

# 决明子和山楂组分配伍对兔肝细胞膜 高密度脂蛋白受体活性的影响

马 路<sup>1\*</sup>, 江梦溪<sup>2</sup>, 刘剑刚<sup>3</sup>, 史大卓<sup>3</sup>, 陈可冀<sup>3</sup>, 苗明三<sup>4</sup>

(1. 中国人民解放军海军总医院, 北京 100037; 2. 郑州大学药学院, 河南 郑州 450052;  
3. 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091; 4. 河南中医学院药学院, 河南 郑州 450008)

[摘要] 目的: 观察决明子蒽醌苷与山楂总三萜酸配伍对实验性高血脂症兔血清低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol LDL-C) 及肝细胞膜高密度脂蛋白受体 (high density lipoprotein receptor HDLR) 活性的影响。方法: 雄性新西兰兔高脂饲养 2 周形成实验性高血脂症, 继续给予高脂饮食, 然后采用均匀设计法, 分别给予决明子和山楂有效部位不同的比例配伍灌服, 4 周后高脂给量减半, 继续服药至 6 周, 免疫比浊法测定血清 LDL-C 变化, 以 <sup>125</sup>I 标记的兔 HDL<sub>3</sub> 作为配体, 用放射受体分析法对肝细胞膜 HDLR 活性进行测定。结果: 决明子蒽醌苷与山楂总三萜酸按 1: 2.63 配伍, 可使血清 LDL-C 含量明显降低 ( $P < 0.01$ ), 肝细胞膜 HDLR 活性增加 ( $P < 0.05$ )。结论: 决明子蒽醌苷与山楂总三萜酸最佳配比降低高血脂兔血清 LDL-C 的作用明显强于单一组分及原药对配伍, 对肝细胞膜 HDLR 的影响呈现以受体数目显著增加为特征的受体结合活性升高。

[关键词] 决明子蒽醌苷; 山楂总三萜酸; 高密度脂蛋白受体; 均匀设计

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)01-0024-05

## Effect of Combination of Anthraquinone Glucosides from Cassia Seed and Shanzha Total Triterpenoid Acid on Activity of High Density Lipoprotein Receptor in Hyperlipidemic Rabbits

MA Lu<sup>1\*</sup>, JIANG Meng-xi<sup>2</sup>, LIU Jian-gang<sup>3</sup>, SHI Da-zhuo<sup>3</sup>, CHEN Ke-ji<sup>3</sup>, MIAO Ming-san<sup>4</sup>

(1. The Navy General Hospital of PLA, Beijing 100037, China;

2. College of Pharmacy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China;

3. Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China;

4. Institute of Chinese Material Medica, Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[收稿日期] 2008-04-15

[基金项目] 中国博士后基金资助项目 (2004035408)

[通讯作者] \* 马 路, Tel: (010) 68780221; E-mail: malux2007@yahoo.com.cn

[ **Abstract**] **Objective:** To observe the effect of combination of Anthraquinone Glucosides from Cassia Seed ( Agc) and Shanzha total triterpenoid acids ( Sta) on low density lipoprotein-cholesterol ( LDL-C) of serum and activity of high density lipoprotein receptor ( HDLR) in hyperlipidemic rabbits. **Methods:** The best proportion of Agc and Sta was determined by uniform design as the strongest effect on decreasing LDL-C of serum. The best proportional combination of Agc and Sta was given to hyperlipidemic rabbits. Activity of HDLR on the hepatic plasma membranes was measured with <sup>125</sup>I.-labeled HDL3 as ligand. **Results:** The results showed that the combination could markedly decrease the level of LDL-C of serum and increase the activity of HDLR at the proportion: Agc: Sta= 1: 2. 63. **Conclusion:** For the best proportion, the combined effect of decreasing in LDL-C was stronger than Agc or Sta or the original prescription. The combination could enhance the activity of HDLR by increasing the number of HDLR.

