

何首乌不同炮制品对肝细胞脂代谢的干预作用研究

王敏江, 林 佩, 李云飞, 赵荣华, 俞 捷*, 毛晓健*

云南中医学院 药学院, 云南 昆明 650500

摘 要: **目的** 利用脂肪变性肝 L-02 细胞模型, 比较何首乌的生品及不同炮制品(传统方法炮制品、发酵炮制品)对脂代谢的干预作用。**方法** 将肝细胞传板至 6 孔板, 分为正常组、模型组、给药组细胞。模型组与给药组采用含医用脂肪乳的培养液诱导 48 h, 建立肝细胞脂肪变性模型, 给药组给予何首乌生品及不同炮制品的各浓度水提取物、50%乙醇提取物刺激液进行培养, 采用洛伐他汀、非诺贝特为阳性对照。24 h 后测定肝细胞内三酰甘油(TG)、胆固醇(TC)的量。**结果** 与模型组相比, 何首乌米根霉发酵品水提取物及 50%乙醇提取物、生何首乌水提取物、黑豆制何首乌 50%乙醇提取物和清蒸何首乌 50%乙醇提取物在该模型上具有较好的降脂作用。其中何首乌发酵炮制品的降脂活性尤其明显, 何首乌米根霉发酵品能极显著地降低 TG 的量($P<0.01$)至模型组含量的 25%; 何首乌米根霉发酵品水提取物和黑曲霉发酵品的 50%乙醇提取物均可降低 TC 的量($P<0.01$)至模型组含量的 35%。**结论** 生何首乌及何首乌传统炮制品、发酵炮制品均有显著地降脂作用, 其中由米根霉发酵得到的发酵品表现出的较好的降脂活性, 表明发酵法可能成为何首乌炮制法研究的新方向。

关键词: 生何首乌; 制何首乌; 发酵法炮制何首乌; 肝 L-02 细胞; 脂代谢

中图分类号: R285.5; R286.3

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2013)04-0494-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.04.007

Intervention effects of *Polygoni Multiflori Radix* and its processed products on lipid metabolism in steatosis hepatocyte L-02

WANG Min-jiang, LIN Pei, LI Yun-fei, ZHAO Rong-hua, YU Jie, MAO Xiao-jian

School of Pharmacy, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China

Abstract: Objective To investigate the intervention effects of *Polygoni Multiflori Radix* (PMR) and its traditional processed and fermented products on the lipid metabolism of steatosis hepatocyte L-02. **Methods** The hepatocytes were cultured in 6-well plates and divided into control, model, and treatment groups. The steatosis hepatocyte L-02 model was established by exposure in fat emulsion for 48 h. The hepatocytes in the treatment group were treated with the water extracts and 50% ethanol extract of PMR and its processed products by different way, and lovastatin and fenofibrate were used as positive control. The triacylglycerol (TG) and cholesterol (TC) contents were determined after 24 h. In the same time those were studied in groups. **Results** Compared with the model group, the water extract and 50% ethanol extract of PMR fermented with *Rhizopus oryzae*, water extract of PMR, 50% ethanol extract of PMR processed by black bean, and 50% ethanol extract of steaming PMR showed great lipid-lowering effects. PMR fermented with *R. oryzae* could even significantly reduce the content of TG to about 25% and the content of TC to about 35% in the model group, similar to PMR fermented with *Aspergillus niger*. **Conclusion** PMR and its traditionally processed and fermented products show the lipid-lowering effect on TC and TG, especially PMR fermented by *R. oryzae*. These results indicate the fermentation method may be a new research processing method of PMR.

