

儿茶素和漆黄素对铁超载模型大鼠血脂的影响^{*}

冯 星, 许东晖, 梅雪婷, 朱 良, 陈丽琼, 许实波

(中山大学药学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 分别从中药苞蔷薇根、叶醇提物中分离得到(+)-儿茶素((+)-catechin, CAT)、漆黄素(fisetin, FIS), 通过铁超载模型来观察 CAT 和 FIS 对铁中毒大鼠血脂的影响。定期饲养大鼠含羰基铁的饲料造成大鼠体内铁超载, 给药组在造模的同时给予 CAT、FIS 或去铁胺(DFO)。给药 3 个月后, 检测血清中的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-CHO)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-CHO)、总胆固醇(T-CHO)、甘油三酯的含量(TG)以及血清铁水平。实验结果证明 CAT、FIS 能非常显著地抑制铁超载大鼠的体重下降, 降低血清中铁的含量, 抑制血脂中 LDL、T-CHO 水平的升高, CAT 还可以抑制 TG 水平的升高。CAT 和 FIS 对铁超载引起的血脂异常有保护作用

关键词: 硕苞蔷薇; (+)-儿茶素; 漆黄素; 铁超载; 血脂

中图分类号: R559; R595.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579(2004)02-0088-04

铁与血脂的关系现在的文献报道不多, 但是杨宝存等^[1]发现铁离子能促进培养中的动脉平滑肌细胞对低密度脂蛋白的转化作用, 加速粥样斑块的形成, 有高血脂铁蛋白和高血清低密度脂蛋白胆固醇的人群有着潜在的心脏病高发危险^[2]。

硕苞蔷薇(+)-儿茶素和漆黄素是分别从苞蔷薇(硕苞蔷薇 *Rosa bracteata* Wendl.) 的根和叶中分离得到。硕苞蔷薇为蔷薇科蔷薇属植物。民间用于治疗疝气、梦遗滑精、子宫下垂、久泻等^[3,4]。本研究室以硕苞蔷薇根的 75%乙醇提取物, 经多次硅胶柱层析, 从中得到了白色丝状结晶(+)-Catechin, $[\alpha]_D^{20} +15$ ($c=0.1$ mol/L, 甲醇)。各种核磁共振谱的解析结果及其它测试数据的分析结果与文献中(+)-儿茶素的化学结构相符^[5]。确定为 2H-1-Benzopyran-3 α , 5, 7 triol, 2 β -(3, 4 dihydroxy phenyl), 3, 4 dihydro, 如图 1 所示。

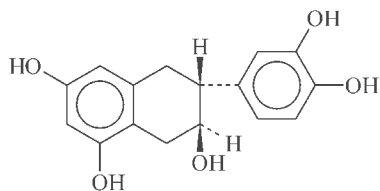


图 1 (+)-儿茶素的结构

Fig. 1 Structure of (+)-catechin

以硕苞蔷薇叶的 $\varphi=75\%$ 乙醇提取物, 经多次硅胶柱层析, 得到淡黄色矩形结晶漆黄素

(fisetin)。经结构鉴定为 3, 3', 4', 7 tetrahydroxy-flavone, 5-deoxyquercetin(图 2)。

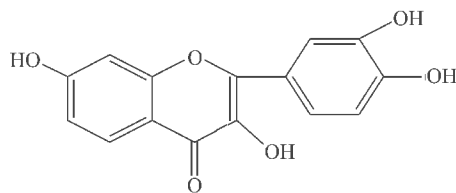


图 2 漆黄素的结构

Fig. 2 Structure of fisetin

此两种化合物均为首次从该植物中分离得到。CAT 被发现能改善铝超载所致的小鼠学习记忆障碍, 并且具有很强的抗氧化能力^[6]。FIS 可抑制肝脂细胞的增殖并显著抑制 TGF(促进的胶原合成)^[7]。本研究以添加羰基铁到基础饲料中造成大鼠铁超载模型, 研究 CAT 和 FIS 对铁超载大鼠血脂的影响。

