

复方姜黄微囊调脂及抗氧化作用的实验研究

曾晓会, 崔景朝*, 陈玉兴, 黄雪君, 杜铁良, 姚楠

(广东省中医研究所, 广州 510095)

[摘要] **目的:**考察复方姜黄微囊调脂、抗氧化及保护血管内皮功能的药理作用,与单独应用姜黄素微囊相比,评价复方姜黄微囊的综合效应。**方法:**将大鼠随机分为空白组和模型组,按比例制备高脂饲料,喂养 1 个月复制慢性高脂血症模型,后将模型组分为阳性对照(0.099 g·kg⁻¹)、复方姜黄微囊高(0.144 + 0.007 2 g·kg⁻¹)、低剂量组(0.072 + 0.003 6 g·kg⁻¹),以及姜黄素微囊高(0.144 g·kg⁻¹)和低剂量组(0.072 g·kg⁻¹),连续灌胃给药 8 周后,按试剂盒说明检测动物血清中脂质的含量,采用硫代巴比妥酸(TBA)测定法测定丙二醛含量(MDA),硝酸还原酶法测定一氧化氮(NO)含量,及酶联免疫法(ELISA)测定内皮素-1(ET-1)含量等,运用方差分析和非参数检验处理数据。**结果:**与模型组相比,复方姜黄微囊高、低剂量组均显著降低胆固醇[TC(3.91 ± 0.72), (4.15 ± 0.73) mmol·L⁻¹]、甘油三酯[TG, (1.07 ± 0.15), (1.09 ± 0.16) mmol·L⁻¹], ET-1[(4.05 ± 0.42), (4.77 ± 0.50) μmol·L⁻¹]和 MDA[(5.865 ± 2.140), (6.250 ± 1.158) μmol·L⁻¹]的含量,升高 NO[(20.14 ± 1.97), (19.85 ± 1.72) μmol·L⁻¹]含量和超氧化物歧化酶[SOD, (279.240 ± 20.838), (274.604 ± 12.328) U·L⁻¹]、谷胱甘肽过氧化物酶[(GSH-PX), (41.31, 39.07) U·L⁻¹]的活性。与单用姜黄素微囊相比,复方姜黄微囊药理作用有显著提高。**结论:**复方姜黄微囊有明显调脂、抗氧化、改善内皮功能的作用,其综合效应明显优于单独应用姜黄素,可能成为物质基础清楚、疗效显著的新型调脂和抗 AS 的中药新药。

[关键词] 复方姜黄微囊; 调脂; 抗氧化

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0210-04

Study on to Regulating Lipid and and Antioxidation by Compound Curcumin Microcapsule

ZENG Xiao-hui, CUI Jing-chao*, CHEN Yu-xing, HUANG Xue-jun, DU Tie-liang, YAO Nan
(Guangdong Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the regulating lipid antioxidation by compound curcumin microcapsule. **Method:** hyperlipidemia animal model was established, the level t of malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), endothelin (ET-1) etc were measured. **Result:** Compared with the model group, the low-dose group decreased significantly thelevelof total cholesterol (TC), Total triglyceride (TG), ET-1 and the MDA, increased the NO content and superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) activity, ; the high dose group also reduced the TC, TG content, increased SOD and GSH-Px activity, but which have no obvious influence on the content of MDA, NO and ET-I. Compared with curcumin microcapsules, the compound had the pharmacological effects more significantly. **Conclusion:** The compound microcapsule has significant regulation of the lipid metabolism and antioxidative reaction, the d effect is significantly superior to the single application of curcumin.