Key words: *Polygoni Multiflori Radix*; *Polygoni Multiflori Praeparata Radix*; fermented *Polygoni Multiflori Radix*; hepatocyte L-02; lipid metabolism

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根, 具有补益肝肾、固肾益精, 解毒

收稿日期: 2013-06-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81060337, 81260553); 国家中医药管理局行业专项(201107007); 云南省应用基础面上项目(2010ZC105)

作者简介: 王敏江, 硕士研究生, 主要研究方向: 临床中药学。Tel: 15925100269 E-mail: wmj851208@126.com

*通信作者 俞 捷, 讲师, 硕士生导师。Tel: (0871) 5918033 E-mail: cz.yujie@gmail.com

毛晓健, 教授, 硕士生导师。Tel: (0871) 5918136 E-mail: Maoxj7@sina.com

截疟、润肠通便之功效。现代研究表明,何首乌主要含有蒽醌、二苯乙烯苷、磷脂等成分^[1-2],具有调血脂、延缓动脉粥样硬化、抗衰老、提高免疫力、益智等作用,能显著降低血清总胆固醇和三酰甘油,临床常用于高血脂症^[3]。《中国药典》2010年版一部记载,何首乌制法分清蒸法和黑豆制法^[3]。文献记载何首乌生品及炮制品均具有明确的降脂活性^[4],但临床治疗高脂血症时则多使用制何首乌。本课题组为了系统研究何首乌生品及制品的降脂活性强弱,采用离体脂肪变性肝 L-02 细胞模型^[5]和整体动物实验方法^[6]对二者的降脂活性进行了比较,结果显示两者均具有明显的降脂活性,然而两者的降脂活性有明显的器官选择性,生何首乌降低肝细胞中脂质含量的活性强于制何首乌,而制何首乌能更显著地降低血液循环系统中的脂质含量。本课题组在前期研究中发现,将无需高压、高温处理的现代微生物发酵技术运用到何首乌的炮制中,可保持何首乌中二苯乙烯苷等活性成分的量不因炮制过程而显著降低^[7],可能成为何首乌理想的创新炮制方法之一,因而本研究拟通过比较何首乌生品、传统炮制品和发酵炮制品对脂代谢过程的影响活性,评价发酵炮制何首乌的降脂活性,寻找能最大程度发挥何首乌降血脂功效的炮制方法,从而为何首乌临床更加合理有效的应用提供科学的依据。

1 材料

1.1 细胞

正常人肝 L-02 细胞株购自中国科学院昆明动物研究所。

1.2 样品

何首乌购自云南省禄劝县,经云南中医学院中药炮制中心赵荣华教授鉴定为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根,样品现存于云南中医学院中药炮制研究中心。实验所用何首乌的不同炮制品包括何首乌生品、黑豆制品(依《中国药典》2010年版所载方法炮制)、清蒸品(依《中国药典》2010年版所载方法炮制),米根霉菌株发酵得发酵品 A,其中米根霉 *Rhizopus oryzae* 购自云南大学微生物研究所;由本课题组分离得到,并经分子生物学鉴定为黑曲霉 *Aspergillus niger* 发酵得发酵品 B。阳性对照药非诺贝特和洛伐他汀分别购自法国利博福尼制药公司苏威制药和江苏大洋制药有限公司。

1.3 试剂与仪器

对肝 L-02 细胞进行脂变性造模的医用脂肪乳购于四川国瑞药业有限公司,用于细胞观察的 Eclipse Ts 100 荧光倒置相差显微镜购自日本 Nikon 公司。检测使用的三酰甘油(TG)试剂盒和总胆固醇(TC)试剂盒分别购自中生北控和长春汇力生物技术有限公司;样品中 TG 和 TC 的测定由 SUNO AB-1020 全自动生化分析仪(长春赛诺迈德医学技术有限公司)。

2 方法

2.1 样品的配制

2.1.1 不同炮制品水提物的制备 称取 100 g 药材,超声提取 3 次,每次 1 h,第 1 次加 9 倍量水,第 2、3 次加 7 倍量水,合并滤液,浓缩,流膏体经冷冻干燥后得干燥粉末。生何首乌水提物、清蒸何首乌水提物、黑豆制何首乌水提物、发酵何首乌 A 水提物、发酵何首乌 B 水提物的提取率分别为 16.53%、21.92%、16.96%、3.66%、8.23%。

