

大蒜素降血脂作用及其机理研究

张庭廷^{1*}, 童希琼², 刘锡云³

(1. 安徽师范大学生命科学学院安徽省重要生物资源保护与利用重点实验室, 安徽 芜湖 241000; 2. 安徽师范大学附属医院, 安徽 芜湖 241000; 3. 芜湖市天云生物科技有限公司, 安徽 芜湖 241000)

[摘要] 目的: 探讨大蒜素的降血脂作用及其机理。方法: 将 50 只昆明种小鼠随机分成 5 组, 对照组、高脂饲料组(模型组)、大蒜素小、中、大剂量+高脂饲料组。测定大蒜素对血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)以及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的影响。测定大蒜素对血清卵磷脂胆固醇脂酰基转移酶(LCAT)、心肌脂蛋白脂酶(LPL)、肝脂酶(HL)活性的影响以及体外对肝脏 3-羟基-3-甲基戊二酰 CoA(HMG-CoA)还原酶活性的影响。离体胆固醇微胶粒形成实验。结果: 大蒜素明显降低喂以高脂饲料小鼠血清 TC、TG 及 LDL-C 水平, 提高 HDL-C 含量, 且作用与大蒜素剂量呈正相关。大蒜素在不同程度上可升高血清 LCAT、心 LPL 和 HL 的活性, 并在一定程度上降低肝脏 HMG-CoA 还原酶活性。大蒜素体外实验可抑制胆固醇微胶粒的形成。结论: 大蒜素有显著的降血脂效应, 其机理一方面可能是促进了脂蛋白之间的代谢与转化, 另外可能是因为抑制了肠道胆固醇的吸收, 减少了肝脏胆固醇的合成, 促进了血清和肝脏甘油三酯的分解。

[关键词] 大蒜素; 血脂; 脂蛋白; 酶活力; 胆固醇微胶粒

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)02-0032-04

Study on the Antihyperlipidemia Effect of Allicin and the Mechanism

ZIANG Ting-ting^{1*}, TONG Xi-qiong², LIU Xi-yun³

(1. College of Life Science, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China;

2. School Hospital of Anhui Normal University, Wuhu 241000, China;

3. Limited Company of Wuhu Tianyun Biological Science and Technology, 241000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antihyperlipidemia effect of allicin and the mechanism. **Methods:** 50 mice were divided into five groups: control group, hyperlipidemia, small, medium and large dose groups of allicin with hyperlipidemia. Levels of TG, TC, HDL-C, LDL-C, lecithin cholesterol acyltransferase(LCAT), lipoprotein lipase of heart (LPL), hepatic lipase(HL) and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMGCoA) reductase were measured. The experiment on particle of cholesterol in vitro was performed. **Results:** Allicin has obvious effects of reducing the contents of TG, TC, LDL-C and increasing the content of HDL-C. Allicin can, to some extent, increase the activities of LCAT, LPL and HL, and decrease the activity of liver HMGCoA reductase in vitro. Allicin also can inhibit the particle of cholesterol in vitro. **Conclusion** Allicin obviously decreased the blood lipids. The mechanisms of reducing blood lipids perhaps were to promote the metabolism and change of the lipoprotein, inhibit absorbing cholesterol and reduce cholesterol biosynthesis as well as enhance TG decomposition in the mice serum and liver.

[Key words] Allicin; Blood lipids; Lipoprotein; Enzyme activity; Particle of cholesterol

[收稿日期] 2006-07-10

[通讯作者] * 张庭廷, Tel: (0553) 3211368; E-mail: cyhzt@mail.ahnu.edu.cn

大蒜中的大蒜素具有抗炎、抗病毒、抗氧化、增强免疫以及降压、降血脂等作用^[1,7],是集多种功能于一体的医药、保健佳品,本文将进一步对大蒜素的降血脂作用及机理进行探讨,为更好的开发利用大蒜素生物制品提供理论依据。

1 材料

1.1 试剂 大蒜素(allicin),分子式 $C_6H_{10}S_3$,分子量 178.33,大蒜原料购自沛州县无公害大蒜基地,由芜湖市天云生物科技有限公司提取,商品名为天奇大蒜素 N 精华液,其大蒜素含量为 0.5%,专利号 98111287.0。

