

罗汉果黄酮的活血化瘀药理作用研究*

Study on the Pharmacological Function of Stimulate Circulation to End Stasis of Flavone from *Momordica grosvenori*陈全斌¹, 沈钟苏¹, 韦正波², 钟正贤³Chen Quanbin¹, Shen Zhongsu¹, Wei Zhengbo², Zhong Zhengxian³

(1. 广西师范大学资源与环境学系, 广西桂林 541004; 2. 广西医科大学附属肿瘤医院, 广西南宁 530021; 3. 广西中医药研究所, 广西南宁 530022)

(1. Dept. of Resources and Environment, Guangxi Normal Univ., Guilin, Guangxi, 541004, China; 2. Tumor Hospital of Guangxi Medical Univ., Nanning, Guangxi, 530021, China; 3. Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Science, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要: 为了观察罗汉果黄酮的活血化瘀药理作用, 采用水提和树脂吸附方法提取罗汉果黄酮, 采用尾静脉注射胶原蛋白和肾上腺素造成小鼠体内血栓, 测定药物对小鼠脑血栓的保护率; 用腺苷-5-二磷酸钠盐 (ADP) 诱导大鼠血小板聚集, 计算药物对血小板聚集的抑制率; 腹腔注射 75% 蛋黄乳液造成实验性高血脂症, 测定血清总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白含量; 采用毛细玻璃管法测定小鼠凝血时间, 并进行了急性毒性试验。结果表明, 罗汉果黄酮对血栓形成有一定的保护作用; 能抑制 ADP 诱导大鼠血小板聚集; 明显降低高胆固醇血症小鼠的 TC 和 TG 含量, 提高 HDL-C 的水平; 以及延长小鼠的凝血时间。说明罗汉果黄酮具有一定的抗血栓形成、抗血小板聚集、降血脂、抗凝血等活血化瘀药理作用。急性毒性试验结果表明, 罗汉果黄酮对小鼠的最大给药量为 60.85g/kg。

关键词: 罗汉果 黄酮 药理 活血化瘀 动物实验

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2005)04-0316-04

Abstract To evaluate the pharmacological function of stimulate circulation to end stasis effects, of flavone from *Momordica grosvenori*. Extracted flavone from *M. grosvenori* by water and method of absorption resin; injection of collagen and adrenalin through vein of tail of mice causing thrombus, and detected protection-rate from thrombus in brain by flavone; induced aggregation of platelet in rats by ADP method, calculating inhibition of flavone on aggregation of platelet; hyperlipidemia in mice was induced by intraperitoneal injection of 75% solution of egg yolk, and concentrations of total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and high density lipoprotein (HDL) was detected; detected coagulation time (CT) in mice by capillary tube method; acute toxicity assay was also performed. Result flavone from *M. grosvenori* could inhibit formation of thrombus and aggregation of platelet induced by ADP; could decrease the concentration of TC and TG in mice with hyperlipidemia, and increase the level of HDL-C in mice, while prolonging CT. Flavone from *M. grosvenori* have functions of antithrombogenicity, inhibition of thrombus formation, aggregation of platelet and could decrease the level of TG, TC and HDL, and acute toxicity assay suggests that maximum dose of administration to mice is 60.85g/kg.

Key words *M. grosvenori*, flavone, pharmacology, stimulate circulation to end stasis, animal study

收稿日期: 2005-02-05

修回日期: 2005-04-07

作者简介: 陈全斌 (1957-), 男, 广西人, 高级工程师, 从事天然产品开发与研究工作。

* 广西科学研究与技术开发计划项目 (桂科能 0443001-12) 和广西师范大学重点科研项目联合资助。本项目有关罗汉果叶的利用已申请国家专利, 申请号: 200310110827. X

罗汉果 (*Momordica grosvenori*) 是葫芦科罗汉果属植物, 其成熟果实为广西桂北地区的传统特产, 广泛用于医药、饮料和调味品中^[1]。前人已经对罗汉果成熟果实中的甜甙^[2-4]、多糖^[5]、黄酮^[6,7]、块根中