2.1.2 不同炮制品 50%乙醇提取物的制备 称取 100 g 药材,超声提取 3 次,每次 1 h,第 1 次加 9 倍量 50%乙醇,第 2、3 次加 7 倍量 50%乙醇,合并滤液,浓缩,流膏体经冷冻干燥后得干燥粉末。生何首乌醇提物、清蒸何首乌醇提物、黑豆制何首乌醇提物、发酵何首乌 A 醇提物、发酵何首乌 B 醇提物的提取率分别为 13.77%、13.77%、13.50%、7.51%、9.62%。

2.1.3 不同炮制品提取物刺激液的配制 分别精密称取适量何首乌不同炮制品的水提取物和 50%乙醇提取物,依据天然药物提取物体外活性研究的一般浓度范围,用 G_0 液(仅含有 0.2%血清的 RPMI-1640 培养液)、DMSO 将其配制成质量浓度分别为 10、20、40、80、100 $\mu\text{g/mL}$ 的刺激液。

2.1.4 阳性对照刺激液的配制 精密称取适量洛伐他汀和非诺贝特,依据单体化合物体外活性研究的一般浓度范围,用 G_0 液、DMSO 将其配制成浓度为 10、50、100、200、300 $\mu\text{mol/L}$ 的刺激液

2.1.5 医用脂肪乳诱导液的配制 将胎牛血清 10 mL 与 20%医用脂肪乳 5 mL 混匀,用无血清的 RPMI-1640 稀释到 100 mL,即得。

2.2 脂肪变性肝 L-02 细胞模型的建立

取对数生长期的 L-02 细胞用 0.25%胰蛋白酶消化,细胞计数后用正常培养液配成单个细胞悬液,以每孔 3×10^5 个细胞的密度接种于 6 孔培养板中,移入 CO_2 培养箱中,在 37 $^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 及饱和湿度

条件下, 培养 48 h 使其充分贴壁生长, 待细胞长至 80% 融合时, 换成 G_0 液培养 24 h, 使细胞周期同步化。对照组继续给予正常培养液 (含 10% FBS 的 RPMI-1640 诱导液) 培养; 模型组给予含 10% FBS 的医用脂肪乳 RPMI-1640 诱导液培养。各组在上述条件下分别诱导 12、24、48、72 h, 各时间段均设 6 个复孔, 并分别置于倒置显微镜下观察细胞形态, 并使用相应试剂盒于全自动生化分析仪检测 TG、TC 的量, 确定最佳诱导时间。

2.3 分组给药方案

将肝 L-02 细胞接种于 6 孔培养板中, 分为正常组、模型组、给药组细胞, 正常组给予正常培养液培养; 模型组和给药组细胞给予含医用脂肪乳诱导液培养, 以最佳时间诱导成功后, 正常组和模型组继续给予 G_0 液培养; 给药组分别给予何首乌不同炮制品的水提取物、50% 乙醇提取物以及阳性药洛伐他汀、非诺贝特不同浓度刺激液进行培养; 每个浓度设 3 个复孔, 培养时间 24 h。

2.4 肝细胞内 TG、TC 的测定

培养 24 h 后用 PBS 洗涤细胞 1~2 遍, 加入 1 mL 胰酶消化细胞, 再加入正常培养液停止消化, 并吹打细胞, 将各孔中的细胞悬液置于 1.5 mL 离心管中, 2 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 加入 0.01% Triton X-100 1 mL 反复冻融 3 次。当细胞充分裂解后, 4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min, 测定 TG 和 TC 的量。

2.5 统计方法

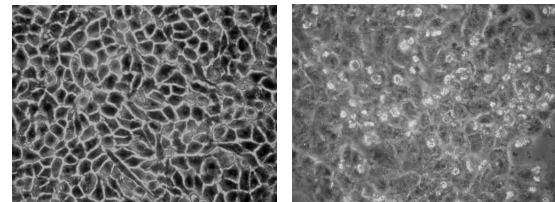
计量资料数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 16.0 统计软件分析处理数据, 所有数据进行单因素方差分析 (ANOVA) 统计, 检验结果均取 $P < 0.05$ 、 $P <$

