

# 益母草甲醇粗抽物對高脂血大鼠降血脂作用之研究

呂宗俊 林立偉 蔡汎修 鄭皓元 吳國任 吳啓瑞 彭文煌 謝明村

中國醫藥大學 中國藥學研究所

**目的** 本研究探討益母草甲醇粗抽物對高膽固醇飲食誘導高脂血症大鼠降血脂之作用。

**方法** 以高膽固醇飲食(2% 膽固醇及1% 膽酸)誘導產生高脂血大鼠,探討益母草甲醇粗抽物之降血脂作用及其機轉。

**結果** 高膽固醇飲食每天口服餵食大鼠一次,連續14天可以誘導產生大鼠高脂血症,益母草甲醇粗抽物對高脂血症大鼠之血清總膽固醇、低密度脂蛋白膽固醇及肝臟之三酸甘油酯有明顯降低,且高密度脂蛋白膽固醇及脂蛋白脂酶顯著增加,血清極低密度脂蛋白膽固醇,肝臟之總膽固醇與糞便之總膽固醇及膽酸則無顯著影響。

**結論** 益母草甲醇粗抽物可經由提高脂蛋白脂酶活性以加速血中脂質代謝及提高血清高密度脂蛋白濃度以加速血中膽固醇清除,達到降血脂作用。(中台灣醫誌 2005;10 Supplement:S16-21)

## 關鍵詞

益母草,高脂血大鼠,降血脂作用

## 前言

高脂血症為血中脂質代謝失衡所造成的一種病症,近年來由於生活及飲食習慣的改變,高膽固醇食物及速食文化充斥著我們的三餐,再加上體力及勞動消耗逐漸減少,導致高脂血症罹患率與日俱增,而其所引發的許多心、腦、血管等相關疾病亦日益嚴重。根據2002年世界衛生組織之衛生報告指出,缺血性心臟病和腦中風分列世界十大死因的第一位和第二位;而國人十大死因中,腦血管疾病、心臟病及高血壓疾病亦分居第二、第三及第十位。許多研究證實高脂血症是造成動脈粥狀硬化的主因[1-4],而動脈粥狀硬化是導致腦、心、血管疾病的前期病症[5-8]。因此,防治高脂血症是預防動脈粥狀硬化及腦、心、血管疾病最基本亦最有效的預防措施。目前用來治療高脂血症的西藥有resins、nicotinic acid、statins、fibric acid四大類,除了須長期服用外,還有便秘、胃腸不適、橫紋肌溶解症的副作用。

傳統中醫之心痛、胸痹等症狀與現今醫學之

心血管疾病雷同,中醫典籍記載活血化瘀藥治療心痛、胸痹等症狀,益母草屬活血化瘀類藥物,具有活血化瘀、利尿消腫,素有「血家聖藥」之稱。而現代藥理研究證實益母草確實具有降低血小板含量[9]、抑制血小板凝集[10]、抑制血栓形成、改善冠狀動脈循環[11]等作用,然而有關益母草降血脂作用並未見有研究,而益母草的活性成分有生物鹼、黃酮類、二萜類等[12],有研究指出黃酮類成分具有調節血脂之功效[13]。因此,本研究擬以高膽固醇飲食誘導大鼠高脂血模式,探討益母草甲醇粗抽物之降血脂作用及其作用機轉。

## 材料與方法

### 藥材之抽提製備

本實驗所採用之益母草,經邱年永技正鑑定,確定其基原為益母草:唇形科植物益母草 *Leonurus heterophyllus* SWEET的全草。

益母草經甲醇迴流萃取四次,收集濾液後再經過減壓濃縮機濃縮,並經過烘箱乾燥後即可得到益母草甲醇粗抽物,抽提率為8.32%,粗抽取物置-20°C冰箱中冷凍收藏。實驗當天以二次水新鮮配製。

