

- tured renal epithelial cells [J]. *Kidney Int*, 2005, 67(5): 1797-1805.
- [19] Nishida R, Fukami H. Ecological adaptation of an Aristolochiaceae-feeding swallowtail butterfly, *Atrophaneura alcinous*, to aristolochic acid [J]. *J Chem Ecol*, 1989, 15(11): 2549-2563.
- [20] Wu T S, Leu Y L, Chan Y Y. Aristolochic acids as a defensive substance for the aristolochiaceae plant-feeding swallowtail butterfly, *pachliopta aristolochiae interpositus* [J]. *J Chin Chem Soc*, 2000, 47: 221-226.
- [21] Lu G Z, Jia Q. The harm of Chinese medicine results from medical doctors instead of medicine proper [J]. *World Sci Technol: Mod Tradit Chin Med Mater Med* (世界科学技术: 中医中药现代化), 2003, 5(3): 72-74.
- [22] Yang J P, Jia Q. An approach to aristolochic acid event from cultural point of view. [J]. *World Sci Technol: Mod Tradit Chin Med Mater Med* (世界科学技术: 中医中药现代化), 2003, 5(6): 72-73.
- [23] Hu S L, Hu Y C, Zhang H Q. Aristolochic acid and Chinese herbal medicines containing aristolochic acid [J]. *World Sci Technol: Mod Tradit Chin Med Mater Med* (世界科学技术: 中医中药现代化), 2003, 5(6): 68-71.
- [24] Hu S L, Zhang Q H, Chen J Q, et al. Studies on the toxicity of *Aristolochic Fangchi* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2003, 26(4): 274-277.
- [25] Hu S L, Zhang Q H, Chen K, et al. Studies on the toxicity of *Aristolochic manshuriensis* (Guanmutong) [J]. *Toxicity*, 2004, 198: 195-201.
- [26] Zhang C Y, Wang X, Shang M Y, et al. Affection of different preparations on the content of toxic constituents in traditional Chinese medicines, exemplified with *Caulis Aristolochiae manshuriensis* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2005, 30(11): 835-838.
- [27] Zhang D F, Zhang J L, Huang C. Studies on the chemical constituents before and after *Aristolochia contorta* Ege. processing [J]. *J Jiangxi Univ Tradit Chin Med* (江西中医学院学报), 2004, 16(2): 59.
- [28] Wang Z M, You L S, Jiang X, et al. Methodological studies on selectively removing toxins in *Aristolochiae manshuriensis* by Chinese processing techniques [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2005, 30(16): 1243-1246.
- [29] Ma H M, Guo J H, Zhang A L, et al. Studies on the detoxification action of processed aconite to *Aristolochia manshuriensis* Kom. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(4): 319-320.
- [30] Li CX, Ding L Y, Wang W Z, et al. The experimental study of mouse acute nephrotoxicity of Daochi San [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med* (中国中医基础医学杂志), 2005, 11(4): 288-289.
- [31] Ding Y J, Wang Y T, Li C X, et al. Nephrotoxicity of caulis aristolochiane manshuriensis and determinations of its toxicity component [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2004, 20(9): 1079-1080.
- [32] Huang Y X, Jiang H H, Wang H, et al. The experimental study of the Chinese traditional medicine *Akebia stem's* kidney toxicity and resist its toxicity [J]. *Chin J Integr Tradit West Nephrol* (中国中西医结合肾病杂志), 2001, 2(10): 566-568.
- [33] Zhu S, Liu J, Chen L, et al. Chemopreventive effect of five drugs on renal interstitial fibrosis induced by an aristolochic acid containing Chinese herb in rats [J]. *Am J Nephrol*, 2005, 25(1): 23-29.
- [34] Li X M, Zhao J R, Su T, et al. An analysis of the clinical and pathological characteristics of Guanxinsuhewan associated tubulointerstitial [J]. *Chin J Pract Int Med* (中国实用内科杂志), 2005, 25(5): 419-421.