0.01、 $P < 0.001$ 作为统计学意义差异判断标准。

3 结果

3.1 医用脂肪乳诱导液对肝细胞内 TG、TC 影响

与正常组相比, 在荧光倒置相差显微镜下观察到医用脂肪乳诱导正常肝 L-02 细胞 12 h, 细胞排列紧密, 边缘清晰, 高倍镜下看到偶尔的小脂滴; 诱导 24 h, 细胞排列紧密, 边缘清晰, 脂滴出现; 诱导 48 h, 细胞明显肿大, 脂滴较多且成环状包围细胞, 有脂滴融合现象, 见图 1。诱导 72 h, 死细胞增多, 细胞形态变圆, 培养板底部有空洞区域, 脂滴融合现象明显。



正常

医用脂肪乳诱导 48 h

图 1 正常肝 L-02 细胞诱导造模前后形态

Fig. 1 Morphology of steatosis hepatocyte L-02 before and after model establishment

正常人类肝脏中总胆固醇、三酰甘油的平均含量为 3.9、19.5 mg/g, 而脂肪肝的诊断标准为二者含量之和 $> 50 \text{ mg/g}$ ^[8-9]。参考人类脂肪肝诊断标准, 总胆固醇及三酰甘油含量增加近 1 倍即可认为形成肝细胞脂肪化模型。本研究中各组细胞内脂质含量测定结果显示, 医用脂肪乳诱导 48 h 组细胞内 TG、TC 含量显著升高 ($P < 0.01$), 二者含量比正常组均增加 1 倍以上, 表明本研究利用脂肪乳诱导 48 h 可成功建立肝 L-02 细胞脂肪变性。见表 1。

表 1 医用脂肪乳诱导后肝细胞内 TG、TC 含量 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 Contents of TG and TC in liver cells induced by fat emulsion ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组 别	TG/(mmol·L ⁻¹)				TC/(mmol·L ⁻¹)			
	12 h	24 h	48 h	72 h	12 h	24 h	48 h	72 h
对照	16.75 ± 1.26	16.50 ± 1.25	16.50 ± 1.29	16.50 ± 1.29	4.92 ± 0.79	4.82 ± 1.50	5.07 ± 1.80	3.00 ± 1.07
医用脂肪乳	21.25 ± 1.26*	26.00 ± 1.00**	34.40 ± 1.36**	29.00 ± 0.00**	10.03 ± 0.23	11.13 ± 3.88	11.79 ± 0.54**	14.23 ± 1.59**

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

3.2 何首乌不同炮制品对肝细胞内 TG 影响

与模型组相比, 生何首乌、黑豆制何首乌和清蒸何首乌均可降低脂肪变性肝 L-02 细胞内 TG 的含量, 生何首乌水提取物与清蒸何首乌水提取物作用

略强于黑豆制何首乌的水提取物, 即何首乌生品与清蒸何首乌的水提取物较黑豆制何首乌的水提取物具有更好地降低三酰甘油的作用; 生何首乌 50% 乙醇提取物与黑豆制何首乌 50% 乙醇提取物作用相