[Key words] compound Curcumin microcapsule; regulate fat metabolism; antioxidant

姜黄素的药理作用很多,包括促进脂蛋白的代谢^[1]、改善内皮功能^[2]、抗 AS^[3]、抗肝纤维化^[4]、抗

[收稿日期] 20120711(006)

[基金项目] 广东省中医药局项目(2010268);广州市科技局项目(2010Y1-C761);广东省自然科学基金项目(S2011010005928)

[通讯作者] * 崔景朝,主任中药师,国务院政府津贴专家,从事中药药理学研究, Tel:020-83576735, E-mail:c-j-c@21.cn.com

菌^[5]及抗炎^[6]等作用。但由于姜黄素的理化性质、及肠道代谢迅速等特点,导致其生物利用度差等问题,至今没有一个姜黄素有效成分的新药得以成功开发。前期研究中,我们将姜黄素与已知的肝肠内葡萄糖醛酸苷酶抑制剂——胡椒碱合用,并通过制成固体分散剂以增加其水溶性,采用微囊化技术以增加其稳定性,促进姜黄素的吸收,提高生物利用度^[7]和疗效。

本实验在前期的基础上,开展复方姜黄微囊与单独应用姜黄素的调脂、抗氧化应激和改善内皮功能等方面的比较研究,以期评价姜黄素加上胡椒碱组成的复方作用的优势,明确复方姜黄微囊调脂及防治动脉粥样硬化引起的心脑血管疾病的药理作用,并为中药的多靶点、多环节的作用特点提供科学依据。

1 材料

1.1 药品及对照品 姜黄素(购于四川金郁金科技开发有限公司,纯度98%),复方姜黄微囊(姜黄素:胡椒碱=20:1,由广东省中医研究所化学分析研究室提供,批号20110309),非诺贝特胶囊(法国利博福尼制药公司,批号93640),血脂康胶囊(北京北大维信生物科技有限公司,批号20090210)。

1.2 试剂 胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)试剂盒(批号20100912,20100907,上海科欣生物技术研究);谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)试剂盒(批号20100829),超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号20100812),丙二醛(MDA)试剂盒(批号20100703),一氧化氮(NO)试剂盒(批号20100801),均由南京建成生物工程研究所提供;大鼠内皮素-1(ET-1)ELISA试剂盒(批号20100907)由上海恒盛生物科技有限公司提供。

1.3 仪器 3K30离心机(Sigma公司,美国)752N型紫外分光光度计(上海精密科学仪器有限公司),7020+ID型生化分析仪(日立公司,日本)。

1.4 动物 SPF级SD大鼠,雌雄各半,体重180~220g,由广东省医学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号SCXK(粤)2008-0002。动物实验环境:广东省中医研究所SPF级动物实验室,设施使用许可证号SYXK(粤)2005-0059。

2 方法

2.1 造模与分组 取SPF级SD大鼠70只,雌雄各半,随机分为正常对照组、模型对照组,正常组给予普通饲料,模型组给予高脂饲料^[5],连续1个月后,取血测定血脂水平,将血脂水平明显上升的动物

随机分组为模型对照组、非诺贝特组(0.099 g·kg⁻¹)、复方姜黄微囊高(0.144+0.0072 g·kg⁻¹)、低剂量组(0.072+0.0036 g·kg⁻¹),以及姜黄素微囊高(0.144 g·kg⁻¹)和低剂量组(0.072 g·kg⁻¹),分组后各组大鼠按10 mL·kg⁻¹给予相应药物,正常对照组、模型对照组给予等体积蒸馏水,每天1次,连续8周。

2.2 检测指标 结束实验前各组大鼠均禁食不禁水16h,末次给药1h后摘眼球取血,2 mL血液放入洁净试管中,2 000 r·min⁻¹离心10 min分离血清,分别测定TC, TG, GSH-Px, SOD, MDA, NO和ET-1含量。

2.3 统计方法 计量资料多组间均数的比较先采用单因素方差分析,方差齐时,以均值加减标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间的均数两两比较用SNK法;方差不齐时,以平均秩次、下四分位数、中位数和上四分位数 $\bar{R}(P_{25}, P_{50}, P_{75})$ 表示。

3 结果

3.1 对高脂血症大鼠模型血清血脂水平的影响 与模型组相比,复方姜黄微囊高、低剂量组和阳性药显著降低TC, TG, LDL-C的含量,升高了HDL-C含量($P < 0.05 \sim P < 0.01$);姜黄素高、低剂量组也有明显降低TC, TG的作用($P < 0.05$)。在降低TC, LDL-C含量和升高HDL-C水平方面,复方高剂量组与姜黄素高剂量组相比,复方低剂量组与姜黄素低剂量组相比,均有显著性差异($P < 0.05$)。在降低TG水平方面,复方姜黄微囊高剂量组与姜黄素高剂量组相比,也有显著性差异($P < 0.05$)。见表1。