聯絡作者:彭文煌

地址:404台中市北區學士路91號

中國醫藥大學 中國藥學研究所

收文日期:2004年6月11日 修改日期:2004年7月9日

接受日期:2004年8月2日

表一 Effects of LH on the serum lipids

	Normal	HYP	LH 0.5	LH 1.0	LH 2.0	GFZ
TC (mg/dL)	58.95 ± 2.97	217.84 ± 6.29	229.62 ± 10.13	165.75 ± 17.80	115.25 ± 2.17***	119.39 ± 8.51***
TG (mg/dL)	61.06 ± 3.12	62.29 ± 3.78	48.68 ± 4.61	47.87 ± 2.18	52.36 ± 4.10	67.52 ± 4.27
PL (mg/dL)	82.41 ± 4.60	90.81 ± 6.89	80.57 ± 1.12	83.28 ± 1.96	75.86 ± 1.27	97.26 ± 4.02
VLDL-C (mg/dL)	12.21 ± 0.62	12.46 ± 0.76	9.74 ± 0.92	9.58 ± 0.44	10.47 ± 0.82	13.50 ± 0.85
LDL-C (mg/dL)	8.67 ± 0.25	34.67 ± 0.93	37.5 ± 1.32	25.17 ± 2.53*	16.33 ± 0.28***	16.23 ± 0.93***
HDL-C (mg/dL)	26.43 ± 1.70	27.35 ± 2.50	50.54 ± 2.49***	53.41 ± 1.89**	57.5 ± 4.15***	75.12 ± 4.79***
AI value <sup>†</sup>	0.3280	1.2676	0.7419*	0.4712***	0.2840***	0.2160***
LPL (U/L)	31.97 ± 0.98	29.54 ± 0.75	32.67 ± 1.23	40.13 ± 1.30**	46.24 ± 1.54***	38.74 ± 0.85**

HYP rats were induced by feeding with 2% cholesterol and 1% bile acid.<sup>†</sup> LDL cholesterol/HDL cholesterol. Data expressed as mean ± SEM of 10 rats for each group. AI = atherogenic index. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$  compared with the HYP group.

### 實驗試劑

膽固醇、膽酸、gemfibrozil 及生化值分析 Kit 等試藥均購自 Sigma-Aldrich 公司。生化值檢測試劑：總膽固醇 (total cholesterol ; TC), Cat. No. CH 201 ; 低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein ; LDL), Cat. No. CH2657 ; 高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein ; HDL), Cat. No. CH2652 ; 磷脂質 (phospholipids ; PL), Cat. No. CH 1157 ; 三酸甘油酯 (triglyceride ; TG), Cat. No. TR213 ; 脂蛋白脂酶 (lipoprotein lipase ; LPL), Cat. No. 1821792 ; 膽酸 (bile acid ; BA), Cat. No. BI 437。

### 實驗動物及分組

本實驗使用購自國家實驗動物中心八週齡的雄性 SD 大鼠，先飼養在中國醫藥大學動物中心飼養室中適應兩週，之後再開始實驗。實驗期間，飼養室溫度維持在  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ，燈光控制採 12 小時亮、12 小時暗 (08:00 燈亮、20:00 燈暗)，食物與水不予限制。實驗動物皆遵從行政院農業委員會編訂之「實驗動物管理與使用指南」照顧與使用。

實驗共分四組：1) 正常組 (Normal 組) 給予飼養基礎飼料 (台灣福壽大白鼠飼料)；2) 高膽固醇組 (HYP 組) 給予高膽固醇飲食誘導 (2% 膽固醇及 1% 膽酸)；3) 中藥治療組 (LH 組) 給予益母草甲醇粗抽物治療 (0.5、1.0、2.0 g/kg, p.o.)；4) 正對照組 (GFZ 組) 給予 gemfibrozil 治療 (250 mg/kg, p.o.)，上述各組均採 10 隻大鼠完成試驗。

### 實驗方法

大鼠餵食高膽固醇飲食 (2% 膽固醇及 1% 膽酸) 每天口服餵食大鼠一次，連續 14 天誘導產生高脂血大鼠，大鼠於誘導前尾巴先採血，每次採血前均需禁食 10 小時，檢測其血清 TC 及 TG

值，篩選血脂正常之實驗動物，並將其分為六組，除正常組外，其餘五組再進行高膽固醇飲食誘導，並分組投予益母草甲醇粗抽物治療，於第 14 天時以頸部取血取得血液樣本，並將動物犧牲，並取肝臟及糞便樣本，以便檢測。