1 材 料

1.1 动 物

健康 Sprague-Dawley 纯系雄性大鼠, 体质量为 100~120 g。广东省医学实验动物中心提供, 合格证号: 广东省科学技术委员会 2001A046; 广东省医学实验动物管会 26-2002A003。

1.2 药品及试剂

硕苞蔷薇儿茶素(CAT)和漆黄素(FIS)均由

^{*} 收稿日期: 2003-06-13

基金项目: 2001 国家自然科学基金资助项目(30170105); 广东省科技计划资助项目(C30402)

作者简介: 冯 星(1973 年生), 男, 博士生; 通讯联系人: 许东晖; E-mail: lsdb@zsu.edu.cn

本研究室自行分离得到，经 HPLC 分析分别测得儿茶素总含量为 97.8、漆黄素总含量为 98.4，使用前用蒸馏水配制，超声 5 min 助溶。阳性药去铁胺（desferrioxamine methane sulphonate, DFO），瑞典，Navortis Pharma AG Basle 生产，使用前用生理盐水配制。羧基铁为国产分析纯。LDL-CHO、HDL-CHO、T-CHO、TG 试剂盒由北京中生科技股份有限公司生产，血清铁试剂盒由南京建成生物工程研究所生产。

1.3 仪器

GL 20C 型高速冷冻离心机（中国科学院武汉仪器厂），752 型紫外分光光度计（上海精密科学仪器有限公司分析仪器总厂）。

2 方法与结果

2.1 动物分组及处理

将 SD 大鼠随机分成 9 组，分别为 CAT 高剂量组、CAT 中剂量组、CAT 低剂量组；FIS 高剂量组、FIS 中剂量组、FIS 低剂量组；正常对照组、模型对照组和阳性对照组。每组八只大鼠。正常对照组喂以全价营养颗粒饲料，其余各组大鼠给以 $w = 2.5\%$ 羧基铁的基础饲料。每周各给药组按表 1 中所示剂量每周灌胃 5 d，共给药 3 个月。空白对照组和模型对照组均给以等量的生理盐水，阳性药给药方式为肌注。每周记录大鼠体重一次。生长曲线见图 3 所示。结果表明铁超载大鼠生长较正常对照组明显减慢，各给药组大鼠的生长与模型组相比有非常显著性差异 ($P < 0.01$) 或显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.2 对铁超载大鼠血清铁含量的影响

按表 1 中所示方法和剂量给药 3 个月。末次给药后，禁食不禁水 24 h，摘眼球取血，3 000 r/min 离心 15 min，分离血清。依血清试剂盒方法测定血清铁含量。结果见图 4，模型对照组大鼠血清铁明显升高。与模型对照组比，CAT 高、中剂量组和 FIS 高、中、低剂量组以及阳性对照组大鼠血清铁含量均有非常显著性的下降 ($P < 0.01$)。结果提示 CAT 和 FIS 均可以显著降低铁超载大鼠体内的血清铁水平。而 FIS 组的效果要好于同等剂量的 CAT 组 ($P < 0.05$)。

2.3 对铁超载大鼠血脂的影响

以上分离得到的血清用聚乙烯硫酸沉淀法测定 LDL-CHO 的含量；用磷钨酸镁沉淀法测定 HDL-CHO 的含量；用胆固醇 PAP 方法测定 T-CHO 的含量；用酶比色法（GRO-PAP）测定 TG 的含量。

由表 1 可见铁超载大鼠的血脂中 T-CHO、LDL-

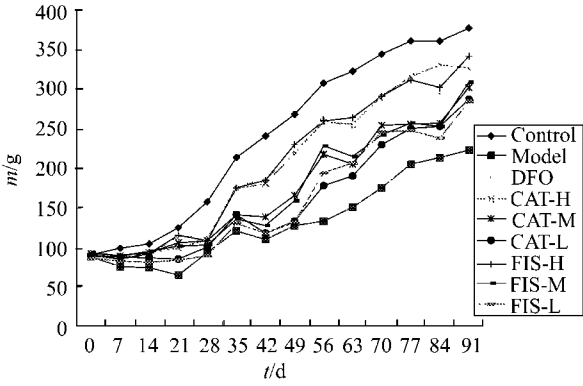


图 3 CAT 和 FIS 对铁超载大鼠生长的影响 (n=8)

