病之一,机体的脂质代谢涉及到外源性脂质吸收、内源性脂质合成、脂质排泄、脂质分解等多个环节,其中任何一个环节发生病理改变都会导致脂质代谢紊乱。

表 7 葛根素对油酸诱导 HepG2 细胞中 HMG-CoA, HDL-C, LDL-R, CYP7A1, LPL 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 7 Effect of puerarincan on HMG-CoA, HDL-C, LDL-R, CYP7A1, LPL content in OA-induced HepG2 cell ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	HMG-CoA/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	HDL-C/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$	LDL-R/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	CYP7A1/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	LPL/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$
空白	-	31.82 ± 4.80	1.57 ± 0.29	142.40 ± 46.52	105.83 ± 18.24	229.91 ± 69.09
模型	-	43.20 ± 6.48 <sup>1)</sup>	0.86 ± 0.045 <sup>1)</sup>	92.01 ± 9.88 <sup>1)</sup>	53.16 ± 17.98 <sup>1)</sup>	124.69 ± 31.63 <sup>1)</sup>
葛根素	75	37.13 ± 5.86	1.71 ± 0.46 <sup>2)</sup>	122.94 ± 37.90	79.09 ± 12.26	195.27 ± 81.15
	150	31.46 ± 4.80 <sup>2)</sup>	1.72 ± 0.44 <sup>2)</sup>	121.84 ± 26.16 <sup>2)</sup>	82.35 ± 15.41	201.79 ± 30.38 <sup>2)</sup>
	300	31.07 ± 4.92 <sup>2)</sup>	1.59 ± 0.08 <sup>3)</sup>	141.28 ± 32.13 <sup>2)</sup>	84.20 ± 13.79 <sup>2)</sup>	201.70 ± 22.27 <sup>3)</sup>

降血脂药物主要干预这些环节发挥降脂作用,如阻止胆酸或胆固醇从肠道吸收,促进排出;抑制胆固醇的体内合成或促进胆固醇的转化等<sup>[13]</sup>。

血清中 CHO 和 TG 含量是判定高血脂症的重要指标。Trition WR-1339 是一种非离子表面活性剂,单次腹腔或静脉注射 1 次,18 ~ 24 h 后会小鼠 CHO, TG 水平升高,造成高血脂模型<sup>[14-15]</sup>。研究结果显示,与空白组比较,模型组小鼠血清中 CHO, TG 水平升高;而双黄调脂方预防给药治疗 1 周后,可见给药高剂量组小鼠血清中 CHO 和 TG 含量都有显著降低,表明双黄调脂方具有良好的降脂效果。

为了探讨双黄调脂方发挥降脂作用的物质基础及潜在机制,在前期文献调研的基础上,进一步分析双黄调脂方发挥降脂的主要有效成分姜黄素、黄连素和葛根素对脂质代谢的影响。本实验首先采用 3 种有效成分在体外干预油酸诱导的 HepG2 细胞模型<sup>[16]</sup>,并测定了细胞中 CHO 和 TG 的含量。实验结果显示姜黄素高剂量组对油酸诱导 HepG2 细胞中 CHO 含量没有影响,黄连素高剂量组干预的油酸诱导 HepG2 细胞中 CHO 含量显著升高,葛根素高剂量组干预的油酸诱导 HepG2 细胞中 CHO 含量显著下降;姜黄素和葛根素高剂量组干预的油酸诱导 HepG2 细胞中 TG 含量显著下降,黄连素高剂量组对油酸诱导 HepG2 细胞中 TG 的含量没有影响。

HMG-CoA 还原酶, HDL-C, LDL-R, CYP7A1 以及 LPL 是脂质合成、转运、代谢过程中的重要指标。内源性胆固醇的合成是在肝脏中进行, HMG-CoA 还原酶是这一环节主要的限速酶,抑制 HMG-CoA 还原酶可降低血液中的胆固醇。体内绝大部分胆固醇通过结合到低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL) 中进行转运和代谢, LDL 受体对 LDL 的吞噬和清除是 LDL 代谢转运过程中最为关键的环节,血液中 75% 以上的 LDL 经过肝细胞表面的 LDL 受体清除,血浆中约 20% HDL-C 通过胆固醇逆转运 (reverse cholesterol transport, RCT) 途径转运到肝脏