3.2 抗氧化作用 与模型组相比,复方姜黄微囊高、低剂量组均能明显降低MDA含量($P < 0.05 \sim P < 0.01$),显著升高GSH-Px和SOD活性($P < 0.05$);姜黄素微囊高剂量组也有升高GSH-Px和SOD活性的药理作用,但对MDA含量无显著性降低作用。复方姜黄微囊高剂量组与姜黄素高剂量组相比,复方姜黄微囊低剂量组与姜黄素低剂量组相比,在降低MDA含量、升高GSH-Px和SOD活性方面均有显著性差异($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。见表2~3。

3.3 对高脂血症大鼠血清NO, ET-1含量的影响 与模型对照组相比,复方姜黄微囊的高、低剂量组均能明显降低高脂血症模型大鼠血清ET-1含量,升高NO含量($P < 0.01$)。复方姜黄微囊高剂量组与姜黄素高剂量组相比,复方低剂量组与姜黄素低剂量组相比,均有显著性差异($P < 0.05$)。

表 1 复方姜黄微囊和姜黄素微囊对高脂血症大鼠血清血脂水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

mmol·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TC	TG	LDL-C	HDL-C
正常对照	-	2.15 ± 0.22	0.79 ± 0.13	1.97 ± 0.62	2.04 ± 0.48
模型对照	-	7.03 ± 0.61	1.65 ± 0.21	5.21 ± 0.50	1.00 ± 0.25
非诺贝特	0.099	3.47 ± 0.81 ²⁾	1.11 ± 0.20 ²⁾	3.48 ± 0.92 *	1.70 ± 0.42 *
复方姜黄微囊	0.144 + 0.007 2	3.91 ± 0.72 ^{2, 3)}	1.07 ± 0.15 ³⁾	2.84 ± 0.88 ^{2, 4)}	2.10 ± 0.45 ^{2, 4)}
	0.072 + 0.003 6	4.15 ± 0.73 ^{2, 5)}	1.09 ± 0.16 ^{2, 5)}	3.27 ± 0.72 ^{2, 6)}	1.94 ± 0.45 ^{2, 6)}
姜黄素微囊	0.144	4.58 ± 0.44 ²⁾	1.21 ± 0.19 ²⁾	4.90 ± 1.16	1.18 ± 0.48
	0.072	6.06 ± 0.74	1.32 ± 0.17 ¹⁾	4.72 ± 1.42	1.20 ± 0.38

注:与模型组相比¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01;与姜黄素高剂量相比³⁾P < 0.05, ⁴⁾P < 0.01;与姜黄素低剂量相比⁵⁾P < 0.05, ⁶⁾P < 0.01;复方姜黄微囊中姜黄素:胡椒碱 = 20:1(表 2~4 同)。

表 2 复方姜黄微囊、姜黄素微囊对高脂血症大鼠血清 SOD 活性及 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	SOD /U·L ⁻¹	MDA /μmol·L ⁻¹
正常对照	-	266.951 ± 23.113	6.111 ± 1.211
模型对照	-	237.457 ± 37.111	7.692 ± 0.937
非诺贝特	0.099	228.659 ± 28.747	6.207 ± 1.001 ¹⁾
复方姜黄微囊	0.144 + 0.007 2	279.240 ± 20.838 ^{1, 3)}	5.865 ± 2.140 ^{1, 3)}
	0.072 + 0.0036	274.604 ± 12.328 ^{1, 6)}	6.250 ± 1.158 ^{1, 5)}
姜黄素微囊	0.144	258.850 ± 43.722 ¹⁾	6.709 ± 1.137
	0.072	208.299 ± 35.671	7.051 ± 0.942