Fig 3 Effects of CAT and FIS on the growth of iron overloaded mice

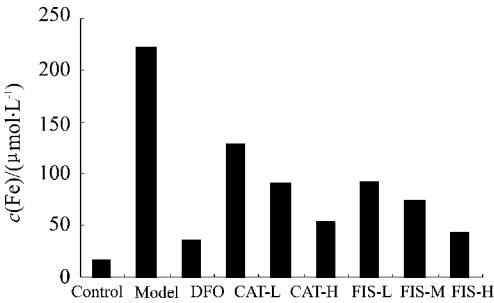


图 4 CAT 和 FIS 铁超载大量血清铁的影响 (n=8)

Fig 4 Effects of CAT and FIS on the serum Iron of iron overloaded mice

CHO、TG 均有不同程度的升高 ($P < 0.01$)。而 HDL-CHO 没有明显变化 ($P > 0.05$)。而 CAT 高剂量可非常显著性地降低铁超载引起的 LDL-CHO、TG 的升高 ($P < 0.01$)。CAT 高剂量还可以显著性的降低铁超载引起的 T-CHO 升高 ($P < 0.05$)。

CAT 中剂量可以显著性地降低铁超载引起的 TG 升高 ($P < 0.05$)。FIS 高剂量可显著性地降低铁超载引起的 LDL-CHO 升高 ($P < 0.05$)。提示 CAT 和 FIS 均可不同程度地抑制铁超载大鼠体内血脂的异常变化。

3 讨论

长期口服补铁剂能引起慢性毒副作用，在肝、脾、胰和心肌中沉着，形成铁超载 (iron overloaded)，造成细胞肿胀、组织坏死、纤维化、肾功能衰竭等病变^[8]。羧基铁是一种生物利用度较高的铁形式，它是以元素铁的形式存在于中心体 (小于 5 μm)，也常用来作为食品的补充物。可以在短期内 (2~4 个月) 造成 50~100 倍于正常的肝脏非红细胞铁浓度。可导致肝纤维化、肝硬化发生^[9]。

流行病学调查表明，体内铁超载可以引起血脂

表 1 CAT 和 FIS 对铁超载大鼠血脂的影响
Tab 1 Effects of CAT and FIS on the blood lipids in iron overloaded mice

组别	剂量 (mg·kg ⁻¹)	c(T-CHO) (mmol·L ⁻¹)	c(LDL-CHO) (mmol·L ⁻¹)	c(HDL-CHO) (mmol·L ⁻¹)	c(TG) (mmol·L ⁻¹)
对照	—	1.63±0.32	0.84±0.24	1.28±0.22	0.99±0.25
Model	—	2.22±0.30	1.38±0.27	1.38±0.32	1.43±0.22
DFO	31.5	2.13±0.42	1.08±0.28 ^{▲*}	1.32±0.20	1.39±0.28
CAT-L	3.5	2.11±0.35	1.24±0.46	1.28±0.26	1.37±0.37
CAT-M	10.5	2.08±0.34	1.17±0.18	1.22±0.23	1.15±0.23 ^{▲*}
CAT-H	31.5	1.72±0.38 ^{▲*}	0.97±0.20 ^{▲▲*}	1.37±0.25	0.96±0.34 ^{▲▲*}
FIS-L	3.5	2.08±0.46	1.25±0.35	1.31±0.33	1.44±0.26
FIS-M	10.5	2.06±0.39	1.22±0.33	1.34±0.14	1.41±0.30
FIS-H	31.5	1.94±0.31 [*]	1.02±0.26 ^{▲*}	1.27±0.21	1.30±0.32

