

# 葡萄籽提取物原花青素调节血脂作用及机理研究

闫少芳 李 勇 吴 娟 肖 颖  
(北京大学公共卫生学院,北京 100083)

**摘 要:**为研究葡萄籽提取物原花青素调节血脂的效果,选用雄性健康成年 SD 大鼠,观察原花青素对高脂血症大鼠血清脂质的影响。实验根据大鼠体重、血脂水平进行随机分组,设正常对照组、高脂饲料对照组、原花青素低、中、高剂量组(分别为 25、100、150 mg/kg BW)。受试物每天经口灌胃给予。6 周末测定血清胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、卵磷脂胆固醇酰基转移酶(LACT)活性,同时测定肝脏 TC、TG,粪总胆汁酸(TAB)的排出量。结果显示:原花青素各组与高脂饲料对照组比较,大鼠血清 TC、TG 水平降低,差异有显著性( $P < 0.05$ ),原花青素使高脂大鼠血清 TC 水平降低了 18.1%(高剂量);使血清 TG 水平降低了 34.4%以上。原花青素对高脂大鼠肝脏胆固醇、甘油三酯有显著的降低作用( $P < 0.01$ )。原花青素对高脂大鼠血清 LCAT 活性有升高的作用( $P < 0.05$ )。实验各组粪胆汁酸每日排出量高于高脂饲料对照组,差异有显著性( $P < 0.05$ )。提示原花青素有降低高脂大鼠血脂水平的作用。

**关键词:**高脂蛋白血症;原花青素;大鼠

## Study of the effect of grape seed extract procyanidin on blood lipid regulation and mechanism

Yan Shaofang, et al.

(Department of Nutrition and Food Hygiene, Peking University Health Science Center, Beijing 100083, China)

**Abstract:** In order to examine the effect of grape seed extract procyanidin on blood lipid regulation, healthy adult male SD rats were fed with lipid-rich diet for 6 weeks. Meanwhile, procyanidins at three different concentrations of 25 mg/kg BW, 100 mg/kg BW and 150 mg/kg BW were given to rat by gavage daily throughout the 6 weeks. The levels of serum TC, TG, and HDL-C, liver TC, and TG and the activities of serum LCAT, as well as the excretion of fecal TAB were measured. The results showed that procyanidins decreased the levels of serum TC by 18.1% and TG by over 34.4% ( $P < 0.05$ ) in rats fed with lipid-rich diet, and the levels of liver TC and TG of hyperlipidemic rats ( $P < 0.01$ ). In addition, procyanidins significantly increased the activity of serum LCAT ( $P < 0.05$ ) and the excretion TBA. The results suggested that procyanidins had the effect of regulating lipid metabolism of hyperlipidemic rats.

**Key Words:** Hyperlipoproteinemia; Procyanidin; Rats

葡萄籽提取物原花青素(Procyanidins, PC)是由黄烷醇衍生而来的多酚类化合物,近年来研究发现葡萄籽提取物原花青素具有抗脂质过氧化、清除自由基、抗癌等作用。<sup>[1]</sup>而对血脂的调节作用报道甚少且结论并不一致,其调节血脂的机制未见报道。为进一步研究原花青素调节血脂效果及其初步机理,本研究选用雄性健康成年 SD 大鼠,观察原花青素对高脂血症大鼠血清脂质的影响。

## 1 材料和方法

作者简介:闫少芳 女 讲师

1.1 实验受试物 葡萄籽提取物原花青素(购自天津市尖峰天然产物研究开发公司,批号:22020103);原花青素纯度:95.6%,OPC<sub>s</sub> 40.0%,单体 7.0%。

1.2 实验饲料 基础饲料由中国医学科学院动物部提供。高脂饲料由 1%胆固醇、10%猪油、10%蛋黄粉、79%基础饲料组成。

### 1.3 实验动物与分组

动物来源 雄性健康成年 SD 大鼠,由北京医科大学动物部提供。动物号:(2002)第 017 号。

动物分组设计 雄性健康 SD 大鼠 60 只,体重 180~210 g,基础饲料适应喂养 1 周后,取尾血,测血

清胆固醇,据体重和血清胆固醇水平随机分为5组,每组12只。设基础饲料对照组、高脂饲料对照组、原花青素低、中、高剂量组(分别为25、100、150 mg/kg BW),原花青素低、中、高剂量组饲以高脂饲料。各组动物分笼饲养,温度(22±2),自然光照,自由进食进水。各组动物每天上午灌胃1次,连续灌胃6周,灌胃量为1 mL/100g BW。

1.4 样品收集 6周末,股动脉取血,分离血清,备用。迅速取肝脏,液氮冷冻肝脏,-70℃保存。处死前3 d用代谢笼收集72 h大鼠粪便。

### 1.5 测定指标及方法

血清 TC、TG、HDL-C 的测定 TC 采用 CHOD-PAP 酶法测定, TG 采用 GPO-PAP 酶法测定, HDL-C 采用磷钨酸镁沉淀法测定。试剂盒购自北京中科院中生生物制品公司。LDL-C 用 Friedewald 公式计算(当浓度低于 4.5 mmol/L 时)得出:  $LDL-C = TC - ((HDL-C + TG) / 2.2)$ 。