试剂:胆固醇(北京化学试剂公司生产),胆固醇测定试剂盒、甘油三酯检测试剂盒以及高密度脂蛋白-胆固醇检测试剂盒(均购于上海复旦张江生物医药股份有限公司,批号 050301)、脂蛋白脂酶(LPL)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 050219)、溶血磷脂酶(EC3.1.1.5)、甘油磷酸胆碱二脂酶(EC3.1.4.2)、甘油磷酸脱氢酶(EC1.1.3.21)、三羟基三甲基戊二酰辅酶 A(HMGC_oA)、二硫苏糖醇(DTT)、还原型辅酶 II(NADPH)为 Sigma 产品,其余皆为分析纯。

1.2 主要仪器 752 型紫外可见分光光度计(上海分析仪器厂),日立 7020 型全自动生化分析仪。

1.3 实验动物 昆明种小白鼠,体重(20±2)g,雌雄兼用,购于皖南医学院动物实验中心。动物基础饲料:购于皖南医学院动物实验中心。高脂饲料配方:在基础饲料中加入 3%胆固醇,30%猪脂肪油^[8]。

2 实验方法

2.1 高血脂模型建立^[8] 昆明种小鼠 50 只,经 1 周适应性喂养后,禁食 12 h,尾尖取血测定总胆固醇含量,根据胆固醇水平分为 5 组,每组 10 只。分别为对照组、高脂饲料组(模型组)、高脂饲料+大蒜素小、中、大剂量组。ig 给药,对照组和模型组每天 ig 等量蒸馏水,大蒜素小剂量组、中剂量组、大剂量组分别 ig 1.0、2.0 和 3.0 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ 的大蒜素液。实验期间自由饮水和进食,连续 10 d。末次给药后,所有动物禁食 18 h,断头取血,血液在 3 200 $r \cdot min^{-1}$ 条件下,离心 10 min,分离血清,经全自动生化分析仪测定 TC、TG、HDL-C 含量,所剩血清测卵磷脂胆固醇脂酰转移酶(Lecithin:cholesterol acyltransferase,LCAT)活性。LCAT 的测定^[9,10],取两份血清各 50 μL ,分别于 37℃保温 5 min 和 40 min,加 3.0 mL 三

酶应用液(溶血磷脂酶、甘油磷酸胆碱二脂酶、甘油磷酸脱氢酶按一定比例配置),37℃振荡保温 15 min,测 OD₅₀₀。以胆固醇酯化量表示 LCAT 活性的大小。胆固醇标准液($2 mg \cdot mL^{-1}$)测定同上。LDL-C 含量按公式 $LDL-C(mmol \cdot L^{-1}) = TC - (HDL-C + TG/2.2)$ 计算。

2.2 心脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL)、肝脂酶(hepatic lipase, HL)活性测定^[11,12] 按文献[11,12]操作并有所改进。小鼠处死后,分别取一定量的心脏、肝脏,用冷生理盐水冲洗,再用滤纸吸去水分,制成 10% 心匀浆和 10% 肝匀浆,4℃ 4 000 $r \cdot min^{-1}$ 离心 10 min,取上清液,以脂肪乳剂为底物,在 37℃、pH8.3 的条件下与一定量上清液保温 30 min,心匀浆上清液中的 LPL 以及肝匀浆 HL 可分别将底物中的 TG 水解为甘油和游离脂肪酸(FFA),按试剂盒说明采用铜试剂法测定生成的 FFA 的量,分别计算 HL、LPL 活性(单位: $\mu g FFA \cdot mL^{-1}$ 上清液 $\cdot h$)。

2.3 体外 HMGCoA 还原酶活力测定 按文献方法^[13]制备小鼠肝微粒体 HMG-CoA 还原酶液。Lowry 法测定蛋白含量,将还原酶液调至 80 $g \cdot L^{-1}$, -30℃冻存备用。采用分光光度法进行 HMG-CoA 还原酶测定^[14]。取还原酶液 0.1 mL 置于试管中,依次加入磷酸缓冲液(pH6.8) 0.6 mL,0.1% NADPH 0.1 mL,0.1% HMG-CoA 0.1 mL,不同浓度的大蒜素液 0.1 mL,对照管给等体积生理盐水,混匀后于 340 nm 处测 1 min 内吸光度(A)值的变化。按公式计算大蒜素抑制百分率^[15]。大蒜素抑制百分率[Ratio of inhibition RI(%)] = $(A_{\text{对照组}} - A_{\text{大蒜素组}}) / A_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。大蒜素的 3 个浓度分别为 0.04, 0.06, 0.08 mL 大蒜素液,分别加蒸馏水至 0.1 mL,每组 6 个平行管。