1) $\bar{x} \pm S$, $n = 8$, ▲, $P < 0.05$ vs. 模型, ▲▲, $P < 0.01$ vs. 模型; *, $P > 0.05$ vs. 对照

代谢紊乱而致动脉粥样硬化(AS)发生^[10]。

体外实验也证明了,铁离子能促进动脉平滑肌 LDL 的合成、加速细胞膜脂质过氧化损伤过程及抑制 SOD 活性^[11]。本实验利用羧基铁长期饲服大鼠来造成大鼠铁超载,结果发现,模型对照组大鼠体重明显减轻,血清中铁含量明显升高,血脂中 T-CHO、LDL-CHO、TG 均有不同程度的升高。提示血清铁的升高与脂质代谢异常有关。给予 CAT 和 FIS 以后,大鼠体重减轻变慢,血清铁水平以及 T-CHO、LDL、TG 水平有明显下降。提示 CAT 和 FIS 可以改善铁超载对大鼠的毒性作用。

这种作用可能主要通过以下三个方面来实现的,①抗氧化;②螯合金属铁离子;③降血脂。已经有很多的实验可以证明黄酮类化合物可以与铁参与的氧化体系中的铁离子发生作用,从而达到了抑制氧化反应的产生^[12]。两者的结构式中 B 环上都有邻二酚羟基,这两个羟基的存在极大增强了其抗氧化活性,可以认为是高效黄酮类抗氧化的结构基础^[13,14]。从结果中我们可以看到 FIS 在降低血清铁水平上效果要好于 CAT。这可能是 FIS 还具有 5,7 位酚羟基,这不仅是抗氧化所必须的,也可与金属离子络合。从理论上来说,4 位上羧基的存在延长了共轭体系,可使黄酮体形成较稳定的自由基中间体,这些也正好可以来解释为何 FIS 的效果在某种程度上要优于 CAT。而 CAT 在降低血清甘油三酯水平上的效果又要好于 FIS,这是因为 CAT 上的多个酚羟基可以通过自身的强抗氧化活性抑制胆固醇的氧化,使酸败物形成量减少,抑制脂质物在血管壁上的沉积,另一方面可以阻止食物中不饱和脂肪酸的氧化,从而减少了血清中胆固醇的含量并保持脂质在动脉壁的正常进出的动态平衡。从而达到降血脂的目的,这一点与沈新南等^[15]的结果相同。

参考文献:

[1] 杨宝存,张彩霞.铁和血清脂质对心脏的影响[J].国外医学—医学地理学分册,1993,14(4):184—189.
[2] 邱耀良.必需微量元素铁与疾病的关系[J].广东微量元素科学,1997,4(10):19—22.
[3] 江苏新医学院.中药大辞典(上册)[M].上海:上海科技出版社,1977:1307.
[4] 袁干军,杜方麓.硕苞蔷薇的化学成分研究[J].中药材,2000,23(8):454—456.
[5] GRASSELLI J G, RITELEY W M. Atlas of spectral data and physical constants for organic compounds[M]. 2nd Ed. CRC Press Inc, 1975: 367.
[6] 冯星,许东晖,梅雪婷.硕苞蔷薇儿茶素对铝超载小鼠学习记忆能力的改善作用[J].中国药科大学学报,2002,33(4):321—326.
[7] 张琨.抗肝纤维化药物研究现状[J].国外医学药学分册,2002,27(2):95—99.
[8] HALIDAY J W, POWELL L W. Iron overload[J]. Semin Hemato, 1982, 19: 42—43.
[9] BASSETT W J, TONG T G. Iron poisoning[J]. Pediatr Clin N Am, 1986, 33: 393—409.
[10] SULLIVAN J L. Stored iron and ischemic heart disease. Empirical support for a paradigm[J]. Circulation, 1992, 86(3): 1036—1044.
[11] HEINECHE J W. Iron and copper promote modification of low density lipoprotein by human arterial smooth muscle cells in culture[J]. J Clin Invest, 1984, 74: 1890—1896.
[12] Afanas'ev I B. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation[J]. Biochem Pharmacol, 1989, 38: 1763—1789.
[13] HISAIN S R. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids[J]. Phytochemistry, 1987, 26: 2489—2491.
[14] YONERS M. Inhibitory action of some flavonoids on enhanced spontaneous lipid peroxidation following glutathione depletion[J]. Planta Medica, 1981, 43: 240—244.
[15] 沈新南.茶多酚降血脂抗血栓的实验研究[J].营养学报,1993,15(2):148—149. (下转第 94 页)