表 3 复方姜黄微囊、姜黄素微囊对高脂血症大鼠 GSH-Px 的影响 R(n = 10) P25, P50, P75

组别	剂量/g·kg ⁻¹	GSH-Px/U·L ⁻¹
正常对照	-	45.29(702.40, 728.34, 750.56)
模型对照	-	22.10(389.76, 475.10, 671.20)
非诺贝特	0.099	38.42(688.20, 705.46, 751.76) ²⁾
复方姜黄微囊	0.144 + 0.007 2	41.31(660.37, 718.78, 763.41) ^{2, 3)}
	0.072 + 0.003 6	39.07(692.38, 709.21, 729.43) ^{2, 6)}
姜黄素微囊	0.144	31.30(670.02, 700.21, 768.83) ¹⁾
	0.072	21.07(501.48, 651.32, 724.03)

4 讨论

高脂血症可诱发氧化应激,产生大量活性氧和自由基、脂质过氧化物^[8-11],从而损伤机体抗氧化能力。现代医学研究还认为保护血管内皮的完整性和功能是抑制斑块形成的关键^[12],NO 是一种血管内皮舒张因子,ET-1 有收缩血管、促进血管平滑肌增生的作用^[13]。因此,调节血脂水平,改善机体的抗氧化能力已成为防治心脑血管疾病重要措施之一。实验结果显示,复方姜黄微囊能明显降低血清 TC,

表 4 复方姜黄微囊、姜黄素微囊

对高脂血症大鼠血清 NO、ET-1 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

μmol·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NO	ET-1
正常对照	-	25.50 ± 1.95	3.14 ± 0.62
模型对照	-	14.85 ± 2.03	7.51 ± 0.54
非诺贝特	0.099	15.03 ± 1.84	6.97 ± 0.39
复方姜黄微囊	0.144 + 0.007 2	20.14 ± 1.97 ^{2, 4)}	4.05 ± 0.42 ^{2, 4)}
	0.072 + 0.003 6	19.85 ± 1.72 ^{2, 6)}	4.77 ± 0.50 ^{2, 5)}
姜黄素微囊	0.144	15.06 ± 2.09	6.08 ± 0.47
	0.072	15.23 ± 2.08	6.17 ± 0.43

TG, LDL-C 水平,提高 HDL-C 水平,提示其有明显的调脂作用,且通过调脂治疗后,MDA 水平明显下降。此外,复方姜黄微囊有提高 SOD 和 GSH-PX 活性的作用,由此可增加 HDL 和 LDL 的抗氧化能力,减少 MDA 的产生,并通过抑制 ET-1 和促进 NO 释放对抗血管收缩,达到预防 AS 形成的目的。

与单独应用姜黄素相比,复方姜黄微囊的调脂效应、抗氧化能力及保护内皮损伤等综合效应明显提高,进一步提示这可能与胡椒碱抑制肝肠内葡萄糖醛酸苷酶活性,降低姜黄素代谢,提高姜黄素生物利用度有关。通过本实验的研究,有助于为姜黄素和胡椒碱组方提供实验依据,为将复方姜黄微囊开发为有效物质明确、作用机理清楚、临床安全有效、质量稳定可控的创新药物提供实验依据,也可为降脂中药新药的研发提供参考,探索出一套适合于中药新药研究的新思路和方法。

[参考文献]

- [1] 沃兴德,崔小强,唐利华.姜黄素对食饵性高脂血症大鼠血浆脂蛋白代谢相关酶活性的影响[J].中国动脉硬化杂志,2003,7(4):339.