2.4 离体胆固醇微胶粒形成实验 在 6 组 10 mL 离心管内分别加入 0.06 mL 新鲜猪胆汁,除第 1 组作为胆汁空白管外,其余 5 组分别加入 2.5 mg 胆固醇,其中有 4 组再加入不同剂量大蒜素液(分别为 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 mL)。待大蒜素液与胆固醇和胆汁充分混合之后,加入 5.0 mL 磷酸盐缓冲液($100 mmol \cdot L^{-1}$, pH = 6.2),在 38℃水浴振荡器中反应 1 h,4 000 $r \cdot min^{-1}$ 离心 45 min,小心倾去上清液,沉淀充分沥干(注意不要有水分),同样,采用胆固醇检测试剂盒方法测定沉淀中游离胆固醇含量,以加入系统的总胆固醇量减去沉淀中游离胆固醇量,即

为胆固醇微胶粒含量^[8]。

2.5 数据处理 实验所得数据经 EXCEL 软件处理, 组间采用双侧 *t* 检验。

表 1 大蒜素对试验性高血脂模型小鼠血脂水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	大蒜素含量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	TC 含量 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	HDL-C 含量 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	LDL-C 含量 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	HDL-C/TC	TG 含量 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)
对照组	—	2.27 ± 0.73 ³⁾	1.17 ± 0.14 ²⁾	0.67 ± 0.52 ³⁾	0.52 ± 0.19 ²⁾	0.94 ± 0.15 ²⁾
模型组	—	9.86 ± 0.91	0.92 ± 0.73	7.99 ± 0.12	0.09 ± 0.86	2.09 ± 0.14
小剂量组	1.0	6.91 ± 1.02 ¹⁾	1.31 ± 0.46 ¹⁾	5.00 ± 0.48 ¹⁾	0.19 ± 0.45 ¹⁾	1.32 ± 0.17 ¹⁾
中剂量组	2.0	6.15 ± 0.87 ²⁾	1.38 ± 0.18 ¹⁾	4.28 ± 0.60 ²⁾	0.22 ± 0.21 ¹⁾	1.07 ± 0.20 ¹⁾
大剂量组	3.0	5.79 ± 0.81 ²⁾	1.40 ± 0.21 ¹⁾	3.99 ± 0.54 ²⁾	0.24 ± 0.26 ¹⁾	0.88 ± 0.13 ¹⁾

注: 与模型组相比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$, 下同。

由表 1 可见, 模型组与对照组相比: TC 与 TG 含量显著升高, 说明造模成功; 而给予大蒜素的各组 TC TG 含量与模型组比较有显著性降低, 分别为 $P < 0.01$ 和 $P < 0.05$; HDL-C 的含量与模型组比较 $P < 0.05$, 且随大蒜素的含量增加而增加; 具有剂量依赖性; LDL-C 的含量则随着大蒜素的含量升高而降低, 大蒜素组的 HDL-C/TC 较模型组有显著性升高, 说明大蒜素具有降脂作用。

3.2 大蒜素对小鼠心 LPL、肝 HL 以及血清 LCAT 活性的影响 结果见表 2。

表 2 大蒜素对小鼠心 LPL、肝 HL 以及血清 LCAT 活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	LPL ($\mu\text{g FFA} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	HL ($\mu\text{g FFA} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	LCAT ($\mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1}$)
对照组	12.76 ± 0.14 ²⁾	16.04 ± 0.87 ²⁾	1.87 ± 0.21 ¹⁾
模型组	8.32 ± 0.53	13.63 ± 0.31	2.93 ± 0.27
小剂量组	10.87 ± 0.49 ¹⁾	14.39 ± 0.52 ¹⁾	3.79 ± 0.42 ¹⁾
中剂量组	11.01 ± 0.52 ²⁾	15.83 ± 1.26 ¹⁾	4.33 ± 0.71 ¹⁾
大剂量组	11.97 ± 0.62 ²⁾	16.73 ± 0.41 ²⁾	4.99 ± 0.43 ²⁾

