

忍冬叶黄酮-磷脂复合物的降血脂作用

姜洪芳^{1,2}, 石宝俊², 赵伯涛², 张玖², 张卫明^{1,2*}

(1. 南京师范大学, 南京 210046; 2. 南京野生植物综合利用研究院, 南京 210042)

[摘要] **目的:** 研究忍冬叶黄酮-磷脂复合物对高脂饲料喂养鹌鹑高血脂症的影响。**方法:** 健康雄性鹌鹑 80 只, 随机分成 6 组, 任意取 1 组设定为正常对照组喂以基础饲料, 其他 5 组均喂高脂饲料, 12 d 后检测动物颈静脉血清总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)含量, 确定已经造成高血脂模型后, 喂食含忍冬叶总黄酮(20 mg·kg⁻¹·d⁻¹)、忍冬叶黄酮-磷脂复合物高、低剂量(80, 20 mg·kg⁻¹·d⁻¹)的高脂饲料, 45 d 后检测颈静脉血清 TC, TG, 高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C), 低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量及肝脏中脂肪含量; 观察肝组织切片。**结果:** 与高脂模型组比较, 忍冬叶黄酮-磷脂复合物高、低剂量组(80, 20 mg·kg⁻¹)对血清 TC 降低作用明显, 降低率分别为 55.58%, 24.91%, 剂量间有高度显著性差异($P < 0.01$); 忍冬叶黄酮-磷脂复合物能减轻肝细胞水肿和脂肪浸润, 使肝脏脂肪含量显著下降($P < 0.05$)。**结论:** 忍冬叶黄酮-磷脂复合物具有降血脂和抗脂肪肝作用。

[关键词] 总黄酮; 黄酮-磷脂复合物; 忍冬; 高血脂症; 脂肪肝

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)18-0165-04

Effect of Flavonoid-phospholipid Complex from *Lonicera japonica* on Hyperlipidemia

JIANG Hong-fang^{1,2}, SHI Bao-jun², ZHAO Bo-tao², ZHANG Jiu², ZHANG Wei-ming^{1,2*}

(1. Life Science Institute of Nanjing Normal University, Nanjing 210046 China;

2. Nanjing Institute for the Comprehensive Utilization of Wild Plants, Nanjing 210042, China)

[Abstract] **Objective:** To study the lipid-lowering effects on flavonoid-phospholipid complex from *Lonicera japonica* Thunb in quails fed with high lipid food. **Method:** Eighty quails were randomly divided into 6 groups, one normally fed control group and other 5 groups. The quails in the 5 groups were fed with high lipid food for 12 days

[收稿日期] 20101227(012)

[基金项目] 中华全国供销合作总社社会发展项目(2008GYF0815)

[第一作者] 姜洪芳, 副研究员, 从事植物有效物质开发利用研究, Tel: 025-85472692, E-mail: jhf74@163.com

[通讯作者] * 张卫明, 研究员, 博导, 主要研究植物活性成分开发与应用, E-mail: botanyzh@163.com

[9] C C Hsieh, Makoto Kuro-o, Kevin P Rosenblatt. The ASK1-Signalosome regulates p38 MAPK activity in response to levels of endogenous oxidative stress in the Klotho mouse models of aging[J]. Aging (Albany NY), 2010, 2(9): 597.

[10] Hsieh H L, Wang H H, Wu W B, et al. Transforming growth factor- β_1 induces matrix metalloproteinase-9 and cell migration in astrocytes; roles of ROS-dependent ERK and JNK-NF- κ B pathways [J]. J Neuroinflammation, 2010, 6(7): 88.

[11] Aravindakshan J, Cyr D G. Nonylphenol alters connexin 43 levels and connexin 43 phosphorylation via an inhibition of the p38-mito gen-activated protein kinase pathway[J]. Biol Rep Rod, 2005, 72(5): 1232.

[12] Abdelmohsen K, von Montfort C, Stuhlmann D, et al. Doxorubicin induces EGF receptor-dependent downregulation of gap junctional intercellular communication in rat liver epithelial cells [J]. Biol Chem, 2005, 386(3): 217.

[责任编辑 聂淑琴]

to form hyperlipidemic model, then fed with high fat diet continuously for 45 days. During the later 45 days, the model group was fed with normal saline, the other 3 treatment groups were treated with flavonoid ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), flavonoid-phospholipid complex from *L. japonica*. (80 or $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) accordingly. The levels of total cholesterol (TC), triglycerides (TG), HDL-C, LDL-C in serum and the fatty content in liver of the quails with hyperlipidemia were measured. **Result:** The high lipid food remarkably increased plasma content of TC ($P < 0.01$), TG ($P < 0.01$) and the fatty content in liver. Flavonoid-phospholipid complex from *L. japonica*. could remarkably reduce TC level in serum and the degree of pathological changes in liver cells of the hyperlipidemic model. **Conclusion:** Flavonoid-phospholipid complex from *L. japonica*. has the effects on decreasing the level of serum lipids and protecting the liver against fatty accumulation.

