菝葜水提物对高脂饮食诱导肥胖小鼠体重和脂肪代谢的影响

潘永芳，郑国栋，张清峰，黎冬明

（江西农业大学食品科学与工程学院，江西省天然产物与功能食品重点实验室，江西南昌 330045）

摘要：研究菝葜水提物对高脂饮食诱导肥胖小鼠体重和脂肪代谢的影响。50 只 ICR 雌性小鼠随机分成 5 组，分别喂养基础饲料，高脂饲料和添加了不同剂量菝葜水提物的高脂饲料，定期测定体重和摄食量，投喂 8 周后测定小鼠体重、肝脏和腹腔内脂肪组织（IPAT）重量，分析血清中生化指标和肝脏中脂肪代谢相关酶的活性。与高脂组相比，低、中和高剂量的菝葜水提物能显著的控制小鼠体重增加、IPAT 重量和血清中 GLU 和 TG 浓度，体重增加分别减少了 31.97%、38.31%和 36.90%，IPAT 重量分别减少 41.34%、48.58%和 43.41%，GLU 浓度分别降低了 28.50%、17.15%和 15.10%，TG 浓度分别降低 35.86%、29.31%、46.90%；肝脏中 ACO 的活性分别提升了 25.49%、29.41%和 26.47%，中、高剂量组 AMPK 活性显著提升分别提升了 29.17%、33.33%。以上结果表明，菝葜水提物抑制小鼠体内脂肪沉积和减少体重增加主要是通过提升肝脏中脂肪氧化酶的活性，促进脂肪酸 β-氧化来实现，对脂肪合成进程无明显影响。

关键词：菝葜水提物；体重；脂肪沉积；脂肪代谢相关酶活性

文章篇号：1673-9078(2014)2-12-16

Effects of Water Extract from *Smilax china* on Body Weight and fat Metabolism of High-fat Diet Induced Obese Mice

PAN Yong-fang, ZHENG Guo-dong, ZHANG Qing-feng, LI Dong-ming

(Jiangxi Key Laboratory of Natural Product and Functional Food, College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: Fifty female ICR mice were randomly assigned to five groups, individually fed on commercial diets， high-fat diet, high-fat diet with low, middle, high level of water extraction from *Smilax china* (WESC) for 8 weeks,. Body weight and food intake were inspected regularly during this period; after eight weeks, the weights of body, liver and intraperitoneal adipose tissue (IPAT) were measured, and the serum index and the activities of liver lipid metabolism related enzymes in mice were analyzed. Compared with the high-fat group, low, middle and high doses of WESC significantly decreased body weight gain, IPAT weight and the concentrations of GLU and TC in serum. The body weight gain decreased by 31.97%, 38.31% and 36.90%, respectively. IPAT weight decreased by 41.34%, 48.58% and 43.41%, respectively. The concentration of GLU reduced by 28.50%, 17.15% and 15.10%, respectively, and the TG concentration reduced by 35.86%, 29.31% and 46.90%, respectively. The activity of ACO in liver were increased by 25.49%, 29.41% and 26.47%, respectively. And the middle and high doses of WESC improved the activity of AMPK by 29.17% and 33.33%, respectively. The above results showed that the WESC suppressed fat accumulation and decreased the weight gain in mice, which was mainly due to increase of the activity of fat oxidation enzyme in liver, promotion of the fatty acid β-oxidation. No obvious influence was observed on fat synthesis.

Key words: *Smilax china* water extract; body weight; fat accumulation; the activity of lipid metabolism related enzyme

随着现代社会的进步，人们饮食结构越来越偏向于欧美化，超重和肥胖人口越来越多，已成为影响国民身心健康的重大隐患。肥胖不仅严重影响人们的体型，更主要是它与冠心病、高血压、2 型糖尿病等疾病的发生有紧密的联系。现在治疗肥胖有许多药物，但长期服用效果不理想，而且存在不同程度的副作用[1]。研究开发低副作用的减肥作用的功能成分成为当今研究热门课题。

收稿日期：2013-09-28

基金项目：国家自然基金资助项目（31160320）

作者简介：潘永芳（1990-），女，硕士研究生，研究方向：天然产物提取分离、功能食品

通讯作者：郑国栋（1969-），男，博士，副教授，研究方向：天然产物提取分离、功能食品等

菝葜是百合科菝葜属植物菝葜（*Smilax china* L.）的根茎，又名为王瓜草、金刚藤、金刚树等，主要分布在我国长江以南地区及东南亚等地。菝葜中含有薯蓣皂苷元、绿原酸、落新妇苷、黄杞苷、白藜芦醇、槲皮素等生物活性的成分[2~3]。Yuan 等[4]研究菝葜根茎中 8 种粗提物的抗癌活性，他们发现富含量黄酮类的提取物具有很好的抗肿瘤细胞性能，从黄酮中分离出的山柰酚-7-O-β-D-葡萄糖苷能使癌细胞的周期阻滞在 G_1 期并诱导细胞凋亡，表现其有抗癌和抑制细胞增殖作用。Shu 等[5]的研究发现腹腔注射 1000 mg/kg 体重的菝葜水提物的抗炎和镇痛效果与 200 mg/kg 体重的阿司匹林效果相似，表明菝葜具有良好的抗炎和镇痛活性。小鼠用不同浓度菝葜水提物进行灌胃，发现菝葜显著降低四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠的血糖浓度，而对正常小鼠的血糖无明显变化[6]。目前关于菝葜与脂肪代谢的研究还未见报道，因此本实验用不同浓度菝葜水提物添加到高脂饲料中投喂小鼠。投喂结束后测定小鼠体重、腹腔内脂肪（IPAT）重量，分析血清生化指标和肝脏中脂肪代谢相关酶活性的影响，本研究为进一步开发和利用菝葜提供试验方法和理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 实验材料