生化值檢測以自動生化分析儀 (Roche office COBAS MIRA) 檢測脂質含量。血清中 TC、TG、LDL、VLDL、HDL、PL 及 LPL，肝臟組織中 TC 及 TG 濃度及糞便中 TC 及 BA 濃度。

### 樣品之前處理

#### 血清分離

動物犧牲後所採得的血液在室溫下靜置 45 分鐘，離心 (3000 rpm,  $4^\circ\text{C}$  10 分鐘) 取上清液即為血清。

#### 肝臟中脂質含量萃取

依據 Folch et al (1957) 方法分析。剪取 0.5 g 肝組織加入 9 mL 冷卻萃取液 (chloroform:ethanol = 2:1, v/v)，以均質機 (Osterizer 10 speed blender) 絞碎後，濾紙 (Whatman No.1) 過濾後加入萃取液 (chloroform:ethanol = 2:1, v/v) 定容至 10 mL (稱為 Folch 萃取液)，儲存於  $4^\circ\text{C}$  以分析 TC 與 TG 含量。

#### 糞便前處理

依據 Setchell et al (1983) 法分析。收集到的糞便以  $60^\circ\text{C}$  熱風乾燥 30 小時後，磨成粉末，裝入密封袋中，放置於  $-20^\circ\text{C}$  冷凍櫃中儲存櫃以備後續分析。

#### 統計學分析

本實驗所獲得之數據，均以 one-way ANOVA 分析變異數，再以 Scheffe's multiple range test 檢定其間差異之顯著性，凡  $p < 0.05$  以下時，則認為有統計意義。

表二 Effects of LH on the liver TC and TG

	Normal	HYP	LH 0.5	LH 1.0	LH 2.0	GFZ
TC (mg/g)	47.51 ± 2.35	105.51 ± 4.97 <sup>###</sup>	93.40 ± 3.11	102.70 ± 1.86	118.78 ± 2.21	99.45 ± 3.59
TG (mg/g)	147.26 ± 4.01	233.77 ± 11.93 <sup>###</sup>	181.12 ± 9.60	184.97 ± 3.87	168.34 ± 10.5 <sup>***</sup>	195.72 ± 7.83

HYP rats were induced by feeding with 2% cholesterol and 1% bile acid. The data represented as means ± SEM from 10 rats for each group. <sup>###</sup> $p < 0.001$  compared with the normal group. <sup>\*\*\*</sup> $p < 0.001$  compared with the HYP group. TC = total cholesterol; TG = triglyceride.

## 結果

### 益母草甲醇粗抽物對高脂血大鼠血清生化值之影響

如表一所示，大鼠以高膽固醇飲食誘導 14 天後，高膽固醇組 (HYP 組) 的大鼠血清 TC 及 LDL 濃度與對照組相比，有明顯增加，證實高膽固醇食物可誘導大鼠血中 TC 及低密度脂蛋白膽固醇 (low-density lipoprotein cholesterol; LDL-C) 提升。給予益母草甲醇粗抽物 (LH 2.0 組) 對高脂血大鼠之血清 TC 及 LDL-C、VLDL-C 濃度具有降低的作用 ( $p < 0.001$ )。正對照組 (GFZ 組) 之血清 TC 濃度降至 120 mg/dL 左右 ( $p < 0.001$ )。

益母草甲醇粗抽物對於高脂血大鼠之血清高密度脂蛋白膽固醇 (high-density lipoprotein cholesterol; HDL-C) 均具有顯著的提升作用 ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ )。正對照組 (GFZ 組) 於第 14 天時，對於高脂血大鼠之血清 HDL-C 亦具有顯著提升的作用 ( $p < 0.001$ )。

大鼠以高膽固醇食物誘導形成高脂血症後，各試驗組血清 TG 濃度與正常組比較並無明顯差異 ( $p < 0.05$ )，而正對照組及各試驗組與高膽固醇組相比較亦無明顯差異 ( $p < 0.05$ )。

### 益母草甲醇粗抽物對高脂血大鼠血清脂蛋白脂酶活性之影響

益母草甲醇粗抽物 (1.0 及 2.0 g/kg) 會明顯提升 LPL 活性 ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ) (表一)。