洋蓟叶提取物的生物活性研究

王天轶¹, 王云志²

(1. 解放军白求恩国际和平医院, 河北 石家庄 050082; 2. 河北医科大学 新药研发办公室, 河北 石家庄 050017)

洋蓟别名朝鲜蓟、菊蓟、菜蓟、法国百合、荷花百合, 学名 *Cynara scolymus* L., 为菊科菜蓟属多年生草本植物, 原产地中海沿岸, 目前欧美和非洲部分地区种植较多。19 世纪由法国传入我国上海, 目前我国在上海、浙江、湖南、云南等地有栽培, 在台湾省有较大面积种植。

洋蓟有较高营养价值, 是一种保健蔬菜, 常制成罐头, 每 100 g 花苞可食部分中含蛋白质 2.8 g、脂肪 0.2 g、糖 9.9 g、VA160NP 单位、VB₁ 0.06 mg、VB₂ 0.08 mg、VC 11 mg、钙 51 mg, 还含有菜蓟黄酮化合物及天门冬酰胺等对人体有益成分。洋蓟叶提取物 (artichoke leaves extract, ALE) 具有较高药用价值, 在欧洲一些国家应用治疗消化不良和肝脏病, 其含有的主要酚类成分有单或双咖啡酰奎宁酸, 如绿原酸、洋蓟苷或称奎尼酸-1,5-双咖啡酸酯、咖啡酸和 3', 4', 5', 7-四羟基黄酮-7-O-葡萄糖苷。洋蓟叶提取物具有多种生物活性, 国内对其药用研究较少, 本文拟对国外 ALE 的研究作一综述, 以引起同仁关注。

1 对消化系统作用

1.1 治疗消化不良: Holtmann 等^[1] 在一项双盲、安慰剂对

照、随机临床试验中, 随机给予 247 名功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 患者 ALE 片剂或安慰剂, 根据每周消化不良发作次数评分, 将总分值作为主要评测指标。对其中的 244 名 (129 名积极治疗, 115 名安慰剂) 数据进行统计分析。用 ALE 片剂治疗 6 周后的症状改善明显好于安慰剂 ($P < 0.01$)。与安慰剂治疗比较, 生活质量得分有显著改善 ($P < 0.01$)。ALE 对功能性消化不良的症状缓解和病人生产质量改善比安慰剂效果显著。在一项开放式研究中, 每天随机给予志愿受试者 320 mg (低剂量) 或 640 mg (高剂量) ALE, 516 名中 454 名完成了研究, 结果表明, 两剂量组与基线比较, 各种消化不良的症状都有明显改善, 消化不良总分平均减少 40%, 但两组间没有明显的差别^[2]。

1.2 治疗肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS): 国外报道人群中 22% 患有肠易激综合征 (IBS), 特征表现为腹痛及大便秘习惯改变, 其发病机制迄今尚不清楚, 治疗亦存在一定困难。由于 ALE 对 FD 的良好治疗作用, 因此, 研究者期望应用 ALE 能够改善 IBS 症状。ALE 治疗 6 周后, 症状明显减轻, 总体效果良好, 96% 的病的治疗效果好于或

至少等于既往的治疗方法,且病人耐受性良好,表明 ALE 在减少 IBS 症状方面具有很大优势^[3]。Bundy 等^[4]对 208 名成年肠易激综合征患者应用 ABL 治疗 2 个月,IBS 发病率下降 26.4%,便秘或腹泻症状显著好转。治疗后 Nepean 消化不良指数(NDI)症状总分明显降低 41%。与此类似,两组治疗后 NDI 生活质量(QOL)评分 20%得到显著改善,证明 ALE 对缓解 TBS 症状和提高 IBS 生活质量有显著作用。

1.3 促胆汁分泌作用,Gebhardt^[5]用体外原代大鼠肝细胞和胆汁生成荧光化合物研究 ABL 的促进胆汁分泌作用,发现 ABL 能刺激胆汁分泌。Rodriguez 等^[6]给予 Wistar 大鼠 ALE,连续 po 7 d,麻醉后研究 ALE 对大鼠胆汁流量和形成胆汁成分的影响,发现 ALE 能显著增加胆汁流量,与对照物脱氢胆酸(dehydrocholic acid, DHCA)类似,ALE 显著增加总胆酸浓度,其作用比 DHCA 更明显,但对胆固醇和磷脂的影响不显著。Gebhardt 等^[7]研究了 ALE 刺激胆汁分泌作用,将牛磺石胆酸加入原代大鼠肝细胞培养基中以抑制胆汁分泌,加入不同浓度 ALE,观察其对胆汁分泌的影响及其对肝胆管变形的预防作用。结果发现其与胆酸同时加入时,以剂量依赖性方式防止牛磺石胆酸引起的胆小管膜异常变形,用 ALE 预处理肝细胞具有相似的作用,证实 ALE 对牛磺石胆酸引起胆汁郁积具有很强抗胆碱能作用,对肝脏具有保护作用,可能与其所含的黄酮及其代谢物有关^[8]。