[ **Key words**] anthraquinone glucosides from cassia seed; Shanzha total triterpenoid acids; HDL receptor; uniform design

决明子和山楂配伍, 是临床治疗高脂血症的常用药对, 有研究表明决明子和山楂降脂的有效组分为决明子蒽醌苷与山楂总三萜酸<sup>[1,2]</sup>。二者配比可加强其降脂作用<sup>[3]</sup>。为进一步提高疗效, 探讨其作用机制, 本研究采用均匀设计法, 以决明子蒽醌苷与山楂总三萜酸不同剂量配比对实验性高血脂症兔血清 LDL-C 的影响作为观察指标。安排 2 因素 5 水平的实验, 筛选两者之间的最佳剂量配比关系。在此基础上, 进一步研究其对肝细胞膜 HDLR 的影响。

1 材料

1.1 药物及试剂 山楂为蔷薇科植物山里红 *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br. 的成熟果实、决明子为豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 的干燥成熟种子, 由河南中医学院药学院苗明三教授鉴定。取山楂粗粉, 乙醇提取 2 次, 合并滤液, 浓缩浸膏, 干燥得棕红色固体, 醋酸乙酯温浸, 回收醋酸乙酯, 固体继用醋酸乙酯热回流提取, 醋酸乙酯减压回收, 干燥即得山楂总三萜酸。决明子粗粉用 90% 的乙醇热回流提取总蒽醌, 提取 3 次, 合并 3 次滤液, 再用氯仿萃取游离蒽醌, 利用蒽醌苷与 Pb<sup>2+</sup> 形成的络合物在一定 pH 下能沉淀析出而加以分离, 通 H<sub>2</sub>S 脱铅, 重结晶即得决明子蒽醌苷。临用前用蒸馏水配制所需浓度。胆固醇标准品(上海生物制品研究所提供); HDL 抗血清(上海生物制品研究所); 血脂康(北大维信生物科技有限公司); 胆固醇(南京生物化学制药厂); 猪油系市售产品; LDL-C 测定试剂盒, 由北京利德曼生化技术有限公司提供; <sup>125</sup>I-NaI, 北京原子能科学院产品; 牛血清白蛋白, 电泳纯, (中国科学院生物物理所)。聚乙二醇(PEG), Mr = 6 000, 分析纯, 日本进口分装。

1.2 实验动物 新西兰兔, 体重为(2. 0~ 2. 5) kg, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 合格证号: SCXK(京)(2002)-0003。

2 方法

2.1 有效组分配比的均匀设计方案 根据均匀设计法, 以血清 LDL-C 为考察指标, 选用 U<sub>5</sub>(5<sup>4</sup>) 均匀设计表, 根据稳定性、优良性、均匀性准则选用相应的使用表, 结合药对在临床的使用剂量、比例及各味药的实际提取率, 起效时间, 以及我们的预试结果, 设置剂量组(见表 1)。决明子蒽醌苷与山楂总三萜酸两因素各取 5 个剂量水平。决明子蒽醌苷的剂量折合药典常规给药量(决明子 9~ 15 g/d) 为(0. 67~ 1. 11) g/d, 换算成兔为(55. 8~ 92. 5) mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 中间剂量为 74. 15 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 在该剂量上下, 以 3. 16 的公比选取 5 个剂量(7. 426, 23. 465, 74. 150, 234. 314, 740. 432 mg·kg<sup>-1</sup>)。山楂总三萜酸的剂量折合药典常规给药量(山楂 9~ 12 g/d) 为(0. 63~ 0. 84) g/d, 换算成兔为(52. 5~ 70) mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 中间剂量为 61. 25 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 在该剂量上下, 以 3. 16 的公比选取 5 个剂量(6. 134, 19. 383, 61. 250, 193. 55, 611. 618 mg·kg<sup>-1</sup>)。按均匀设计 2 因素 5 水平实验表的安排进行有关实验。