淀粉^[8]及其药用成份^[9]及种仁油^[10]等进行了较多的研究,陈全斌等^[11]研究证实罗汉果叶含有黄酮类化合物,其甙元为:槲皮素和山奈酚。本文以罗汉果叶为原料,采用水提和树脂吸附方法提取总黄酮,用HPLC进行含量测试,将罗汉果黄酮进行相应的药理实验研究罗汉果黄酮的活血化瘀药理作用。

1 实验部分

1.1 罗汉果叶黄酮提取

罗汉果叶黄酮的提取,按文献^[11]方法进行。经HPLC方法检测,提取物中总黄酮含量为57.8%。

1.2 药理实验

1.2.1 实验材料

药物与试剂:罗汉果黄酮,实验时用蒸馏水溶解配制所需浓度。阿斯匹林肠溶片,桂林南药股份有限公司产品,批号:041101。洛伐他丁胶囊,扬子江药业有限公司产品,批号:04072201。复方丹参注射液,江苏康恬制药有限公司产品,批号:020115。腺苷-5-二磷酸钠盐(ADP),中国医药(集团)上海化学试剂公司产品,批号:20010510。胶原蛋白,Worthington生物化学公司产品;盐酸肾上腺素注射液,天津金耀氨基酸有限公司产品,批号:0211211。血清总胆固醇(TC),批号:0504071;甘油三酯(TG),批号:0604071;高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C),批号:030326,均为四川迈克科技有限公司产品。

实验仪器:BS63型血小板聚集仪,北京生化仪器厂生产。

实验动物:NIH种小鼠,20~25g;SD系大白鼠,200~250g,均由广西中医药研究所实验动物室提供。

1.2.2 实验方法与结果

1.2.2.1 抗脑血栓作用^[12]

取25~30g小鼠40只,雌雄兼用,随机分为正常对照组,阳性药阿斯匹林(100mg/kg)组,罗汉果黄酮大小剂量(400mg/kg、200mg/kg)组。用药各组每天灌胃给药1次,连续7d,正常对照组给予等量的蒸馏水。末次给药1h后,尾静脉注射胶原蛋白(112.5 μ g/只)与肾上腺素(4.5 μ g/只)的混合诱导剂(0.1ml/只),注射后观察5min内小鼠死亡数或15min内小鼠偏瘫的未恢复数,计算药物对小鼠脑血栓的保护率, χ^2 检验。结果见表1。

表2结果显示,阳性药阿斯匹林具有明显的抗脑血栓作用,而罗汉果黄酮大小剂量组15min内小鼠偏瘫的恢复率分别为40%和10%,与对照组比较,作用不够明显,但提示罗汉果黄酮对小鼠脑血栓形成有一定的保护作用。

表1 罗汉果黄酮对小鼠脑血栓的影响

Table 1 Influence of flavone from *M.grosvenori* on thrombus in brain of mice

组别 Groups	剂量 Doses (mg/kg)	动物数 Number of animal(只)	15min内恢复数 Number of the recovery in 15min(只)	恢复率 Recovery (%)
对照组 Control	-	10	0	0
阿斯匹林 Aspirin	100	10	7*	70
罗汉果黄酮 Flavone from <i>M.grosvenori</i>	400	10	4	40
	200	10	1	10

与对照组比较,** $P < 0.01$ Compared with control group,** $P < 0.01$.

1.2.2.2 罗汉果黄酮对ADP诱导大鼠血小板聚集的影响^[13]

取体重200~250g大白鼠,用3%戊巴比妥钠0.1ml/100g体重腹腔注射麻醉后,剖开腹腔,从腹腔主动脉取血,注入盛有3.8%枸橼酸钠溶液试管中(血与抗凝剂之比为9:1)轻轻摇匀,以1000rpm离心5min,吸取上清液为富血小板血浆(PRP),余血继续离心3000rpm离心10min,吸取上清液为贫血小板血浆(PPP)。将BS63型血小板聚集仪打开预热30min后,用PRP调零(0%),用PPP调幅度(100%)。测定时,对照管取PRP0.4ml及生理盐水20 μ l,给药管取PRP0.4ml及罗汉果黄酮(30mg/ml)20 μ l、10 μ l,放入比浊管中,在37 $^{\circ}$ C恒温及1300rpm搅拌条件下加入ADP 50 μ l(50 μ g/ml),用自动平衡仪以20mm/min纸速记录对照管和给药管血小板聚集曲线,根据所记录的曲线计算聚集率(%)和聚集抑制率(%)。结果见表2。