肝脏 TC、TG 的测定<sup>[2]</sup> 精确称取肝脏 200 mg, 加生理盐水 1 mL 于试管中, 匀浆 15 s, 加入氯仿 + 甲醇(2+1)4 mL, 剧烈振荡 1 min, 静置 30 min, 然后再剧烈振荡 1 min, 静置 30 min, 2 000 r/min 离心 10 min。取 10 μL 下层有机相, 用脂质测定方法测定。

血清卵磷脂胆固醇酰基转移酶(LCAT)的测定 血清游离胆固醇酶法。试剂盒购自上海名典生物工程公司。

粪胆酸的测定方法<sup>[3]</sup> 代谢笼收集动物 72 h 粪便, 56℃ 烘干至试样恒重为止。取试样 100 mg, 加蒸馏水 1 mL, 浸泡、匀浆, 加甲醇 8 mL, 超声 1 h, 温度自然降至室温后, 离心, 取上清 1 mL, 用 Ausbio 第五代总胆汁酸机检试剂盒(循环酶法)测定粪便中总胆汁酸浓度。

质量控制 试样进行平行管测定, 同时测定由医科院阜外医院提供的标准血脂定值血清。

### 1.6 统计分析方法

用 SPSS 软件包进行单因素方差分析。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 2 结果

2.1 原花青素对大鼠血脂水平的影响 从表 1 可见, 大鼠喂养 6 周后, 高脂饲料对照组血清 TC 和 TG 水平明显高于基础饲料对照组, 差异有显著性 ( $P < 0.05$ ), 表明本实验高脂血症模型成立。实验各组血清 TC、TG、LDL-C 水平明显低于高脂饲料对照组, 在统计学上差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。各实验组血清

表 1 原花青素对大鼠血清 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	TG	TC	HDL-C	LDL-C
正常对照组	0.83 ± 0.20 <sup>(1)</sup>	1.76 ± 0.25 <sup>(1)</sup>	0.86 ± 0.14 <sup>(1)</sup>	0.87 ± 0.26 <sup>(1)</sup>
高脂饲料对照组	1.51 ± 0.29	2.99 ± 0.23	1.32 ± 0.31	1.62 ± 0.31
PC 低剂量组	0.99 ± 0.38 <sup>(1)</sup>	2.57 ± 0.32 <sup>(1)</sup>	1.31 ± 0.18	1.23 ± 0.27 <sup>(1)</sup>
PC 中剂量组	0.96 ± 0.26 <sup>(1)</sup>	2.48 ± 0.37 <sup>(1)</sup>	1.21 ± 0.29	1.24 ± 0.54 <sup>(1)</sup>
PC 高剂量组	0.97 ± 0.17 <sup>(1)</sup>	2.45 ± 0.22 <sup>(1)</sup>	1.32 ± 0.20	1.11 ± 0.10 <sup>(1)</sup>

注: (1) 与高脂饲料对照组比较差异有显著性,  $P < 0.05$ 。

HDL-C 水平与高脂对照组相比较差异无显著性。

### 2.2 原花青素对大鼠肝脏 TC、TG 水平的影响

由表 2 可见实验各组肝脏 TC 水平低于高脂对照组, 在统计学上差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。原花青素中、高剂量组肝脏 TG 水平低于高脂对照组, 在统计学上差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。

表 2 原花青素对大鼠肝脏 TC、TG 浓度的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ) μ mol/g (湿重)

组别	TC	TG
正常对照组	1.39 ± 0.81 <sup>(1)</sup>	4.00 ± 2.41 <sup>(1)</sup>
高脂饲料对照组	21.56 ± 5.32	36.96 ± 4.61
PC 低剂量组	14.40 ± 6.33 <sup>(1)</sup>	31.82 ± 10.19
PC 中剂量组	14.08 ± 3.38 <sup>(1)</sup>	26.48 ± 9.69 <sup>(1)</sup>
PC 高剂量组	12.55 ± 2.84 <sup>(1)</sup>	25.45 ± 4.91 <sup>(1)</sup>

注: (1) 与高脂饲料对照组比较差异有显著性,  $P < 0.05$ 。

### 2.3 血清卵磷脂胆固醇酰基转移酶活性和粪胆酸的变化

原花青素中、高剂量组血清 LCAT 活性明显高于高脂饲料对照组, 差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。实验各组粪胆汁酸每日排出量高于高脂饲料对照组, 差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。