### 益母草甲醇粗抽物對高脂血大鼠肝臟脂質濃度之影響

大鼠以高膽固醇食物誘導 14 天後，HYP 組的肝臟 TC 及 TG 濃度明顯高於正常組，顯示高膽固醇食物會明顯提高大鼠之肝臟 TC、TG 濃度。以益母草甲醇粗抽物治療後，對於高脂血大鼠之肝臟 TC 濃度與 HYP 組相比較無明顯差異 ( $p > 0.05$ )。LH 2.0 組對高脂血大鼠之肝臟 TG 濃度有明顯降低。GFZ 組對於高脂血大鼠之肝臟 TC 及 TG 濃度則無明顯影響 ( $p > 0.05$ ) (表二)。

### 益母草甲醇粗抽物對高脂血大鼠糞便總膽固醇及膽酸濃度之影響

HYP 組其大鼠糞便中 TC 及 BA 濃度明顯高

於正常組 ( $p > 0.001$ )，顯示大鼠以高膽固醇食物誘導 14 天後會導致其糞便中 TC 及 BA 濃度增加。而其他試驗組與 HYP 組相比較發現，其糞便中的 TC 及 BA 濃度增加並不顯著 ( $p > 0.05$ )，顯示益母草甲醇粗抽物及 GFZ 並不會增加高脂血大鼠糞便中 TC 及 BA 的排泄量 (表三)。

## 討論

高脂血形成的成因大部份是因為高膽固醇食物所導致。食物經過消化、吸收之後在小腸黏膜細胞重新合成 TC、TG 及 PL 等脂質，以乳糜微粒的形式運送至肝臟，在肝臟內脂質與表面脂蛋白結合形成 VLDL 藉由外噬作用以血液運送至週邊，經過 LPL 代謝 TG 後，形成 IDL 最後變成 LDL，LDL 會被肝以外的周邊組織 LDL receptor 吸收，釋放出膽固醇給細胞利用，LDL 亦會被肝臟 LDL receptor 接受，過多的 LDL 會氧化形成氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL)，ox-LDL 被巨噬細胞所吞噬而沉積在血管內皮，導致動脈粥狀硬化，引起許多心血管疾病。而 HDL 則扮演血中清道夫的角色，負責將周邊的游離膽固醇運送回肝臟，間接促進 LDL 的代謝 [14]。

在高膽固醇食物誘導下，大鼠血清中 TC 及 LDL-C 的濃度明顯的增加，血清 VLDL-C、HDL、PL 及 TG 則無顯著影響，此結果與 Munilla 等人於 1997 年發表的結果相符 [15]。給予益母草甲醇粗抽物治療後發現，具有降低血清 TC 及 LDL-C 濃度的作用，並且提高 HDL-C 濃度的作用，推測其降低 LDL-C 濃度之機轉應與 HDL-C 濃度提高，而增加了 LDL-C 的清除有關。

LDL-C 與 HDL-C 的血中濃度與動脈粥狀硬化有很大的關係 [8]，LDL 為膽固醇代謝過程的中間產物，其主要的功用是將肝臟中的膽固醇運送至周邊供給利用。而 HDL 的主要功能是接收來自血清中的膽固醇脂類運送回肝臟。當動脈粥狀硬化的指標 (AI = LDL-C/HDL-C) 提高時，也就是血清 LDL-C 濃度過高，而 HDL-C 濃度不足時，造成周邊的游離膽固醇相對的提高，動脈粥狀硬化的發生率就會提高 [16,17]。本研究結果顯示益

表三 Effects of LH on the fecal TC and BA

	Normal	HYP	LH 0.5	LH 1.0	LH 2.0	GFZ
TC (mg/day/rat)	19.06 ± 2.01	56.49 ± 3.46***	46.39 ± 1.68	48.15 ± 1.27	42.97 ± 0.85	63.87 ± 3.05
BA (mg/day/rat)	5.58 ± 0.05	16.99 ± 0.22***	16.65 ± 0.09	16.31 ± 0.10	16.56 ± 0.08	16.56 ± 0.07

HYP rats were induced by feeding with 2% cholesterol and 1% bile acid. The data represented as means ± SEM from 10 rats for each group. \*\*\* $p < 0.001$  compared with the normal group.