并合成胆汁酸或直接通过胆汁排出体外,因此促进 LDL 受体途径和 RCT 途径可使血浆中胆固醇含量减少。胆汁酸是胆固醇的主要代谢去路, CYP7A1 酶是胆汁酸合成过程中的限速酶,肝细胞中胆固醇水平下降后,肝细胞膜上的 LDL 受体上调,更多的 LDL 被肝细胞摄取,也可以使血浆胆固醇下降。LPL 主要水解血浆中乳糜微粒 (chylomicron, CM) 和极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 中的 TG, 在 CM 和 VLDL 的降解中发挥重要作用,因此 LPL 活性增强可以促进血浆 TG 水解,降低血浆 VLDL 水平,进而减少 VLDL 向 LDL 的转化,从而降低血浆低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 和 CHO 水平。为了研究双黄调脂方有效成分对 CHO 和 TG 代谢影响的具体机制,本实验进一步检测了 3 种主要有效成分对油酸诱导 HepG2 细胞中 HMG-CoA 还原酶, HDL-C, LDL-R, CYP7A1 以及 LPL 含量的影响。研究结果显示,油酸诱导的 HepG2 细胞中 HMG-CoA 还原酶含量显著升高, HDL-C, LDL-R, CYP7A1 和 LPL 含量显著降低。姜黄素高剂量组能够降低油酸诱导 HepG2 细胞中 HMG-CoA 还原酶含量,但是这与实验结果所测得的细胞内 CHO 含量不变相矛盾,而实验结果又显示 HDL-C 和 LDL-R 的含量有所升高,这可能与细胞合成内源性胆固醇减少而促进 RCT 和 LDL 受体途径有关,所以综合的结果就是细胞内 CHO 含量基本不变。葛根素高剂量组能够升高 HDL-C 和 LDL-R 的含量,但这与实验所测得的细胞内 CHO 含量减少相矛盾,而实验结果又显示 HMG-CoA 含量降低, CYP7A1 含量升高,这可能是因为抑制内源性胆固醇合成和促进胆固醇转化为胆汁酸的能力比促进 RCT 和 LDL 受体途径的能力强,所以综合的结果就是细胞内 CHO 含量变少。黄连素能显著升高 HDL-C 和 LDL 受体含量,说明黄连素通过促进 RCT 和 LDL 受体途径导致细胞中的 CHO 含量升高, CYP7A1 含量的升高说明黄连素还能够促进

胆固醇转化为胆汁酸。姜黄素和葛根素能显著升高 LPL 含量,可知它们可以通过促进甘油三酯降解使甘油三酯含量减少。

综上所述,双黄调脂方有效成分姜黄素、黄连素和葛根素可通过多种途径对细胞内 CHO 和 TG 代谢进行干预,且各药干预途径不同;双黄调脂方可能是通过抑制内源性胆固醇合成、促进胆固醇转化,促进 RCT 和 LDL 受体途径,以及促进甘油三酯降解来发挥降脂的作用。

【参考文献】

[ 1 ] 谭宇卫,郑玉姣,王雅君,等. 血脂异常及动脉粥样硬化中医研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(16): 3197-3200.

[ 2 ] 吴中华,王叙德,包友枝,等. 脑血栓形成患者血脂及颈动脉粥样硬化情况的回顾性分析[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2016, 37(23): 2876-2878.

[ 3 ] 吴颖茜. 血脂水平对冠心病心力衰竭患者预后的影响[J]. 中国初级卫生保健, 2016, 30(1): 43-44.

[ 4 ] 师建平. 中医药治疗高血脂症的现状[J]. 内蒙古医学院学报, 2012, 34(5): 828-831.

[ 5 ] 郭东杰,袁肖寒,蔡曼,等. 降血脂西药与中药研究现状与展望[J]. 黑龙江医药, 2014,26(1): 31-37.

[ 6 ] 王颖,郭兰萍,黄璐琦,等. 姜黄、莪术、郁金的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国药房, 2013, 24(35): 3338-3341.

[ 7 ] 王彬辉,章文红,张晓芬,等. 姜黄素的药理及剂型

研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(5): 1102-1105.

[ 8 ] 张瑞芬,苏和. 黄连的药理研究进展[J]. 内蒙古中医药, 2010,29(3): 114-117.

[ 9 ] 张春静. 黄连药理作用研究进展概述[J]. 科技创新与应用, 2013(5): 101.

[ 10 ] 左茹,曹雪滨,张文生. 黄连素药理作用研究进展[J]. 环球中医药, 2014,7(7): 568-572.

[ 11 ] 蔡琳. 葛根的化学成分、药理及临床作用的研究进展[J]. 山东化工, 2014,43(8): 40-41.

[ 12 ] 魏述永. 葛根素心血管保护作用及其机制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015,40(12):2278-2284.

[ 13 ] 郭东杰,袁肖寒,蔡曼,等. 降血脂西药与中药研究现状与展望[J]. 黑龙江医药, 2014,26(1): 31-37.

[ 14 ] 翟羽佳,陈邦添,李善兵,等. Triton WR-1339 诱发小鼠高脂血症模型的研究[J]. 中国药理学通报, 2011,27(8): 1178-1179.

[ 15 ] Korolenko T, Cherkanova M, Tuzikov F, et al. Influence of atorvastatin on fractional and subfractional composition of serum lipoproteins and MMP activity in mice with Triton WR 1339-induced lipemia [J]. Pharm Pharmacol, 2011, 63(6): 833-839.

[ 16 ] 林晓宇,朱月永,江家骥. 油酸诱导 HepG\_2 细胞脂肪变性模型的建立[J]. 数理医药学杂志, 2015,28(1):6-8.

[责任编辑 周冰冰]