表 1 均匀设计 U<sub>5</sub>(5<sup>4</sup>) 2 因素 5 水平表

| 组别   | 决明子蒽醌苷                 |       | 山楂总三萜酸                 |       | 剂量比                |
|------|------------------------|-------|------------------------|-------|--------------------|
|      | 剂量                     | 对数    | 剂量                     | 对数    | 决明子蒽醌苷<br>/ 山楂总三萜酸 |
|      | (mg·kg <sup>-1</sup> ) | 剂量    | (mg·kg <sup>-1</sup> ) | 剂量    |                    |
| 组方 1 | 7. 426                 | 0. 87 | 19. 383                | 1. 29 | 0. 38: 1           |
| 组方 2 | 23. 465                | 1. 37 | 193. 55                | 2. 29 | 0. 12: 1           |
| 组方 3 | 74. 150                | 1. 87 | 6. 134                 | 0. 79 | 1: 0. 08           |
| 组方 4 | 234. 314               | 2. 37 | 61. 250                | 1. 79 | 1: 0. 26           |
| 组方 5 | 740. 432               | 2. 87 | 611. 618               | 2. 79 | 1: 0. 82           |

**2.2 有效组分最佳配比的筛选** 选用健康雄性新西兰兔 42 只, 观察 1 周后, 空腹耳缘静脉取血, 免疫比浊法测定给高脂饲料前血清 LDL-C 的含量, 然后随机分 7 组, 每组 6 只分笼喂养。各组(组方 1 组方 2 组方 3 组方 4 组方 5) 给予决明子蒽醌苷与山楂总三萜酸的不同剂量配比(均匀设计法确定比例)灌胃, 另设高脂模型组及空白对照组。实验开始喂高脂饲料(胆固醇  $0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 猪油  $0.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), 2 周后(高血脂形成)开始给不同剂量配比组方药物并继续给同量高脂 4 周, 4 周后高脂喂养剂量减半; 上述各组兔实验全程自由饮水, 连续给药 6 周后从兔耳缘静脉取血, 测定血清 LDL-C。将各组血清 LDL-C 值输入计算机, 计算出最佳理论剂量配比。

**2.3 筛选结果验证** 根据均匀设计获得的理论结果, 结合临床用药剂量, 在该剂量上下, 以 3.16 为公比, 再选取两个剂量, 做为最佳理论剂量配比的小剂量组和大剂量组。选用健康雄性新西兰兔 54 只, 观察 1 周后, 空腹耳缘静脉取血, 按试剂盒说明书方法测定给高脂饲料前血清 LDL-C 的含量, 然后均匀分 9 组: 正常对照组(正常组)实验全程喂正常饲料, 2 周后蒸馏水灌胃; 高脂模型组(模型组)造模方法同上; 血脂康组  $42.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  灌胃; 原药对煎剂组(原药对组)高血脂造模+ 2 周后给原药对煎剂(相当于生药  $619.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )灌胃; 决明子蒽醌苷组(蒽醌苷组), 高脂造模+ 2 周后加决明子蒽醌苷( $74.15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )灌胃; 山楂总三萜酸组(三萜酸组), 高脂造模+ 2 周后给山楂总三萜酸( $61.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )灌胃; 最佳理论剂量配比分 3 组(大剂量组、中剂量组、小剂量组), 高脂造模+ 2 周后决明子蒽醌苷与山楂总三萜酸最佳理论剂量配比组方, 剂量分别为 268.71, 85.04 和  $26.91 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  灌胃。上述各组兔实验全程自由饮水, 连续给药 6 周后从兔耳缘静脉取血, 测定血清 LDL-C。

**2.4 兔肝细胞膜的制备** 各组动物剖杀前(14~16) h 禁食, 由腹主动脉插管放血处死后, 立即取新鲜肝脏, 按蔗糖密度梯度超速离心法<sup>[4]</sup>制备肝细胞膜, 分装后于  $-70^\circ\text{C}$  保存备用。膜产率为  $(1.0 \sim 1.5) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  湿肝组织, 与肝匀浆比较, 纯化肝细胞膜 5'-核苷酸酶活性提高(7~10)倍。