表2 罗汉果黄酮对ADP诱导大鼠血小板聚集的影响

Table 2 Influence of flavone from *M.grosvenori* on gathering of platelet induced by ADP in rats

组别 Groups	剂量 Doses (mg/ml)	动物数 Um ber of animal (只)	聚集率 Conglomeration (%)	聚集抑制率 Conglomeration restrai- tion (%)
生理盐水组 Physiological saline solution		8	75.75 \pm 11.33	
复方丹参组 Fufang danshen	20 μ l	8	53.12 \pm 11.07*	30.27 \pm 4.60
罗汉果黄酮 Flavone from <i>M.grosvenori</i>	1.50	8	59.25 \pm 11.62	22.01 \pm 7.13
	0.75	8	67.25 \pm 11.07	11.39 \pm 5.23

与对照组比较:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ Compared with control group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$.

表2结果表明,罗汉果黄酮大剂量具有抑制ADP诱导大鼠血小板聚集的作用,小剂量作用不明显。提示罗汉果黄酮具有一定的抗血小板聚集作用。

1.2.2.3 对高胆固醇血症小鼠血脂的影响

按文献 [14] 的方法,取 1~ 2d 新鲜鸡蛋,除去蛋清,用消毒生理盐水搅拌混匀,配成 75% 的蛋黄乳液备用。

取小鼠 50 只,随机分为正常对照组,模型组,阳性对照药洛伐他丁 (20 mg /kg) 组,罗汉果黄酮大小剂量 (400 mg /kg 200 mg /kg) 组。各组小鼠灌胃给药,每天 1 次,连续用药 7d,对照组和模型组给予等体积蒸馏水。于第 7 天用药后禁食,但不禁水。末次用药后 2h,除对照组腹腔注射等体积生理盐水外,其余各组均腹腔注射 75% 蛋黄乳液 0.5 毫升 / 只,造成实验性高血脂症。注射 20h 后,从小鼠眼眶静脉丛取血,按酶法检测各组小鼠血清总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 含量。结果见表 3。

表 3 罗汉果黄酮对高胆固醇血症小鼠血脂的影响 ($X \pm S, n = 10$)

Table 3 Influence of flavone from *M. grosvenori* on of mice with

组别 Groups	剂量 Doses (mg /kg)	TC (mmol/L)	TG (mmol /L)	HDL-C (mmol/L)
对照组 Control		1.64 ± 0.32	0.6 ± 0.08	1.87 ± 0.21
模型组 Model		10.60 ± 1.83 ^{△△}	8.86 ± 0.74 ^{△△}	1.09 ± 0.15 ^{△△}
洛伐他丁 Lovastatin	20	7.95 ± 2.38 [*]	8.2 ± 1.08	0.95 ± 0.20
罗汉果黄酮 Flavone from <i>M. grosvenori</i>	400	7.69 ± 2.13 [*]	8.02 ± 0.85 [*]	1.33 ± 0.23 [*]
	200	8.44 ± 2.85 [*]	8.23 ± 0.90	1.50 ± 0.19 [*]

与对照组比较: $\Delta \Delta P < 0.01$ 与模型组比较: $* P < 0.05$, $** P < 0.01$, Compared with control group, $\Delta \Delta P < 0.01$; Compared with model group, $* P < 0.05$, $** P < 0.01$.

表 3 结果表明,与模型组比较,罗汉果黄酮大小剂量组和洛伐他丁均能明显抑制蛋黄乳液引起的小鼠 TC 和 TG 含量的升高,并能提高 HDL-C 的水平。提示罗汉果黄酮具有一定的降血脂作用。

1.2.2.4 对凝血时间的影响^[15]