当, 但与清蒸何首乌 50%乙醇提取物比作用略弱, 即清蒸何首乌 50%乙醇提取物有较好地降低 TG 的作用。发酵何首乌 A 和发酵何首乌 B 均可降低脂肪

变性肝 L-02 细胞内 TG 的含量, 发酵何首乌 A 的降脂效果强于发酵何首乌 B 及何首乌传统炮制品 ($P<0.01$), 见表 2。

表 2 不同何首乌炮制品对脂变性 L-02 细胞内 TG 含量的变化 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 2 Contents of TG in differently processed products of PMRon steatosis hepatocyte L-02 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组 别	TG/(mmol·L ⁻¹)				
	10 μg·mL ⁻¹	20 μg·mL ⁻¹	40 μg·mL ⁻¹	80 μg·mL ⁻¹	100 μg·mL ⁻¹
正 常	15.17±2.48				
模 型	29.83±6.08				
提取物					
生何首乌水提取物	9.67±0.58**	10.67±0.58**	11.00±0.00**	12.33±4.04**	10.33±0.58**
生何首乌 50%乙醇提取物	26.00±1.00###	21.67±4.16	13.00±2.65**	15.00±1.00**	15.33±1.15**
黑豆制何首乌水提取物	12.67±1.15**	14.33±2.31**	15.33±3.21**	15.00±2.65**	19.33±5.51**
黑豆制何首乌 50%乙醇提取物	16.00±3.61**	13.67±2.87**	11.00±1.00**	10.33±1.53**	9.00±1.00**
清蒸何首乌水提取物	18.67±2.52**	19.33±1.53**	18.67±0.58**	19.00±1.00**	19.33±2.31**
清蒸何首乌 50%乙醇提取物	12.00±1.41**	8.00±0.00**	9.50±2.12**	8.00±1.41**	7.50±0.71***
发酵何首乌 A 水提取物	8.67±2.08**	6.33±3.06***	5.00±1.00***	4.33±1.53***	4.00±1.00***
发酵何首乌 A 50%乙醇提取物	6.00±1.00***	5.00±0.00***	7.33±1.15***	5.00±0.00***	5.67±0.58***
发酵何首乌 B 水提取物	23.00±4.58#	21.33±1.53*	22.00±0.00*	23.00±3.00#	21.5±0.71#
发酵何首乌 B 50%乙醇提取物	20.00±0.00**	19.67±0.58**	19.33±1.53**	18.67±0.58**	19.33±0.58**
阳性对照	10 μmol·L ⁻¹	50 μmol·L ⁻¹	100 μmol·L ⁻¹	200 μmol·L ⁻¹	300 μmol·L ⁻¹
洛伐他汀	14.00±0.00**	13.00±0.00**	13.50±2.12**	14.00±1.41**	12.50±0.71**
非诺贝特	12.67±4.62**	13.00±2.65**	10.67±1.15**	10.33±0.58**	10.33±0.58**

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与正常组比较: # $P<0.05$ ### $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group; # $P<0.05$ ### $P<0.01$ vs control group

3.3 何首乌不同炮制品对肝细胞内 TC 影响

与模型组相比, 何首乌不同炮制品水提取物均可降低脂肪变性肝 L-02 细胞内 TC 的量($P<0.01$), 以发酵何首乌 A 对 TC 的降低作用最明显, 发酵何首乌 B 和生何首乌降低相当, 均略弱于发酵何首乌 A。生何首乌及其两种传统炮制品 50%乙醇提取物均可降低脂肪变性肝 L-02 细胞内 TC 的量, 其中黑豆制何首乌 50%乙醇提取物>生何首乌 50%乙醇提取物>清蒸何首乌 50%乙醇提取物, 且黑豆制何首乌 50%乙醇提取物降低 TC 的活性在 10~100 μg/mL 呈现一定的量效关系。与阳性药相比, 黑豆制何首乌也具有较好的降低 TC 的作用。故黑豆制何首乌 50%乙醇提取物较生何首乌和清蒸何首乌乙醇提取物降低 TC 的作用更好。发酵何首乌 A 水提取物和 50%乙醇提取物均能极显著地降低脂肪变性肝 L-02 细胞内 TC 的量 ($P<0.01$), 其降脂作用均强于何首乌传统炮制品, 见表 3。

4 讨论

随着人们生活水平的提高、饮食结构的变化, 冠心病、脑中风、糖尿病、肥胖等与脂代谢异常相关的疾病发病率正在逐年的上升。我国成人血脂异常患病率已高达 18.6%, 约 1.6 亿人血脂异常, 其中高胆固醇血症 2.9%, 高三酰甘油血症 11.9%, 低密度脂蛋白血症 7.4%, 另有 3.9% 的人血胆固醇边缘升高^[10]。针对脂代谢异常的调控研究因其广阔的科学研究价值、迫切的社会医疗需要而越来越受到广大科学工作者的关注。而中药较西药更缓和、不良反应少, 最终达到标本兼治的目的, 故开发具有调节脂代谢的中药及其制剂用于治疗脂代谢异常疾病具有较为广阔的前景。