**2.5 兔不含载脂蛋白 E 高密度脂蛋白<sub>3</sub>(不含 apoE-HDL<sub>3</sub>) 的制备及标记** 一次性密度梯度超速离心法<sup>[5]</sup>分离人血浆脂蛋白。d =  $(1.120 \sim 1.175) \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$

的 HDL<sub>3</sub> 组分, 参照 Weisgraber<sup>[6]</sup> 等的方法, 利用 Heparin-Sepharose CL-6B (Pharmacia 公司产品) 亲和层析制备不含 apoE 的 HDL<sub>3</sub>, 经 SDS-聚丙烯酰胺 (SDS-PAGE) 鉴定不含 apoE。采用 IC1 法<sup>[7]</sup>对分离纯化的不含 apoE 的 HDL<sub>3</sub> 进行  $^{125}\text{I}$  标记, 所得不含 apoE 的  $^{125}\text{I}$ -HDL<sub>3</sub>, 比放为  $172 \text{ cpm} \cdot \text{ng}^{-1}$ , 游离碘及脂质标记率分别小于 1% 和 2%。脂蛋白及膜蛋白均采用 Markwell<sup>[8]</sup> 等的方法测定蛋白质浓度。

**2.6 肝细胞膜高密度脂蛋白受体活性测定** 按张林华等<sup>[9]</sup>方法进行, 将纯化肝细胞膜与  $^{125}\text{I}$ -HDL<sub>3</sub> 反应后, 分离与肝细胞膜结合的  $^{125}\text{I}$ -HDL<sub>3</sub> 和游离  $^{125}\text{I}$ -HDL<sub>3</sub>, 对结合  $^{125}\text{I}$ -HDL<sub>3</sub> 进行放射性计数。最后经 Scatchard 作图求出兔肝细胞膜与 HDL<sub>3</sub> 结合的  $B_{\text{max}}$  值和  $K_d$  值。

**2.7 统计学方法** 所有数据用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 SPSS for Window 10.0 软件包进行方差分析及  $q$  检验。均匀设计用华西医科大学药学院编写的软件。

### 3 结果

**3.1 有效组分最佳配比的筛选结果** 组方 3、组方 4、组方 5 与组方 1 相比, 统计学有显著性差异 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 组方 3、组方 4、组方 5 之间, 统计学无显著性差异 ( $P$  均  $> 0.05$ ); 与组方 2 相比, 统计学有显著性差异 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 见表 2。

表 2 不同剂量配比组方对高血脂兔血清胆固醇的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

| 组别   | 剂量<br>( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) | LDL-C<br>( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) |
|------|--------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 组方 1 | $7.426 \pm 19.383$                         | $5.378 \pm 0.683$                              |
| 组方 2 | $23.465 \pm 193.55$                        | $7.215 \pm 0.827$                              |
| 组方 3 | $74.150 \pm 6.134$                         | $1.129 \pm 0.456^{2,3)}$                       |
| 组方 4 | $234.314 \pm 61.250$                       | $2.213 \pm 0.632^{2,3)}$                       |
| 组方 5 | $740.432 \pm 611.618$                      | $2.227 \pm 0.612^{2,3)}$                       |
| 模型组  | —                                          | $8.432 \pm 0.793^{1)}$                         |
| 正常组  | —                                          | $0.774 \pm 0.181$                              |

注: 模型组与正常对照组比较: <sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与组方 1 比较: <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与组方 2 比较: <sup>3)</sup>  $P < 0.01$

将决明子、山楂有效组分不同配比组方进行实验的结果输入计算机, 用华西医科大学药学院电算室编制的均匀设计软件进行处理分析, 结果如下:  $Y = -0.810553 + 0.007734X_1 + 1.471309X_2$ 。  $R = 0.95$ ,  $F = 9.11$  回归方程有显著性意义。