3.3 大蒜素体外对 HMG-CoA 还原酶活性的影响 结果见表 3。

表 3 大蒜素体外对 HMG-CoA 还原酶活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	大蒜素剂量(mL)	ΔA_{340}	RI (%)
对照组	—	0.16 ± 0.01	—
小剂量组	0.04	0.13 ± 0.01	6.95
中剂量组	0.06	0.12 ± 0.01 ¹⁾	17.45
大剂量组	0.08	0.08 ± 0.02 ²⁾	44.65

注: 与对照组相比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

3.4 大蒜素对离体胆固醇微胶粒形成的影响 结

3 结果

3.1 大蒜素对试验性高血脂模型小鼠血脂水平的影响 结果见表 1。

果见表 4。

表 4 大蒜素对离体胆固醇微胶粒形成的影响

组别	TC 微胶粒 (mg)	抑制率 (%)
TC	0.87	
大蒜素(mL) + TC		
0.05	0.31	64.4
0.10	0.19	78.1
0.15	0.12	86.2
0.20	0.07	92.0

注: 抑制率 (%) = (1 - 含大蒜素和 TC 试管中微胶粒的含量 / TC 试管中微胶粒的含量) × 100%。各组 TC 加入量均为 2.5mg。

结果表明, 当反应系统中只有胆固醇和胆汁存在时, 有 0.87 mg 的胆固醇微胶粒形成, 悬浮在上清液中与未形成微胶粒胆固醇分离开。如果在反应系统中加入不同剂量大蒜素时可以看到各管有不同程度的抑制胆固醇微胶粒的形成, 其抑制率最高可达 92.0%。即随大蒜素的提高抑制程度愈强, 因此, 大蒜素的作用还可能通过抑制胆固醇微胶粒的形成而影响胆固醇的吸收。

4 讨论

高脂血症是促进动脉粥样硬化和危及人类健康的冠状动脉粥样硬化性心脏病(CHD)的主要危险因素之一, 降低血脂, 可以降低冠状动脉粥样硬化性心脏病的发生率。另外, 血脂的降低已被证实可以减慢已形成的粥样硬化斑块的进展, 甚至使其消退, 并有可能减低冠状动脉粥样硬化性心脏病的病死率^[16, 17]。

LPL 是调节脂蛋白代谢的一种关键酶, 由心、脂肪、骨骼肌细胞合成后分泌入血与毛细血管内皮细胞表面的糖萼结合, 作用于血循环中 CM 及 VLDL 内

核的甘油三酯(TG),使之水解,释出游离脂肪酸(FFA)。

HL是由肝实质细胞合成,转运到肝窦状隙内皮细胞表面而发挥作用。HL选择性作用于HDL₂,使HDL₂磷脂水解。还使HDL₂表面胆固醇/磷脂比值升高,有助于HDL释放FFA或胆固醇酯(CE)到细胞,从而减少血液中的FFA和CE。

LCAT在血浆胆固醇的酯化、胆固醇的逆向转运及HDL的代谢中发挥重要作用。LCAT作用于HDL分子表面的卵磷脂,使其Sn-2脂酰基转移至胆固醇生成CE,通过胆固醇酯转运蛋白的作用,与VLDL及LDL的TG交换,并为肝脏受体摄取而代谢。

HMG-CoA还原酶是体内催化胆固醇从头合成的关键酶,其活性大小直接影响着胆固醇合成的速度,影响着体内胆固醇含量的高低。

由此可见,在LPL,HL以及LCAT等酶的联合作用下,可以增加血液中TG的降解、TC的转化或代谢以及增加血液中HDL,而HMG-CoA还原酶的降低则可直接减少胆固醇的合成。