生何首乌多用于解毒、消痈、截疟、润肠通便, 制何首乌多用于补肝肾、益精血、化浊降脂。故临床多以制何首乌治疗高脂血症、高血压、动脉硬化症、冠心病等心血管疾病。大多数现代研究发现何

表 3 不同何首乌炮制品对脂变性 L-02 细胞内 TC 含量的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)Table 3 Contents of TC in differently processed products of PMR on steatosis hepatocyte L-02 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组 别	TC/(mmol·L ⁻¹)				
	10 μg·mL ⁻¹	20 μg·mL ⁻¹	40 μg·mL ⁻¹	80 μg·mL ⁻¹	100 μg·mL ⁻¹
正 常	4.92±0.79				
模 型	11.84±0.53				
提取物					
生何首乌水提取物	4.00±0.27**	4.00±0.27**	4.00±0.27**	4.00±0.27**	4.00±0.27**
生何首乌 50%乙醇提取物	7.04±1.38 ^{###}	7.04±1.38 ^{###}	7.04±1.38 ^{###}	7.04±1.38 ^{###}	7.04±1.38 ^{###}
黑豆制何首乌水提取物	8.35±0.99 ^{###}	8.35±0.99 ^{###}	8.35±0.99 ^{###}	8.35±0.99 ^{###}	8.35±0.99 ^{###}
黑豆制何首乌 50%乙醇提取物	7.02±2.53**	7.02±2.53**	7.02±2.53**	7.02±2.53**	7.02±2.53**
清蒸何首乌水提取物	7.62±1.12 ^{##}	7.62±1.12 ^{##}	7.62±1.12 ^{##}	7.62±1.12 ^{##}	7.62±1.12 ^{##}
清蒸何首乌 50%乙醇提取物	9.83±1.00*	9.83±1.00*	9.83±1.00*	9.83±1.00*	9.83±1.00*
发酵何首乌 A 水提取物	5.28±1.01**	5.28±1.01**	5.28±1.01**	5.28±1.01**	5.28±1.01**
发酵何首乌 A 50%乙醇提取物	4.38±0.97**	4.38±0.97**	4.38±0.97**	4.38±0.97**	4.38±0.97**
发酵何首乌 B 水提取物	3.96±0.92**	3.96±0.92**	3.96±0.92**	3.96±0.92**	3.96±0.92**
发酵何首乌 B 50%乙醇提取物	4.33±0.27**	4.33±0.27**	4.33±0.27**	4.33±0.27**	4.33±0.27**
阳性对照	10 μmol·L ⁻¹	50 μmol·L ⁻¹	100 μmol·L ⁻¹	200 μmol·L ⁻¹	300 μmol·L ⁻¹
洛伐他汀组	3.31±0.12 ^{###}	3.31±0.12 ^{###}	3.31±0.12 ^{###}	3.31±0.12 ^{###}	3.31±0.12 ^{###}
非诺贝特组	3.66±0.25 ^{###}	3.66±0.25 ^{###}	3.66±0.25 ^{###}	3.66±0.25 ^{###}	3.66±0.25 ^{###}

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与正常组比较: ^{##} $P<0.05$ ^{###} $P<0.01$ * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group; ^{##} $P<0.05$ ^{###} $P<0.01$ vs control group