临床上,ALE 对肝胆疾病和上腹胀满、食欲不振、恶心、腹痛等症治疗效果满意,并具有良好的安全性。其有效成分主要是黄酮类化合物和绿原酸。

2 抗氧化作用

ALE 同维生素 C、羟苯基丙烯酸和黄酮一样,是自然界重要的抗氧化物质。Jimenez-Escrig^[9]通过测定 ALE 对 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH)的清除能力,使 3 价铁还原的抗氧化能力(FRAP)和体外对 Cu(Ⅱ)催化人低密度脂蛋白(LDL)氧化抑制作用,研究了 ALE 的抗氧化活性。体外 1 g 干燥 ALE 对 DPPH 和 FRAP 值分别与 29.2 和 62.6 mg 维生素 C 和 77.9 和 159 mg 维生素 E 相当,且具有良好的抗低密度脂蛋白(LDL)氧化作用。而应用选择性抗氧化生物标记法对 ALE 在雄性大鼠体内抗氧化作用研究发现,与对照组比较,ALE 组大鼠血浆 3 价铁还原能力不仅未受影响,而且对游离基 2,2'-连氮-双-(3-乙基苯并噻唑啉磺酸)清除活性也没有影响。红血球中各种抗氧化酶测定结果表明,与对照组比较,ALE 组只提高了红血球中谷胱甘肽过氧化酶的活性,降低了血浆蛋白和红血球中 2-氨基己二酸半醛(一种蛋白氧化生物标记物)的浓度。

将原代大鼠肝细胞暴露于过氧化叔丁醇或异丙苯基过氧化氢[这两种氢过氧化物都能刺激细胞产生丙二醛(malondialdehyde, MDA)]中,检查 ALE 的抗氧化性质和保护能力。结果表明,ALE 呈浓度依赖性防止氢过氧化物诱导增加 MDA 形成,其有效质量浓度(低于 1 $\mu\text{g/mL}$)远比其细胞毒质量浓度(1 mg/mL 以上)低。用 LDH 渗漏法(leakage assay)和 MTT 法测定 ALE 的抗氧化作用是 MAD 产量

降低平行的,并能显著预防氢过氧化物引起的肝细胞凋亡。ALE 不影响细胞中谷胱甘肽(GHS)的水平,但减少了总 GHS 的损失和由于暴露于过氧化叔丁醇中而产生二硫化谷胱甘肽(GSSG)细胞的渗。抗氧化活性成分是绿原酸和洋蓟苷(奎尼酸-1,5-双咖啡酸酯)^[10]。

正常体内存在氧化/抗氧化平衡,氧应激状态下,体内自由基生成过多,远超出内源性抗氧化系统的清除能力,对组织细胞造成损伤。Perez-Garcia 等^[11]应用二氯荧光素二醋酸盐荧光探针和流式细胞计数技术研究 ALE 对人白细胞抗氧化应激活性的影响,发现其成分洋蓟苷、咖啡酸、绿原酸和 3',4',5',7-四羟基黄酮(luteolin)能以浓度依赖性方式抑制氧应激反应,发挥抗氧化活性。Zapolska-Downar 等则研究了洋蓟叶的水和乙醇提取物对内皮细胞和单核细胞氧化应激保护作用的影响,发现两种提取物均以剂量依赖性抑制内皮细胞和单核细胞基础和应激状态下活性氧生成;ox-LDL 诱导内皮细胞产生的氧化活性分子(ROS)在洋蓟乙醇提取物(50 mg/mL)作用下降低 60%,而在水提取物(50 mg/mL)作用下降低 43%。同样剂量的乙醇提取物使 ox-LDL 诱导单核细胞内产生的 ROS 降低 76%,抑制的有效浓度(25~100 mg/mL)比该提取物的细胞毒浓度(用 LDH 渗漏法和锥虫兰排除法测定的最低的细胞毒浓度为 1 mg/mL)低很多。研究结果证明 ALE 对炎症介质和 ox-LDL 引起的内皮细胞和单核细胞氧化应激有明显的保护作用。

3 降胆固醇作用

ALE 具有抑制胆固醇生物合成,抑制 LDL 氧化的作用。大剂量 ALE 能抑制大鼠原代肝细胞在 14C-醋酸盐作用下的胆固醇合成,呈剂量依赖性双相方式,质量浓度在 7~100 $\mu\text{g/mL}$ 时抑制作用较轻(均 20%),而在 200 $\mu\text{g/mL}$ 时作用较强(60%)。用 14C-甲基戊酸盐替代 14C-醋酸盐,ALE 的抑制作用大大降低,表明其作用机制可能是通过对羟甲戊二酰-CoA 还原酶活性的间接调控。ALE 中发挥降胆固醇作用的化学成分主要是洋蓟糖苷,尤其是洋蓟苷元 3',4',5',7-四羟基黄酮;绿原酸作用很小,咖啡酸、奎尼酸-1,5-双咖啡酸酯和其他二咖啡酰奎宁酸作用不明显。3',4',5',7-四羟基黄酮也具有阻断胰岛素合成胆固醇的作用。