表 3 原花青素对大鼠血清 LCAT 活性和粪 TBA 排出量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	LCAT 活性 n mol/mL <sup>(2)</sup>	TBA μ mol/d
正常对照组	24.10 ± 3.85 <sup>(1)</sup>	19.95 ± 5.01
高脂饲料对照组	13.61 ± 2.93	15.24 ± 3.31
PC 低剂量组	18.02 ± 4.44	28.79 ± 8.22 <sup>(1)</sup>
PC 中剂量组	20.23 ± 3.32 <sup>(1)</sup>	28.26 ± 6.02 <sup>(1)</sup>
PC 高剂量组	22.87 ± 7.27 <sup>(1)</sup>	43.26 ± 10.13 <sup>(1)</sup>

注: (1) 与高脂对照组比较差异有显著性,  $P < 0.05$ 。(2) 以每小时计。

3 讨论 血清胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)和肝脏 TC、TG 水平是反映机体脂质代谢的常用指标。本实验

结果表明:原花青素具有明显降低血清胆固醇水平的作用。原花青素使高脂大鼠血清 TC 水平降低了 17%、18% (原花青素中、高剂量组),这与 Preuss<sup>[4]</sup> 等人对葡萄籽提取物原花青素的研究结果是基本一致的,而与 Yamakoshi<sup>[5]</sup> 实验探讨的 1% 含量的葡萄籽提取物原花青素对高胆固醇家兔的抗动脉硬化作用结果不一致。分析其血清脂质未降低的原因,可能是由于动物的种属不同,对受试物的反应性不同。或者是由于高脂饲料的配方不同导致模型不同, Yamakoshi 的研究在饲料中只添加了 1% 的胆固醇,本试验还分别添加了 10% 的猪油和蛋黄粉。也有可能是观察时间不够长,未观察到降脂作用。原花青素对高脂大鼠血清 TG、LDL-C 有降低作用,该结果支持 Ardevol<sup>[6]</sup> 的研究结论。研究观察到与高脂饲料对照组比较,原花青素各组肝脏胆固醇、甘油三酯水平显著降低,提示原花青素可能有抑制肝脏合成胆固醇、甘油三酯或加速其排泄的作用,该作用有待于进一步研究。

体内胆固醇要经过酯化后形成胆固醇酯才能有效地进行转运,这个过程是由卵磷脂胆固醇酰基转移酶(LCAT)催化完成的,因此 LCAT 的活性增强有利于胆固醇逆向转运至肝脏,促进胆固醇的肝脏代谢。<sup>[7]</sup> 本研究结果提示:原花青素可能有通过增加卵磷脂胆固醇酰基转移酶(LCAT)的活性来降低血清胆固醇的作用。在胆固醇代谢中,胆固醇经羟化反应生成胆汁酸,在肝肠循环的过程中未被吸收的部分构成了粪胆汁酸,实际上是肝脏间接排出胆固醇的一条途径。本研究发现,实验各组与高脂饲料对照组比较,粪胆汁酸每日排出量增高,提示原花青素可能有抑制脂质在肠道的吸收和加速体内脂质的排泄作用。

本实验结果表明葡萄籽提取物原花青素具有降低血清 TC、TG、LDL-C、肝脏胆固醇、甘油三酯的作用,而且能增加高脂大鼠血清 LACT 活性,有助于加速胆固醇逆向转运,促进胆固醇的肝脏代谢;增加高脂大鼠 TBA 的排泄,间接增加胆固醇的体外排出。该项研究为葡萄籽提取物原花青素对人群降低血清脂质提供了进一步的证据。

#### 参考文献:

- [1] 曾繁典,谢笔钧,张晓辉,等.原花青素的药理研究进展[J].中国药理学通报,2002,18(1):9—12.
- [2] Folch J, Lees M, Sloam Stanley G H. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues[J]. J Biol Chem, 1953, 226:497—509.
- [3] Thomas A, Wilson. Studies of cholesterol and bile acid metabolism, and early atherogenesis in hamsters fed GI16-239, a novel bile acid sequestrant (BAS) [J]. Atherosclerosis, 1998, 140:318—319.
- [4] Preuss H G, Wallerstedt D, Talpur N, et al. Effect of niacin-bound chromium and grape seed proanthocyanidin extract on the lipid profile of hypercholesterolemic subjects: a pilot study [J]. J Med, 2000, 31(5-6):227—246.
- [5] Yamakoshi J, Shigehiro Kataoka, Takuro Koga, et al. Proanthocyanidin-rich extract from grape seeds attenuates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits [J]. Atherosclerosis, 1999, 142:139—149.
- [6] Ardevol A, Blade C, Salvado M J, et al. Changes in lipolysis and hormone-sensitive lipase expression caused by procyanidins in 3T3-L1 adipocytes [J]. Int J Obes Relat Metab Disord. 2000, 24(3):319—324.
- [7] 叶平,主编.血脂的基础与临床[M].北京:人民军医出版社,2002,25—40.

[收稿日期:2003-05-08]

中图分类号:R15;S663.1;TS218 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2003)04-0302-03

## 中华人民共和国卫生部公告

2003年 第17号

根据国务院办公厅关于国家食品药品监督管理局主要职责内设机构和人员编制规定,自即日起我部停止受理新的保健食品申报。

中华人民共和国卫生部  
二〇〇三年六月十二日