理论最佳取值:  $X_1 = 0.869\ 994 \approx 0.87$ ,  $X_2 = 1.289\ 99 \approx 1.29$ 。

将对数剂量 0.87 与 1.29 换算成实际剂量为:  $7.413\ \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  与  $19.498\ \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 两者之比为 1:2.63。

从回归方程可看出实验结果与决明子蒽醌苷(X1)、山楂总三萜酸(X2)二者在一定取值范围内的比例关系密切。从均匀设计分析结果可得出两个因素之间的相互作用对高血脂兔血清 LDL-C 的影响; 上述理论优化的结果: 决明子蒽醌苷为  $7.413\ \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、山楂总三萜酸为  $19.498\ \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  对血清 LDL-C 作用最佳, 应是理论上的理想处方配比。在该剂量上下, 以 3.16 为公比, 再选取两个剂量, 将此理论优化配方进行实验验证。

3.2 最佳配比组方对高血脂兔血清 LDL-C 的影响

见表 3。本实验模型组动物血清 LDL-C 明显高于正常对照组( $P < 0.01$ ), 表明喂高脂饲料兔已形成了高脂模型。在喂高脂的同时, 给药 6 周, 各用药组均有降低血清 LDL-C 的作用, 与高脂模型组相比较, 统计学有显著性差异( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 单用决明子蒽醌苷或山楂总三萜酸, 与原药对煎剂组相比, 统计学无显著性差异( $P$  均  $> 0.05$ ); 在本实验中, 单用决明子蒽醌苷、单用山楂总三萜酸及原药对煎剂组降低血清 LDL-C 的作用均不及血脂康作用明显( $P$  均  $< 0.01$ )。将两有效组分适当配伍可起到增效作用, 可明显降低高血脂兔血清 LDL-C, 配比组与原药对煎剂组相比, 统计学有显著性差异( $P < 0.01$ ), 与血脂康组相比, 统计学差异无显著性( $P > 0.05$ )。优化配方代入方程预测值为 1.090 与配比组中剂量的实验值  $1.112 \pm 0.337$  相近。证实结果可靠; 配比组大剂量与配比组中剂量相比, 作用有增强的趋势, 但统计学差异无显著性( $P > 0.05$ ), 量效关系可能已达平台期。配比组大剂量、配比组中剂量与配比组小剂量相比, 统计学有显著性差异( $P < 0.01$ )。

3.3 最佳配比中剂量对肝细胞膜 HDLR 活性的影响 由表 4 可见, 模型组兔肝细胞膜 HDLR 的最大结合  $B_{\max}$  值有所增加, 与正常对照组相比有增高的趋势, 但统计学无显著性差异( $P > 0.05$ ); 配比组与模型组及正常对照组相比,  $B_{\max}$  值差异有显著性意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。3 组之间  $Kd$  值的差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。表明有效组分的适当配伍可使兔肝细胞膜 HDLR 呈现以受体数目增加为特征

的活性增高。

表 3 最佳配比组方及原药对配伍对  
高血脂兔血清 LDL-C 的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

| 组别     | 剂量<br>( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) | LDL-C<br>( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) |
|--------|--------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 配比组大剂量 | 85.04                                      | $0.906 \pm 0.213^{3,5,6)}$                     |
| 配比组中剂量 | 26.91                                      | $1.112 \pm 0.337^{3,5,6)}$                     |
| 配比组小剂量 | 8.52                                       | $7.236 \pm 0.612$                              |
| 蒽醌苷    | 74.15                                      | $6.238 \pm 0.537^{2,4)}$                       |
| 三萜酸    | 61.25                                      | $6.374 \pm 0.535^{2,4)}$                       |
| 原药对    | 619.7                                      | $4.318 \pm 0.527^{3,4)}$                       |
| 血脂康    | 42.25                                      | $1.878 \pm 0.426^{3)}$                         |
| 模型组    | —                                          | $7.526 \pm 0.593^{1)}$                         |
| 正常组    | —                                          | $0.769 \pm 0.165$                              |