母草具有降低血清 LDL-C 濃度，且提高血清中 HDL-C 濃度，調降 AI 值，由此推測益母草可以降低冠狀動脈粥狀硬化及心血管疾病的發生率。

LPL 的功用是水解 TG，當 LPL 活性增加時，在週邊會將 VLDL、IDL 及 LDL 內的 TG 水解成游離脂肪酸、甘油，加速膽固醇代謝 [18]。結果發現在給予益母草甲醇粗抽物治療後，對於血清 LPL 具有明顯的提升作用，而 VLDL-C 降低，推測益母草甲醇粗抽物可經由提升血中 LPL 活性，增加水解血清 VLDL-C 的 TG，加速血清 VLDL-C 的代謝，而降低血清 VLDL-C 的濃度。

益母草甲醇粗抽物具有調節血脂的作用，檢測其肝臟脂質發現，大鼠以高膽固醇食物誘導後形成高脂血症，其肝臟中 TC 及 TG 皆明顯高於正常組，在給予益母草甲醇粗抽物治療後，對於肝臟之 TC 皆不具明顯調降作用，推測益母草甲醇粗抽物不具有抑制肝臟合成 TC 的作用 [19]，而益母草甲醇粗抽物可降低肝臟中 TG 濃度，但血清中 TG 濃度並無明顯增加，因此推測其可能是抑制了 TG 在肝臟的合成步驟 [20]。

對於調節血中總膽固醇方面，一般而言，食物中的膽固醇會在空腸以微膠粒的形式吸收，再經由黏膜細胞的再酯化作用後，形成膽固醇脂，以乳糜微粒方式經由淋巴管經胸管運送至左鎖骨下靜脈，進入全身循環再輸送至肝臟 [21]。一部分的膽固醇在肝臟中會代謝形成膽酸，經由膽管輸送至十二指腸幫助消化作用。在腸道中未被吸收的膽固醇會經由糞便排出，而過剩的膽酸亦會藉由此途徑將其排出 [22]。本研究結果顯示當給予大鼠高膽固醇食物誘導高脂血後，再以益母草甲醇粗抽物治療後，糞便中膽固醇濃度及膽酸濃度與 HYP 組相比較並未明顯增加，推測其調節血中脂質的作用機轉，並非經由此途徑完成。

綜合以上結果顯示益母草甲醇粗抽物具有降血脂作用，其降血脂作用機轉可能與提高血清脂蛋白脂酶活性以加速血中脂質代謝，及提高血清高密度脂蛋白濃度以加速血中膽固醇清除有關。

## 致謝

本文承蒙中國醫藥大學研究計畫 (編號 CMU92-CPS-03) 之經費補助得以順利完成，謹此致謝。

## 參考文獻

- Murakami T, Yamada N. Exacerbation of atherosclerosis induced by hypertensive and hypercholesterolemic states--potential mechanisms and therapeutic implications. [Review] *Nippon Rinsho* 1997;55:2097-102. (In Japanese; English abstract)
- Akira Y. Mechanism of the production of small, dense LDL in hypertriglyceridemia: role of cholesteryl ester transfer protein and hepatic triglyceride lipase. *Atherosclerosis* 1998;136:S28.
- Gaus K, Hall EA. Short peptide receptor mimics for atherosclerosis risk assessment of LDL. *Biosens Bioelectron* 2003;18:151-64.
- Bittolo-Bon G, Cazzolato G. Exercise and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:1181-87.
- 賈亞峰。血脂失調和動脈粥樣硬化治療的現狀與進展。《國外醫學藥學分冊》2001;28:209-14。
- 胡大一，趙濃度，項志敏。血脂及其調節與動脈粥樣硬化的關係研究進展。《中華老年心腦血管病雜誌》1999;1:66-9。
- 王洪濤。血脂代謝與冠狀動脈病變的相關分析。《鐵道醫學》2001;29:159-60。
- Kawaguchi A, Yutani C, Yamamoto A. Hypercholesterolemic valvulopathy: an aspect of malignant atherosclerosis. [Review] *Ther Apher Dial* 2003;7:439-43.
- 張陳福，官文武，李承珠。益母草抗血小板聚集的機理研究。《中西醫結合雜誌》1986;6:39-40。
- Li JM, Cui H, Zhang YJ. Observe of motherwort herb injection and stachydrine to influence exsomatize blood specimen viscosity. *Pract J Integrated Tradit West Med* 1992;7:411-2.
- 陳少如，陳穗，李秋元。益母草注射液對冠心病患者及大鼠心肌缺血再灌注心律失常的治療作用。《臨床心血管病雜誌》2002;18:490-1。