photosynthetic response to environmental conditions[M] . Heidelberg Berlin: Springer-Verlag Press 1982: 549— 587.

[6] 邓雄, 李小明, 张希明, 等. 多枝桤柳气体交换特性研究 [J] . 生态学报, 2003, 23 (1): 180— 187.

[7] 蔡楚雄, 邓雄, 刘世平, 等. 4 种木瓜品种的呼吸作用以及其耐荫性研究[J] . 中山大学学报(自然科学版), 2003, 42(增刊): 211— 214.

[8] KUPPERS, SCHULAZE E D. An empirical model of net photosynthesis and leaf conductance for the simulation of diurnal courses of CO₂ and H₂O exchange[J] . AUST J Plant Physiol, 1985, 12: 513— 526.

[9] COWAN I R. Stomatal behavior and environment [J] . Advances in Botanical Research, 1977, 4: 117— 228.

Comparative Analyses of Photosynthetic Parameters in Response Curves of *Carica papaya* Linn. Grown Under Uncovered Field and Network Conditions

DENG Xiong¹, YE Wanhui¹, YANG Qi he¹, XU Kai yang¹,
CAO Hong ting¹, CAI Chu xiong², LIU Shi ping²

(1. South China Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Guangdong Guangzhou 510650, China;
2. Dongguang Botany Garden, Guangdong Dongguang 523079, China)

Abstract: To compare photosynthetic ability of *Carica papaya* Linn. grown under traditional uncovered field and network conditions, the photosynthetic response curves were determined and related parameters were analyzed using some photosynthetic models. The results showed: ① leaves of *C. papaya* under network conditions had lower dark respiration, light compensation point, light saturated point and higher apparent quantum yield, light conversion efficiency, maximum carboxylation rate and maximum electron transport rate, and ② Fitting of the response curves with the model of $g_s - A_n$ (RH/C_a) suggested that the stomata of the leaves was more sensitive to the light and thermal factors, with g_s , the sensitivity of stomatal conductance, were higher under uncovered field than under network and g_0 , stomatal conductance in dark, were lower under uncovered field ($P \leq 0.05$). It suggested that network planting was helpful for mitigating the stress caused by high light and air temperature, and for improving the photosynthetic efficiency.

Key words: network planting; *Carica papaya* Linn; photosynthetic response curve

(上接第 90 页)

The Effects of Catechin and Fisetin on Blood Lipids of Iron loaded Mice Model

FENG Xing, XU Dong hui, MEI Xue ting, ZHU Liang, CHEN Li qiong, XU Shi bo
(School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: To investigate the effects of catechin (CAT) and fisetin (FIS), which is extracted from *Rosa bracteata* Wendl. on the of iron loaded mice. Carbonyl iron was added in the food of mice to make them iron overloaded model. CAT (3.5, 10.5, 31.5 mg·kg⁻¹, po) and FIS (3.5, 10.5, 31.5 mg·kg⁻¹, po) were treated for 3 months. The level of HDL Cho, LDL Cho, T Cho, TG, Fe³⁺ in serum were tested after 3 months. CAT and FIS could restrain the weight fall of the iron loaded mice and reduce Fe³⁺ level and LDL level of serum. CAT could also restrain the TG level. CAT has the protective effects on the abnormalities of the iron overloaded mice.

Key words: *Rosa bracteata* Wendl; (+) catechin; fisetin; blood lipids; iron overloaded