注: 模型组与正常对照组比较:  $^1) P < 0.01$ ; 与高脂模型组比较:  $^2) P < 0.05$ ,  $^3) P < 0.01$ ; 与血脂康组比较:  $^4) P < 0.01$ ; 与原药对煎剂组比较:  $^5) P < 0.01$ ; 与配比组小剂量比较:  $^6) P < 0.01$

表 4 最佳比例组方家兔肝细胞膜 HDLR 的  
最大结合值和解离常数( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

| 组别  | 剂量( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) | $B_{\max}$ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) | $Kd$ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) |
|-----|----------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------|
| 配比组 | 26.91                                  | $793.25 \pm 196.19^{1,2)}$                      | $52.93 \pm 6.34$                         |
| 模型组 | —                                      | $525.23 \pm 152.70$                             | $48.86 \pm 6.31$                         |
| 正常组 | —                                      | $439.73 \pm 130.43$                             | $53.47 \pm 6.94$                         |

注: 与正常组比较,  $^1) P < 0.01$ ; 与模型组比较 $^2) P < 0.05$

4 讨论

高脂血症、动脉粥样硬化(AS)已成为危害人类生命健康的主要疾病。降低升高的血脂, 可延缓或减轻 AS 的发生和发展, 甚至可促进已有病变消退<sup>[10, 11]</sup>。而高密度脂蛋白(HDL)具有对抗 AS、促进 AS 逆转或消退的作用。研究发现 HDL 参与胆固醇逆向转运(RCT), 将外周组织(包括动脉壁)细胞中的胆固醇转运至肝脏进行转化和排泄<sup>[12]</sup>。肝脏可通过肝细胞 HDLR 摄取血液中的 HDL<sup>[13]</sup>。有研究表明: 决明子蒽醌苷可能是通过减少外源性脂质的吸收及增加排泄而降低血脂<sup>[14, 11]</sup>。山楂总三萜酸和熊果酸对实验性小鼠高血脂有明显的降血清 TC 和 TG 作用, 提高血清中 HDL-C<sub>1</sub>、HDL<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>、HDL<sub>3</sub>-C 浓度水平, 其作用可能是通过提高血清中 HDL 及亚组分浓度, 增加胆固醇的排泄而实现的<sup>[2]</sup>。本实验采用均匀设计法, 选取 LDL-C 为考察指标, 在不增加实验次数(水平数)的基础上, 为了涵盖可能有效的剂量水平, 药物剂量选择常用的较大数值 3.16 做为公比, 并转化为对数剂量以便于统计, 筛选出决明子蒽醌

昔与山楂总三萜酸降低高血脂兔血清 LDL-C 的最佳配伍比例,并观察其对肝细胞膜 HDLR 活性的影响。结果显示:最佳配比降低高血脂兔血清 LDL-C 的作用明显强于单一组分及原药对配伍。高脂饲养 8 周的家兔,其肝细胞膜 HDLR 呈现  $Kd$  值减小,  $B_{\max}$  值增加的趋势,表明高胆固醇饲养能使动物肝细胞膜 HDLR 结合活性升高,与文献报道相符<sup>[15,16]</sup>。家兔在高脂饲养的同时给以适当比例配伍的决明子蒽醌苷与山楂总三萜酸,肝细胞膜 HDLR 的  $Kd$  值与正常对照组无明显差别,但  $B_{\max}$  值显著增加( $P < 0.01$ ),表明可使高脂饲养的模型动物肝细胞膜 HDLR 呈现以受体数目显著增加为特征的受体结合活性升高,因而使肝脏通过 HDLR 经 RCT 途径摄取胆固醇的能力增强。本次筛选实验的结果用华西医科大学药学院电算室编制的均匀设计软件进行处理,给出的一次多元线性回归方程虽有显著性意义,但从回归方程相关系数看,并不十分理想,如果采用二次含有交互项的回归方程,可能更合理,提示任何软件都不是完美无缺的,在运用均匀设计安排实验和进行处理分析时,要注意统计软件的选择。