为了进一步研究 ALE 的降脂作用,Gebhardt 将其用 β -葡萄糖苷酶孵化预处理以增强其抑制胆固醇合成的作用,证实洋蓟糖苷作用于 β -葡萄糖苷酶,水解释放 3',4',5',7-木犀草素,抑制胆固醇的合成。对大鼠肝细胞和 HepG₂ 细胞中 β -葡萄糖苷酶直接测定发现肝细胞中酶的活性足以将洋蓟糖苷转化为苷元,而 HepG₂ 细胞则不能。这一结果进一步证实了 ALE 依赖 β -葡萄糖苷酶释放 3',4',5',7-四羟基黄酮抑制肝脏胆固醇生物合成中的重要性。洋蓟提取物以间接的方式抑制肝脏胆固醇的 2 生物合成,促使人血清中的脂质(hypolipidemic influence)降低^[12]。

高脂蛋白血症与冠心病和动脉粥样硬化发生密切相关,为了评价 ALE 对高胆固醇血症的治疗作用,Englisch 单独使用 ALE 治疗高胆固醇血症病人与给予安慰剂或参比药物

的病人进行随机对照试验比较。将满足各项标准的167名,随机分成两组。一组用ALE治疗,(42±3)d后总胆固醇水平从7.74 mmol/L降低到6.31 mmol/L;安慰剂组从7.69 mmol/L降低到7.03 mmol/L ($P<0.01$)。另一组是总胆固醇基线水平高于5.98 mmol/L的病人,与安慰剂比较,ALE能显著降低血胆固醇水平($P<0.05$)。有轻度、暂时性的不良反应^[13]。Englisch^[14]等用CY450包衣片剂(商品名称Valverde Artischocke bei Verdauungsbeschwerden,含ALE 450 mg)治疗高胆固醇血症,考察治疗效果和耐受性。在双盲、随机、安慰剂对照多中心临床试验中,143个成年病人,最初总胆固醇7.3 mmol/L。每天给病人1.8 g洋蓟干提取物或安慰剂,治疗6周,CY450组总胆固醇降低了18.5%,对照组降低8.6%。LDL-胆固醇CY450组为22.9%,安慰剂组是6.3%。CY450组LDL/HDL比降低20.0%,安慰剂组降低7.2%。治疗期间未发生与药物有关的不良反应,耐受性良好。结果清楚地表明洋蓟叶干提取物可用于治疗高脂蛋白血症和预防动脉粥样硬化和冠心病^[15]。

4 对内皮细胞功能调节作用

内皮细胞功能障碍是动脉粥样硬化的早期阶段,常通过超声测定血流介导性血管扩张(brachial flow-mediated vasodilation, FMV)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)和E-选择素等体液标志物来确定。国外研究者^[16]观察了洋蓟汁食品添加剂对高脂血症患者臂FMV的影响,测定血清中可溶性VCAM-1、ICAM-1、E-内皮细胞选择素(selectin)基础水平和臂FMV,然后每日给予患者20 mL冰冻洋蓟汁,6周后复查,发现服用洋蓟后患者甘油三酯水平增加,总胆固醇和LDL胆固醇降低;对照组总胆固醇和LDL胆固醇明显降低,治疗组的VCAM-1、ICAM-1和臂FMV和用药前比较都有降低,而对照组用药前后没有变化。可见洋蓟食品添加剂确实可以调节血胆固醇过多患者的内皮功能。

在脉管系统中,内皮细胞一氧化氮合酶(eNOS)产生的一氧化氮能抗血栓形成和抗动脉粥样硬化,因此,提高eNOS表达可对心血管起到保护作用。ALE能提高EAhy926细胞[由人的脐带静脉内皮细胞(HUVECs)得到的细胞株]中eNOS促进因子的活性(用萤火虫素酶报告基因测定)。在器官腔室试验(organ chamber experiments)中,大鼠主动脉环用洋蓟叶有机提取物体外孵化18 h,提高了NO介导的对乙酰胆碱的血管扩张响应,表明正向调节eNOS的功能。咖啡酰奎宁酸和黄酮是ALER 2种主要成分,3',4',5',7-木犀草素(luteolin)和菜蓟糖苷增加了eNOS促进因子的活性和eNOS mRNA的表达,而咖啡酰奎宁酸、洋蓟苷(cynarin)和绿原酸没有作用。所以除了ALE的降脂和抗氧化作用外,ALE增加eNOS基因转录可能对心血管有益^[16]。