12. 阮金藍等。益母草的化學、藥理和臨床研究進展。 *中草藥* 200;34:S15-9。
13. 高瑩, 肖穎。山楂及山楂黃酮提取物調節大鼠血脂的效果研究。 *中國食品衛生雜誌* 2002;3:14-6。
14. Ohmori K, Yamada H, Yasuda A, et al. Anti-hyperlipidemic action of a newly synthesized benzoic acid derivative, S-2E. *Eur J Pharmacol* 2003;471:69-76.
15. Munilla MA, Herrera E. A cholesterol-rich diet causes a greater hypercholesterolemic response in pregnant than in nonpregnant rats and does not modify fetal lipoprotein profile. *J Nutr* 1997;127:2239-45.
16. Diamond JR, Karnovsky MJ. Exacerbation of chronic aminonucleoside nephrosis by dietary cholesterol supplementation. *Kidney Int* 1987;32:671-7.
17. Kailash PM, Jawahar K, Rakesh KK. Purpurogallin in the Prevention of Hypercholesterolemic Atherosclerosis. *Int J Angiol* 1997;6:157-66.
18. Boisfer E, Lambert G, Atger V, et al. Overexpression of human apolipoprotein A-II in mice induces hypertriglyceridemia due to defective very low density lipoprotein hydrolysis. *J Biol Chem* 1999;274:11564-72.
19. Tobert JA, Hitzenger G, Kukovetz WR, et al. Rapid and substantial lowering of human serum cholesterol by mevinoli (MK-803), an inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase. *Atherosclerosis* 1982;41:61-5.
20. Liu YF, Lo YC. Effect of deep frying oil given with and without dietary cholesterol on lipid metabolism in rats. *Nutr Res* 1995;15:1783-92.
21. Setchell KD, Street JM. Inborn errors of bile acid synthesis. [Review] *Semin Liver Dis* 1987;7:85-99.
22. Yokogoshi H, Oda H. Dietary taurine enhances cholesterol degradation and reduces serum and liver cholesterol concentrations in rats fed a high-cholesterol diet. *Amino Acids* 2002;23:433-9.

# Hypolipidemic Effect of Methanol Extract of Leonuri Herba in Hyperlipidemic Rats

Tzong-Chung Leu, Li-Wei Lin, Fan-Hsuan Tsai, Hao-Yuan Cheng,  
Kuo-Jen Wu, Chi-Rei Wu, Wen-Huang Peng, Ming-Tsuen Hsieh

Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical University, Taichung, Taiwan, R.O.C.

**Purpose.** The present study investigated the hypolipidemic effect of methanol extract of Leonuri Herba (LH) on hyperlipidemic (HYP) rats fed a high cholesterol diet.

**Methods.** Rats were fed a rich cholesterol diet (2% cholesterol and 1% bile acid) for two weeks to induce hyperlipidemia. To probe into the hypolipidemic mechanism of LH, the lipid levels in serum, liver and feces were measured on the 14th day.

**Results.** The results showed that a high cholesterol diet induced hyperlipidemia in rats. LH reduced total cholesterol in serum, and LDL-C and triacylglycerol in the liver. In contrast, the HDL-C level and LPL activity increased. However, LH did not significantly affect VLDL-C level in the serum, TC level in the liver, or TC and BA levels in feces.

**Conclusions.** LH produces a hypolipidemic effect by increasing LPL activity in serum, which causes an acceleration in blood lipid metabolism, and by removing blood cholesterol through an increase in HDL-C. ( *Mid Taiwan J Med* 2005;10 Supplement:S16-21 )

## Key words

Leonuri herba, hyperlipidemic rats, hypolipidemic effect