## [参考文献]

- [1] 李续娥,郭宝江. 决明子蛋白质和蒽醌苷对高血脂症大鼠血脂的影响[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(5): 374-376.
- [2] 李贵海,孙敬勇,张希林,等. 山楂降血脂有效成分的实验研究[J]. 中草药, 2002, 33(1): 50-52.
- [3] 黎海彬,方昆阳,吕翠婷,等. 决明子、山楂提取物不同配比降血脂作用的研究[J]. 中药材, 2007, 30(5): 573-575.
- [4] Ray TK. A modified method of the isolation of the plasma membrane from rat liver[J]. Biochim Biophys Acta, 1970, 196(1): 1-8.
- [5] 张林华,刘秉文. 一次性密度梯度超速离心分离人血清脂蛋白[J]. 生物化学与生物物理学报, 1989, 21(4): 257-260.
- [6] Weisgraber KH, Mahley RW. Subfractionation of human high density lipoproteins by heparin-sepharose affinity chromatography[J]. J Lipid Res, 1980, 21(3): 316-325.
- [7] Bilheimer DW, Eisenberg S, Levy RI. The metabolism of very low density lipoproteins I Preliminary in vitro and in vivo observations[J]. Biochim Biophys Acta, 1972, 260(2): 212-225.
- [8] Markwell MK, Haas SM, Bieber LL, et al. A modification of the lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples[J]. Anal Biochem, 1978, 87(1): 206-210.
- [9] 张林华,刘秉文,蓝天鹤. 大鼠肝细胞膜高密度脂蛋白受体的研究[J]. 生物化学与生物物理进展, 1991, 18(1): 42-46.
- [10] Meyer JW, Schultz JS, O'Donnell JC, et al. Patterns and effectiveness of lipid-lowering therapies in a managed care environment II. Value Health. 2005, 8(5): 601-612.
- [11] Himbergen TM, van Tits LJ, Voorbij HA, et al. The effect of statin therapy on plasma high-density lipoprotein cholesterol levels is modified by paraoxonase-1 in patients with familial hypercholesterolaemia[J]. J Intern Med, 2005, 258(5): 442-449.
- [12] Pagler TA, Rhode S, Neuhofer A, et al. SR-BI-mediated high density lipoprotein (HDL) endocytosis leads to HDL resecretion facilitating cholesterol efflux[J]. J Biol Chem, 2006, 281(16): 11193-11204.
- [13] Nakagawa TY, Hirano K, Tsujii K, et al. Human scavenger receptor class B type I is expressed with cell-specific fashion in both initial and terminal site of reverse cholesterol transport[J]. Atherosclerosis, 2005, 183(1): 75-83.
- [14] Bermudez PV, Souki A, Cano PC, et al. Ciprofibrate treatment decreases non-high density lipoprotein cholesterol and triglycerides and increases high density lipoprotein cholesterol in patients with Frederickson type IV dyslipidemia phenotype[J]. Am J Ther, 2007, 14(2): 213-220.
- [15] Birjmohun RS, van Leuven SI, Levels JH, et al. High-density lipoprotein attenuates inflammation and coagulation response on endotoxin challenge in humans[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27(5): 1153-1158.
- [16] Chan ES, Zhang H, Fernandez P, et al. Effect of cyclooxygenase inhibition on cholesterol efflux proteins and atheromatous foam cell transformation in THP-1 human macrophages: a possible mechanism for increased cardiovascular risk[J]. Arthritis Res Ther, 2007, 9(1): R4.