药用植物中乙酰胆碱酯酶抑制活性和抗氧化活性的筛选

杨赞¹, 刘敏^{1*}, 李建¹, 张玉强², 陆亮³

(1. 防化学院, 北京 102205; 2. 汕头大学理学院生物系, 广东 汕头 515063;
3. 新疆农业大学食品科学与药学学院, 乌鲁木齐 830052)

[摘要] 目的:对 24 种药用植物醇提物的乙酰胆碱酯酶抑制活性和抗氧化活性进行筛选研究。方法:70% 乙醇回流提取植物粗提物;目标粗提物采用氯仿、乙酸乙酯、正丁醇依次萃取,得到氯仿、乙酸乙酯、正丁醇和水部位;乙酰胆碱酯酶抑制活性测定采用改良的 Ellman 法和薄层色谱(TLC)生物自显影法相结合的方法;抗氧化活性采用清除 DPPH 自由基能力进行评价。结果:结合改良 Ellman 法和 TLC 生物自显影法对 24 种植物的醇提物的抗乙酰胆碱酯酶抑制活性进行评价,结果表明红毛七、金不换、飞龙掌血、白花映山红和八角枫 5 种植物粗提物具有显著的抑制活性,在终浓度为 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,其抑制率分别为 $(88.72 \pm 1.47)\%$, $(82.25 \pm 1.32)\%$, $(77.71 \pm 1.61)\%$, $(77.00 \pm 1.38)\%$, $(75.22 \pm 1.28)\%$, 其清除 DPPH 自由基 IC_{50} 分别为 $153.75, 74.95, 50.00, 10.87, 24.40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在这 5 种植物粗提物不同萃取部位中,红毛七和金不换氯仿部位对乙酰胆碱酯酶抑制活性最强,其 IC_{50} 为 $33.97, 38.79 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 其清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 为 $302.95, 79.45 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结论:金不换和红毛七粗提物氯仿部位具有较强的乙酰胆碱酯酶抑制活性和抗氧化活性,可进行进一步的追踪分离研究。

[关键词] 药用植物; 抗乙酰胆碱酯酶活性; 抗氧化性; 老年性痴呆

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0213-06

[收稿日期] 20120826(017)

[基金项目] 海南三亚市专项科研试制项目(2011ks 15)

[第一作者] 杨赞,在读硕士研究生,从事生化药理研究, Tel: 010-66756378, E-mail: yangyun074@sina.com

[通讯作者] * 刘敏,博士,教授,从事药理毒理研究, Tel: 010-66756378, E-mail: liumin99999@sina.com

- [2] 孙秀才,冯建章,斐晓阳,等. 姜黄素对食高脂饲料家兔血管内皮功能的保护作用[J]. 岭南医学杂志, 2004, 10(1):60.
- [3] Bharti A C, Donato N, Sing S, et al. Curcumin (diferuloylmethane) down-regulates the constitutive activation of nuclear factor-kappa B and Ikappa Balpha kinase in human multiplemyeloma cells, leading to suppression of proliferation and induction of apoptosis [J]. Blood, 2003, 101(3):1053.
- [4] 赵珍东. 姜黄素抗肝纤维化作用及机理研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(03):122.
- [5] 钟益宁,甄汉深,滕建北,等. 姜黄素衍生物的合成、表征及其体外抗菌活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 12(2):46.
- [6] 覃葆,谢金鲜,杨海玲,邓欢,等. 不同炮制方法对广西莪术姜黄素成分及镇痛抗炎的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10):35.
- [7] 曾晓会,陈玉兴,赵自明,等. 姜黄素微囊在大鼠体内的药代动力学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(2):107.
- [8] 胡颖军,张进朝,王岚,等. 银丹心脑血管软胶囊对高脂血症大鼠血脂和血管内皮分泌物质的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21):162.
- [9] 王左,张春燕. 还原注射液对急性脑出血大鼠脑组织中乳酸、 Ca^{2+} 及自由基代谢的影响[J]. 中医杂志, 2000, 41(2):106.
- [10] Yokoyama M. Oxidant stress and atherosclerosis [J]. Curr Opin Pharmacol, 2004, 4(2):110.
- [11] 李丹,李玉洁,杨庆,等. 氧化应激与心血管疾病的关系研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10):60.
- [12] 李丹,李玉洁,杨庆,等. 血管内皮功能障碍与动脉粥样硬化研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8):272.
- [13] 王蕊,李景君,徐京育. 复方丹参饮对胰岛素抵抗型大鼠血管内皮细胞一氧化氮及内皮的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2010, 8(2):191.

[责任编辑 聂淑琴]