取 18~ 22g 小鼠 40 只,雌雄各半,随机分为正常对照组,阳性对照药阿斯匹林 (100 mg /kg) 组,罗汉果黄酮大小剂量组 (400 mg /kg 200 mg /kg),每组 10 只小鼠。对照组给予等量的生理盐水,均以灌胃给药,每天 1 次,连续灌胃给药 7d 末次给药 1h 后,用内径为 1mm 的玻璃毛细管插入小鼠眼球后静脉丛取血,至毛细玻璃管血柱达 5cm 为止,每隔 30s 折断毛细玻璃管一小段,同时用肉眼观察血柱是否移动,仔细检查有无凝血丝出现,计算从毛细管采血到凝血丝出现的时间,用 *t* 检验进行组间比较。结果见表 4。

表 4 结果表明,罗汉果黄酮大剂量组和阳性药阿

斯匹林组能明显延长小鼠的凝血时间。提示罗汉果黄酮具有一定的抗凝血作用。

表 4 罗汉果黄酮对小鼠凝血时间的影响

Table 4 Influence of flavone from *M. grosvenori* on in mice

组别 Groups	剂量 Doses (mg /kg)	动物数 Number of animal(只)	凝血时间 Cuor time ($X \pm S$, min)
对照 Control		10	3.53 ± 0.39
阿斯匹林 Aspiirin	100	10	3.90 ± 0.37
罗汉果黄酮 Flavone from <i>M. grosvenori</i>	400	10	3.89 ± 0.18
	200	10	3.57 ± 0.46

与对照组比较, $* P < 0.05$ Compared with control group, $* P < 0.05$.

1.2.2.5 急性毒性试验

罗汉果黄酮用小鼠预试后,另取 20 只小鼠,雌雄各半。以最大浓度 (0.5071g /ml) 和最大体积 (0.4 ml / 10g 体重) 给小鼠灌胃给药,24h 内连续用药 3 次,连续观察 7d,记录小鼠用药后的毒副反应。结果所有动物均健康,未见任何毒副反应,体重正常增长率为 25.1%,计算其最大给药量为 60.85g /kg。急性毒性试验结果表明,罗汉果黄酮的毒性很小。

2 讨论

本实验结果表明,罗汉果黄酮对血栓形成有一定的保护作用,抑制 ADP 诱导大鼠血小板聚集,能明显降低高胆固醇血症小鼠的 TC 和 TG 含量,提高 HDL-C 的水平,以及延长小鼠的凝血时间。结果提示,罗汉果黄酮具有一定的抗血栓形成、抗血小板聚集及抗凝血等活血化瘀药理作用,这与其他植物提取的同类成分研究结果一致^[16,17]。本研究发现的罗汉果黄酮降血脂作用,与忻伟钧等^[18]报道相似,他们研究了醋柳中提取的黄酮治疗高血脂病人的疗效,发现治疗组血胆固醇、甘油三脂均较治疗前有显著下降,这说明罗汉果提取的黄酮同其他已知植物同类成分同样有功效。本研究还表明,罗汉果提取的黄酮可明显提高 HDL 的作用,而耿秀芳等^[19]研究发现从银杏叶中提取的黄酮却未发现这样的功能,这说明罗汉果可能比其他植物更有应用价值。

黄酮以上药理作用机制比较复杂,一些学者已经进行了初步的探索。Zhao H Y 等^[20]通过研究狗心肌梗塞模型表明,黄酮能够促进前列环素的合成而抑制血栓素的产生,导致血小板中环腺苷酸含量增加,从而阻止血小板的聚集和血栓形成。Guo Y 等^[21]研究发现,从木薯中提取的黄酮能够降低兔血中血小板静息时和氯化钙诱导时血小板内 Ca^{2+} 增高作用,从而

抑制血小板聚集功能 Yang X B等^[22]研究表明,从水芹菜中提取的黄酮具有显著降低 TG作用,主要与其促进胰腺中 B细胞胰岛素的释放有关。而林实秋^[23]则认为,黄酮类化合物降脂机理是通过调节肝脏低密度脂蛋白受体转录及提高抗氧化能力抑制脂质过氧化物预防脂质代谢紊乱,而抗氧化能力则与黄酮类化合物的酚羟基有关^[24]。至于罗汉果黄酮延长凝血时间尚有待深入探讨,杨玉梅等^[17]通过研究发现甘草总黄酮延长了大鼠的凝血时间,认为这与抗血栓形成及凝血因子的抑制有关。本研究表明从罗汉果中提取的黄酮毒性小,为将来罗汉果黄酮的开发应用提供了初步的科学依据。对于罗汉果黄酮的其他方面的药理作用还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 李典鹏,张厚瑞.广西特产植物罗汉果的研究与应用[J].广西植物,2002,20(3):270-276.