[**Key words**] total flavonoid; flavonoid-phospholipid complex; *Lonicera japonica*; hyperlipidemia; fatty liver

忍冬 *Lonicera japonica* Thunb 是我国重要的传统药用植物,花、藤、叶均可入药,功能相近,具有抗病原微生物、清热解毒、保肝利胆功效^[1]。其含有绿原酸、黄酮、苷类、环烯醚萜苷等多种化学成分,其中的黄酮类化合物主要有木犀草素、木犀草素-7-O- β -D-半乳糖苷、5-羟基-7,3',4',5'-四甲氧基黄酮、5-羟基-7,4'-三甲氧基黄酮、5-羟基-7,4'-二甲氧基黄酮、槲皮素、忍冬苷,具有降脂、调脂、抗氧化及改善微循环等多种活性,能显著降低多种模型小鼠血清胆固醇(TC)及动脉粥样硬化指数,提高高密度脂蛋白(HDL-C)含量,但其溶解性不好,导致体内吸收及生物利用度低。磷脂是具有亲水基与亲油基的双分子膜结构,将忍冬叶黄酮制备成磷脂复合物可以增加脂溶性,更好的通过细胞膜进入组织中,从而有效提高体内吸收,以改善生物利用度。本实验以高脂饲料喂养的鹌鹑为材料,同时造成高血脂和脂肪肝动物模型,研究忍冬叶黄酮及黄酮-磷脂复合物对血脂代谢和肝脏脂肪代谢功能的影响。

1 材料

1.1 药物 忍冬总黄酮(总黄酮含量为 50%),忍冬叶黄酮-磷脂复合物(自制)简称黄酮复合物,总黄酮含量 30%),为棕褐色粉状物,配成适当浓度的溶液。血脂康胶囊,为北大维信生物科技有限公司产品(批号 20090325),去囊壳,粉碎过 60 目筛。胆固醇,由湖南衡阳祁东同信生化厂生产(批号 20081215);猪油为市售品。

1.2 动物 雄性鹌鹑,德国种,出壳 22 d,体重 80 ~ 100 g,购于南京城郊某养殖场。

1.3 饲料 基础饲料:鹌鹑专用配合饲料,市售。高脂饲料:15% 猪油,1% 胆固醇,84% 基础饲料组成^[2]。

1.4 试剂与仪器 TC 试剂盒(批号 090403)、TG 试剂盒(批号 090408)、HDL-C 试剂盒(批号 090513)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒(批号 090417)由罗氏公司提供。罗氏 ModularP800 自动生化分析仪。

2 方法

2.1 实验性高脂血症的建立 取鹌鹑 80 只,随机分成 6 组,每组 12 ~ 14 只。任意取 1 组设定为正常对照组喂以基础饲料,其他 5 组均喂高脂饲料。12 d 后颈静脉取血测定血脂,剔除个别血脂过低的动物以尽量减少个体差异对实验结果的影响;然后将这 5 组已完成预造型的高脂饲料组随机确定为高脂模型组、血脂康组、忍冬总黄酮和黄酮复合物高、低剂量组。高脂模型组继续喂高脂饲料,血脂康组喂食含血脂康($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)细粉的高脂饲料,忍冬叶黄酮组喂食 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 总黄酮提取物的高脂饲料,黄酮复合物高、低剂量组分别喂食含 80, 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 黄酮-磷脂复合物溶液 60 °C 烘干的高脂饲料,任意采食和饮水。

2.2 血脂测定 连续给药 45 d,颈静脉取血分别测定血清中 TC, TG, HDL-C, LDL-C, 然后处死动物,取出肝脏,观察肝脏脂肪变形程度,并以溶剂法测定肝脏中的脂肪含量。实验结果比较用 *F* 检验。

2.3 肝脏组织切片和脂肪染色^[3] 取各组鹌鹑肝脏组织于 10% 甲醛溶液中固定。经过取材、脱水、浸蜡、包埋,切成 4 μm 厚的切片,用苏木精-伊红(HE)染色,光镜观察切片脂质染色的深浅和分布情况。“-”肝细胞内无明显脂肪空泡,“+”肝细胞内散在少数脂肪空泡,“++”肝细胞内弥散小脂肪空泡,“+++”肝细胞内弥散小脂肪空泡并伴有大脂肪空泡。