首乌中的二苯乙烯苷为降脂、抗动脉粥样硬化等的主要活性成分,课题组前期研究证实何首乌经炮制后二苯乙烯苷含量明显下降,故何首乌的炮制方法仍具有改善空间。近年来有报道^[1]用微生物发酵法炮制中药后可达到“减毒增效”之功,扩大了适应症,如黄芪、印度獐芽菜、雷公藤、旱莲木、大黄、五倍子等,即利用微生物能够产生丰富的酶系,这些酶系可在常温常压接近中性 pH 值的温和条件下催化化学反应,利用酶的专一性发酵炮制中药,对中药毒性成分进行有针对性的改造或降解,保证中药有效成分不受影响^[12],此种新型发酵炮制技术将对中药的发展产生重要影响。

本课题组将现代微生物发酵技术运用到何首乌的炮制中,前期研究筛选得到可使二苯乙烯苷含量得到最大限度保存的菌株米根霉和菌株黑曲霉,发酵得到发酵何首乌 A 和发酵何首乌 B 作为实验研究样品。采用医用脂肪乳诱导 48 h 建立脂肪变性肝 L-02 细胞模型,给予何首乌不同炮制品(含生何首乌、黑豆制何首乌、清蒸何首乌、发酵何首乌 A 和发酵何首乌 B)水、50%乙醇提取物加以培养,通过检测肝细胞内 TG、TC 的含量来评价对脂代谢影响显著的何首乌炮制品。同时,本研究选用了临床

上常用于治疗高胆固醇血症和混合型高脂血症的洛伐他汀及常用治疗高三酰甘油血症和高胆固醇血症的非诺贝特为双阳性对照,以更客观地评价各提取物的活性。

研究结果显示生何首乌及传统炮制品、发酵炮制品均有显著降低脂肪变性肝 L-02 细胞内 TG、TC 的含量($P<0.01$),其中,发酵品 A 水及 50%乙醇提取物、生何首乌水提取物、黑豆制何首乌 50%乙醇提取物和清蒸何首乌 50%乙醇提取物具有较好的降脂作用;发酵品 A 降脂作用强于生何首乌及何首乌的传统炮制品,表明发酵法可能成为何首乌炮制法研究的新方向,但何首乌经过发酵后其降脂作用的增效作用还应结合其他指标及整体动物试验进一步的研究相结合进行探讨。

参考文献

- [1] 王文静,薛咏梅,赵荣华,等.何首乌的化学成分和药理作用研究进展[J].云南中医学院学报,2007,30(3):60-64.
- [2] 许冬瑾,陶 艳,王三姓,等.高压炮制对何首乌中二苯乙烯苷和卵磷脂的影响[J].中草药,2011,42(1):78-80
- [3] 中国药典[S].一部.2010:164.

- [4] 刘成基, 张清华, 林 军. 炮制何首乌对小鼠实验性肝损伤后肝脂代谢的影响 [J]. 中国中药杂志, 1992, 17(10): 595-596.
- [5] Wang M, Zhao R, Wang W, *et al.* Lipid regulation effects of *Polygoni Multiflori Radix*, its processed products and its major substances on steatosis human liver cell line L02 [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(1): 287-293.
- [6] Li N, Chen Z, Mao X, *et al.* Effects of lipid regulation using raw and processed *Radix Polygoni Multiflori* in rats fed a high-fat diet [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012. doi: 10.1155/2012/329171.
- [7] 杜晨晖, 王兴红, 赵荣华, 等. 发酵法炮制何首乌的初步研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(3): 540-544.
- [8] Kwiterovich P O Jr, Sloan H R, Fredrickson D S. Glycolipids and other lipid constituents of normal human liver [J]. *J Lipid Res*, 1970, 11(4): 322-330.
- [9] Szczepaniak L S, Nurenberg P, Leonard D, *et al.* Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2005, 288(2): E462-468.
- [10] 中华人民共和国卫生部, 中华人民共和国科学技术部, 中华人民共和国国家统计局. 中国居民营养与健康现状 [R]. 2004-10-12.
- [11] 赵雯玮, 陈祥贵, 李 鑫. 微生物发酵在中药研究中的应用 [J]. 生命科学仪器, 2008, 6(10):3-5.
- [12] 宋 欣. 微生物酶转化技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 2.