[2] Tsurumatsu T, Shigenobu A. Study on the constituents from fruits of *Momordica grosvenori* [J]. J Pharm (Japan) [药学杂志(日)],1983,103:1151-1173.

[3] Eiichiro Takeo, Hiroshi Yoshida, Norio Tada et al. Sweet element of *Momordica grosvenori* inhibit oxidative modification of low-density lipoprotein [J]. Journal of Atherosclerosis and Thrombosis,2001,9(2):114-120.

[4] 余丽娟,陈全斌,义祥辉.高效液相色谱法制备罗汉果甜甙V标准品[J].色谱,2003,21(4):397-399.

[5] 陈全斌,陈海燕,李俊,等. HPLC法测定罗汉果多糖的相对分子质量[J].中草药,2003,34(12):1075-1076.

[6] 斯建勇,陈迪华,常琪,等.鲜罗汉果中黄酮甙的分离及结构测定[J].药学学报,1994,29(2):114-120.

[7] 陈全斌,杨瑞云,义祥辉,等. RP-HPLC法测定罗汉果鲜果及甜甙中总黄酮含量[J].食品科学,2003,24(5):133-135.

[8] 陈全斌,汤桂梅,义祥辉.罗汉果块根淀粉的提取及其性质研究[J].食品科学,2002,23(4):37-41.

[9] 陈全斌,汤桂梅,徐庆,等.罗汉果块根中药用成份提取及其药理初探[J].化学世界,2003,44(1):21-23.

[10] 陈全斌,程忠泉,义祥辉.罗汉果种仁油脂的提取及其性质研究[J].食品科技,2004,12(2):25-27.

[11] 陈全斌,杨建香,程忠泉. RP-HPLC法测定罗汉果叶中总黄酮含量[J].广西科学,2005,12(1):43-45.

[12] 陆兔林,叶定江,毛春芹,等.三棱总黄酮抗血小板聚集及抗血栓作用研究[J].中草药,1999,30(6):439.

[13] 李仪奎.中药药理方法[M].上海:上海科学技术出版社,1991:83.

[14] 凌树森,张菊,孙维林.小鼠高胆固醇血症快速造型法的研究[J].药学通报,1985,70(1):15.

[15] 钟正贤,周桂芬,陈学芬.黄杞总黄酮的实验研究[J].时珍国医国药,2000,11(6):495.

[16] 朱红,高尔,王德伟,等.银杏黄酮的药学研究进展[J].食品与药品,2005,7(2A):4-7.

[17] 杨玉梅,覃建民,徐继辉,等.甘草总黄酮对大鼠血栓形成和凝血时间的影响[J].包头医学院学报,2003,19(12):90-91.

[18] 忻伟钧,陈萍,华福元,等.醋柳黄酮治疗高脂血症和高粘血症[J].新药与临床,1997,16(1):17.

[19] 耿秀芳,李桂芝,王玉芬,等.银杏叶总黄酮对载脂蛋白A、B的影响[J].长春中医学院学报,1995,49(11):50.

[20] Zhao H Y, Fang W Y. Antithrombotic effects of *Andrographis paniculata* nees in preventing myocardial infarction [J]. Chin Med J (Engl),1991,104(9):770-775.

[21] Guo Y, Fan L, Dong L Y, et al. Effects of total flavone of *Abelmoschus manihot* L. medic on the function of platelets and its mechanism [J]. Chin J Integr Med,2005,11(1):57-59.

[22] Yang X B, Huang Z M, Cao W B, et al. Antidiabetic effect of *Oenanthe javanica* flavone [J]. Acta Pharmacol Sin,2000,21(3):239-242.

[23] 林实秋,陈吉棣.山楂及山楂黄酮预防大鼠血脂水平的影响[J].营养学报,2000,23(3):131-136.

[24] 佟继铭,刘玉玲,付景春.黄芩茎叶总黄酮调血脂作用研究[J].中草药,2000,31(3):196.

(责任编辑:邓大玉)