2.4 肝脏中脂肪的测定^[4] 称取肝脏 2.5 g 左右,切成小块,加入 12 倍的氯仿-甲醇(2:1 即 CM 液)混合液,65 ℃ 水浴回流 1 h,过滤,滤液经 80 ℃ 常压回收溶剂后,加入无水乙醇减压蒸干,加入 9 倍石油醚(60~90 ℃)回流 1 h,过滤,常压蒸干溶剂,100 ℃ 烘 30 min,残留物即为肝脏中所含的脂肪,准确称量。

2.5 统计学方法 应用 SPSS 11.5 统计软件对实验结果分析处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 F 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 给药前各组血脂及体重测定 由表 1 可以看出,鹌鹑通过喂食 12 d 的高脂饲料,血脂升高幅度接近,已经成功地形成了高脂血症动物模型,其中也有个别动物的血脂水平响应迟缓的,在本试验中按规则予以剔除。

3.2 给药 45 d 后血脂及体重测定 与高脂模型组比较 忍冬叶黄酮-磷脂复合物高、低剂量组降 TC 作用有显著性差异($P < 0.01$);忍冬叶黄酮-磷脂复合物高剂量组降低 TC 作用比血脂康组强($P < 0.01$)(表 2)。

表 1 给药前各组血脂及体重检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别(n)	TG/mm \cdot L ⁻¹	TC/mm \cdot L ⁻¹	HDL-C/mm \cdot L ⁻¹	LDL-C/mm \cdot L ⁻¹	体重/g
正常对照(12)	1.15 \pm 0.35	4.85 \pm 0.70	2.86 \pm 0.54	0.69 \pm 0.13	138.55 \pm 17.61
高脂模型 1(13)	3.74 \pm 1.03 ¹⁾	34.75 \pm 3.95 ¹⁾	4.87 \pm 0.65 ¹⁾	11.45 \pm 1.99 ¹⁾	147.93 \pm 11.87 ¹⁾
高脂模型 2(13)	3.84 \pm 1.17 ¹⁾	34.05 \pm 4.38 ¹⁾	4.81 \pm 0.63 ¹⁾	11.34 \pm 2.07 ¹⁾	147.60 \pm 12.71 ¹⁾
高脂模型 3(12)	3.73 \pm 1.21 ¹⁾	34.57 \pm 4.44 ¹⁾	4.80 \pm 0.61 ¹⁾	11.68 \pm 2.19 ¹⁾	146.87 \pm 10.38 ¹⁾
高脂模型 4(13)	3.44 \pm 1.15 ¹⁾	33.90 \pm 3.87 ¹⁾	4.84 \pm 0.68 ¹⁾	11.24 \pm 1.89 ¹⁾	146.93 \pm 11.88 ¹⁾
高脂模型 5(12)	3.52 \pm 1.23 ¹⁾	34.48 \pm 4.57 ¹⁾	4.75 \pm 0.56 ¹⁾	11.46 \pm 1.73 ¹⁾	145.74 \pm 10.53 ¹⁾

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.01$ 。

表 2 给药后各组血脂及体重检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别(n)	剂量/mg \cdot kg ⁻¹	TG/mm \cdot L ⁻¹	TC/mm \cdot L ⁻¹	HDL-C/mm \cdot L ⁻¹	LDL-C /mm \cdot L ⁻¹	体重/g
正常对照(11)	-	1.56 \pm 0.32 ¹⁾	5.66 \pm 0.75 ²⁾	3.91 \pm 0.47 ²⁾	0.77 \pm 0.32 ²⁾	190.52 \pm 17.61 ²⁾
高脂模型(11)	-	5.96 \pm 2.94	73.55 \pm 9.76	6.43 \pm 1.75	11.21 \pm 3.67	213.09 \pm 15.78
总黄酮(10)	20	5.73 \pm 2.54	58.38 \pm 12.42 ¹⁾	5.67 \pm 1.23	11.07 \pm 3.48	210.72 \pm 11.43
黄酮复合物(10)	20	4.27 \pm 2.77	55.53 \pm 20.86 ¹⁾	5.88 \pm 1.09	10.86 \pm 3.50	201.33 \pm 10.30
黄酮复物(11)	80	4.43 \pm 2.81	32.67 \pm 1.72 ^{2,3)}	6.14 \pm 0.83	10.80 \pm 4.10	212.21 \pm 20.15
血脂康(11)	200	5.89 \pm 2.25	45.19 \pm 13.03 ²⁾	6.04 \pm 1.02	10.98 \pm 2.21	209.78 \pm 13.72