本实验发现大蒜素对试验性高脂血症小鼠的TC, TG, LDL-C均有降低作用,而对HDL-C有升高作用;LPL, HL以及LCAT活性均较模型组有明显提高;HMGCoA还原酶有一定的降低作用。同时,还发现大蒜素在体外可抑制胆固醇微胶粒的形成。由此,不难看出大蒜素有显著的降血脂效应,其机理一方面可能是促进了脂蛋白之间的代谢与转化,另外可能是因为抑制了肠道胆固醇的吸收,减少了肝脏胆固醇的合成,促进了血清和肝脏甘油三酯的分解。可以预想,大蒜素的全面降血脂作用对治疗高脂血症、预防动脉粥样硬化、冠心病等方面是具有广阔的开发应用前景的。

[参考文献]

[1] Christopher D. G, Lorraine M, Chatterjee, J, *et al.* The effect of a garlic preparation on plasma lipid levels in moderately hypercholesterolemic adults[J]. *Atherosclerosis*, 2001, 154: 213-220.

[2] Veereshwarayya V, Thiruvengadam D. Hepatoprotective effect of allicin on tissue defense system in galactosamine/endotoxin challenged rats [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2004, 90: 151-154.

[3] Prasad K, Laxdal V. A, Yu M, *et al.* Evaluation of hydroxyl radical scavenging property of garlic [J]. *Molecular and*

Cellular Biochemistry, 1996, 154: 55-63.

[4] Aharon R, Talia M, David M, *et al.* S-Allylmercaptogluthathione: the reaction product of allicin with glutathione possesses SH-modifying and antioxidant properties[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2000, 1499: 144-153.

[5] K. C. Agawal, Therapeutic actions of garlic constituents [J]. *Med. Res. Re*, 1996, 16: 111-124.

[6] 张庭廷,刘爱民,刘锡云. 大蒜素口服液抗氧化及延缓衰老作用的试验研究. *中国实验方剂学杂志*[J]. 2001, 7(3): 64.

[7] 张庭廷,刘锡云. 大蒜制品的开发和应用[J]. *安徽师范大学学报(自然科学版)*, 2001, 24(1): 54-55.

[8] 张庭廷,聂刘旺,吴宝军等. 金樱子多糖的抑脂作用[J]. *中国公共卫生*. 2004, 20(7): 829-830.

[9] 蒋宪成,庄庆祺,梅美珍,等. 卵磷脂胆固醇酰基转移酶活性的简易测定法[J]. *上海第一医学院学报*, 1985; 12(2): 155-157.

[10] 于晓光,王淑娟,高旭. 高脂血症沙鼠血清中卵磷脂胆固醇酰基转移酶活性变化及鸦胆子油乳剂降脂作用的研究[J]. *中国老年学杂志*, 1997, 17(3): 166-168.

[11] 张蓉,刘宇,刘秉文. 血浆脂蛋白酯酶及肝脂酶的比色测定法[J]. *华西医科大学学报*, 1996, 27(3): 106-110.

[12] Kazuhiko T, YIN Weidong, YUAN Zhonghua. Lipoprotein Lipase and Atherosclerosis [J]. *Life Science Research*, 7(2): 95-103.

[13] Dansette PM, Jaouen M, Pons C. HMGCoA reductase activity in human liver microsomes: compared vastatins inhibitions [J]. *Toxicology Letters*, 1998, 95 (Suppl. 1): 1182122.

[14] Menedez R, Amor AM, Rodeiro I. Policosanol modulates HMGCoA reductase activity in cultured fibroblast [J]. *Archives of Medical Research*, 2001, 32(1): 8212.

[15] 孟甄,孙立红,陈芸芸,等. 石榴叶鞣质对高脂高血糖模型动物脂代谢的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2005, 11(1): 22-24.

[16] Sur-Young Parka, Song-Hae Bokb, Seor-Min Jeona, *et al.* Effect of rutin and tannic acid supplements on cholesterol metabolism in rats [J]. *Nutrition Research*, 2002, 22: 283-295.

[17] L. Rodríguez-Pérez, M. Juárez-Sánchez, J. Antúnez-Solís, *et al.* α -Asarone inhibits HMG-CoA reductase, lowers serum LDL-cholesterol levels and reduces biliary CSI in hypercholesterolemic rats [J]. *Phytomedicine*, 2003, 10: 397-404.