5 抗微生物作用

Li等^[17]对洋蓟叶氯仿、醋酸乙酯和正丁醇提取物的抗微生物活性进行了初步研究,结果表明正丁醇提取物对7个杆菌属及4种酵母菌和4种霉菌抗菌活性最强。从正丁醇提

取物的可溶性部分中能够分离出8种酚类成分,并应用高效液相色谱、电喷射离子质谱等方法确定了其结构。这些提取物中绿原酸、奎尼酸-1,5双咖啡酸酯、木犀草素-7-芸香糖苷以及菜蓟糖苷的抗微生物活性相对较高,抗真菌活性比抗细菌活性强,最小抑菌浓度在50~200 μg/mL。

6 结语

洋蓟提取物具有良好的药用价值,对多个系统疾病具有良好的治疗作用,具有极佳的开发前景。

References:

- [1] Holtmann G, Adam B, Haag S, et al. Efficacy of artichoke leaf extract in the treatment of patients with functional dyspepsia: a six-week placebo-controlled, double-blind, multicentre trial [J]. *Alim Pharmacol Therap*, 2003, 18(11-12): 1099-1105.
- [2] Marakis G, Walker A F, Middleton R W, et al. Artichoke leaf extract reduces mild dyspepsia in an open study [J]. *Phytomedicine*, 2002, 9(8): 694-699.
- [3] Walker A F, Middleton R W, Petrowicz O. Artichoke leaf extract reduces symptoms of irritable bowel syndrome in a post-marketing surveillance study [J]. *Phytother Res*, 2001, 15(1): 58-61.
- [4] Bundy R, Walker A F, Middleton R W, et al. Artichoke leaf extract reduces symptoms of irritable bowel syndrome and improves quality of life in otherwise healthy volunteers suffering from concomitant dyspepsia: a subset analysis [J]. *J Altern Complem Med*, 2004, 10(4): 667-669.
- [5] Gebhardt R. Anticholestatic activity of flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) and of their metabolites [J]. *Med Sci Monit*, 2001, 7 (Suppl 1): 316-320.
- [6] Saenz Rodriguez T, Garcia Gimenez D, de la Puerta Vazquez, R. Choleretic activity and biliary elimination of lipids and bile acids induced by artichoke leaf extract in rats [J]. *Phytomedicine*, 2002, 9(8): 687-693.
- [7] Gebhardt R. Prevention of atrolithocholate-induced hepatic bile canalicular distortions by HPLC-characterized extracts of artichoke (*Cynara scolymus*) leaves [J]. *Planta Med*, 2002, 68(9): 776-779.
- [8] Gebhardt R. Anticholestatic activity of flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) and of their metabolites [J]. *Med Sci Monit*, 2001, 7 (Suppl 1): 316-320.
- [9] Jimenez-Escrig A, Dragsted L O, Daneshvar B, et al. In vitro antioxidant activities of edible artichoke (*Cynara scolymus* L.) and effect on biomarkers of antioxidants in rats [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(18): 5540-5545.
- [10] Gebhardt R. Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1997, 144(2): 279-286.
- [11] Perez-Garcia F, Adzet T, Canigual S. Activity of artichoke leaf extract on reactive oxygen species in human leukocytes [J]. *Free Radic Res*, 2000, 33(5): 661-665.
- [12] Gebhardt R. Inhibition of cholesterol biosynthesis in primary cultured rat hepatocytes by artichoke (*Cynara scolymus* L.) extracts [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1998, 286(3): 1122-1123.
- [13] Pittler M H, Thompson C O, Ernst E. Artichoke leaf extract for treating hypercholesterolemia [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2002(3): CD003335.
- [14] Englisch W, Beckers C, Unkauf M, et al. Efficacy of artichoke dry extract in patients with hyperlipoproteinemia [J]. *Arzneimittelforschung*, 2000, 50(3): 260-265.
- [15] Lupattelli G, Marchesi S, Lombardini R, et al. Artichoke juice improves endothelial function in hyperlipemia [J]. *Life Sci*, 2004, 76(7): 775-782.
- [16] Li H, Xia N, Brausch I, et al. Flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) up-regulate endothelial-type nitric-oxide synthase gene expression in human endothelial cells [J]. *Pharmacol Exp Ther*, 2004, 310(3): 926-932.
- [17] Zhu X, Zhang H, Lo R. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(24): 7272-7278.