注:与高脂模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与血脂康组比较³⁾ $P < 0.01$ (表 3 同)。

3.3 对肝脏的影响

3.3.1 大体解剖内脑观察 正常对照组肝脏色泽鲜红,质地较均匀;高脂模型组鹌鹑的肝脏外观呈肥大状,边缘钝而厚,表面光滑,质如面团,色泽苍白或带灰黄色;忍冬叶黄酮-磷脂复合物高剂量组(80 mg \cdot kg⁻¹)的肝脏,脂肪浸润状态较高脂损伤组有明显好转,肝脏质量系数、肝脏中脂肪含量均有较明显降低($P < 0.05$),与血脂康组没有明显差异。

3.3.2 光镜检测 正常对照组的肝组织切片被均匀

染成红色,蓝色的核位于细胞的中央,结构清晰,肝细胞索排列整齐;高脂模型组的肝组织切片染色不均匀,肝细胞中有大量白色脂肪泡出现,细胞严重肿胀和脂肪变性,肝细胞索排列松散。忍冬叶黄酮-磷脂复合物组的肝组织切片染成淡紫红色,肝细胞中脂类物质的沉着较高脂损伤组少,肝细胞肿胀程度减轻,肝细胞索排列较高脂损伤组整齐和紧密。见表 3。

4 讨论

通过先形成实验性高血脂模型,可以剔除个别

对高脂肪饲料不敏感的动物,保证了实验结果的准确性,上述实验证明鹌鹑喂食高脂饲料 12 d,血清中

TC, TG, HDL-C, LDL-C 分别是正常对照组的 3,7,1.6,16 倍,已经形成高脂损伤模型。

表 3 忍冬叶黄酮-磷脂复合物对肝脏变性、肝重系数及肝脏脂肪含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别(n)	剂量/mg·kg ⁻¹	肝脂肪变性程度/例				肝重系数/%	肝脏脂肪含量/%
		-	+	++	+++		
正常对照(11)	-	6	2	0	0	1.58 ± 0.28 ²⁾	9.78 ± 2.44 ²⁾
高脂模型(11)	-	0	2	2	4	3.01 ± 0.68	23.41 ± 3.58
总黄酮(10)	20	1	3	2	2	2.55 ± 0.43 ¹⁾	19.95 ± 2.48
黄酮复合物(10)	20	1	3	3	1	2.46 ± 0.51 ¹⁾	19.13 ± 2.53 ¹⁾
黄酮复合物(11)	80	2	4	2	0	2.43 ± 0.47 ¹⁾	17.38 ± 3.27 ¹⁾
血脂康(11)	200	0	2	4	2	2.42 ± 0.58 ¹⁾	20.30 ± 2.61

由高脂模型组肝脏切片观察到脂滴在细胞质内大量积累,并把细胞核挤到细胞边缘,肝脏中脂肪含量是正常对照组的 2.5 倍,上述现象均为脂肪肝症状。通过喂高脂饲料造成的肝脏脂肪积累,与日常生活中由于脂肪及糖类摄入过多而引发的脂肪肝病例较为相似,因此该模型适合脂肪肝发病机制和防治措施的研究。

鹌鹑喂食忍冬叶黄酮-磷脂复合物高、低剂量组降 TC 作用有显著性差异($P < 0.01$),忍冬叶黄酮-磷脂复合物高剂量组与忍冬叶总黄酮组有差异($P < 0.05$);鹌鹑喂食忍冬叶-磷脂黄酮复合物 20, 80 mg·kg⁻¹45 d 后,肝脏质量系数、肝脏中脂肪含量均有较明显降低($P < 0.05$),肝组织切片镜检可见用药组的肝脂肪变性程度较高脂模型组明显减轻。实验结果提示,忍冬叶黄酮-磷脂复合物不仅具有较

强的降血脂作用,同时也是一种良好的抗脂肪肝药物。

[参考文献]

[1] 郑占虎,黄泽宏,余靖. 中药现代研究与应用(第三卷)[M]. 北京:学苑出版社,1998:2935.
 [2] 张红锋,徐曼艳. 茶多酚对高脂鹌鹑的血脂和肝细胞贮酯水平的影响[J]. 中国药学杂志,2002,37(5):342.
 [3] 熊绪余. 组织学标本制作技术[M]. 武汉:湖北医学院出版社,1979:94,323.
 [4] 穆华荣,于淑萍. 食品分析[M]. 北京:化学工业出版社,2004:54.
 [5] 陈会良,顾有方. 中草药化学成分与降血脂功能的研究进展[J]. 中国中医药科技,2006,13(4):287.

[责任编辑 聂淑琴]