菝葜购自南昌药店（产地：安徽亳州市）。

1.1.2 实验动物

雌性 ICR 小鼠，50 只，SPF 级，体重约 20 g，许可证号：SCXK（湘）2011-0003，购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。

1.1.3 饲料

基础饲料，购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司，高脂饲料（82%基础饲料+13%猪油+5%蔗糖+0.2%胆固醇）；低、中、高剂量组分别以 0.2%、0.5%和 1%的菝葜水提物添加量加入到高脂饲料中。

1.1.4 主要仪器与试剂

落新妇苷、黄杞苷、白藜芦醇（纯度≥98%，上海同田生物技术有限公司）；考马斯亮兰试剂盒，南京建成生物工程研究所；FAS、HMGCR、CPT、ACO、AMPK 活性酶联免疫试剂盒，北京索莱宝科技有限公司；GLU、TC、TG 试剂盒（中生北控生物科技股份有限公司）；AUY120 型电子天平，日本岛津；V-5600 型可见分光光度计，上海元析仪器有限公司；Multiscan MK3 酶标仪（Thermo，USA）；Agilent 1260 Infinity 液相色谱仪（Agilent Technologies）。

1.2 方法

1.2.1 菝葜水提物的制备

菝葜饮片，以 1:20 的料液比加入蒸馏水，沸水提取 4 h 后离心，用相同的条件再提取一次，合并两次离心上清液减压浓缩，再冷冻干燥成粉，即得菝葜水提物。

1.2.2 菝葜水提物成分的测定

用香兰素-高氯酸法、福林酚法及苯酚-硫酸法测得菝葜水提物中三萜类化合物、总多酚和总多糖的含量。

用 Agilent 1260 Infinity 液相色谱仪分析菝葜水提物中多酚成分。落新妇苷、黄杞苷、白藜芦醇的色谱条件：Agilent Eclipse Plus C_{18} 柱（4.6×100 mm，3.5 μm）；乙腈（A）和 0.1%乙腈水溶液（B）为流动相进行二元梯度洗脱，0~15 min，16~20% A；流量 1.000 mL/min；柱温 40 ℃，上样量 10 μL；检测波长 290 nm[3]。

1.2.3 动物分组及饲养

50 只雌性 ICR 小鼠，4 w 龄，体重约 20 g，适应性喂养 3 d 后，随机分成正常对照组、高脂组、低剂量组（0.2%）、中剂量组（0.5%）和高剂量组（1.0%）（同上 1.1.3，高脂饲料配方为：82%基础饲料+13%猪油+5%蔗糖+0.2%胆固醇，低、中、高剂量组分别以 0.2%、0.5%和 1%的菝葜水提物添加量加入到高脂饲料中），每组 10 只，自由进食及饮水，喂养 8 w，每周测体重，每天测摄食量。饲养条件：室温为（24±2 ℃，光照周期 12L/12D（光照从 08:00 到 20:00）。

1.2.4 血清指标和肝脏中脂类代谢相关酶活性的测定

投喂实验结束后，小鼠禁食不禁水 12 h 以上，用氯仿麻醉，心脏取血，血液在 1200 g 离心 15 min 以分离血清。摘取肝脏和腹腔内脂肪（IPAT）并称量，血清和肝脏放在-80 ℃保存待分析。

血清中总胆固醇（TC）、葡萄糖（GLU）、甘油三酯（TG）浓度分别用 TC、GLU、TG 试剂盒测定。肝脏中脂肪酸合成酶（FAS）、3-羟基-3-甲基-戊二酰辅酶 A 还原酶（HMGCR）、肉碱酰基转移酶（CPT）、酰基辅酶 A 氧化酶（ACO）、磷酸腺苷激活的蛋白激酶（AMPK）的活性均用酶联免疫试剂盒，以酶标仪进行测定，而其中蛋白浓度的测定用考马斯亮兰试剂

盒测定。

1.3 统计分析

所有的数均以平均数±标准误来表示，用 DPS（V 7.55）进行单因素方差分析，P<0.05 为差异显著，多重比较均采用 Duncan 新复极差法。

2 结果与讨论

2.1 菝葜水提物中成分的分析

如表 1 所示，菝葜水提物中主要成分总三萜、总多酚和总多糖的含量分别为 9.95%、26.62%和 22.44%，其中多酚类物质含量较高。我们还进一步用 HPLC 分析了水提物中三种多酚类物质的含量，图 1 所示为混合标曲和菝葜水提物的 HPLC 图谱，组分 1、2、3 分别为落新妇苷、黄杞苷和白藜芦醇。以浓度 X（μg/mL）为横坐标，峰面积 Y 为纵坐标，绘制标准曲线，落新妇苷 Y= 2152.5X-3.3（R^2=0.9999），黄杞苷 Y= 1811.5X+5.3286（R^2=0.9999），白藜芦醇 Y= 437.24X-1.1952（R^2=0.9999），最后得出菝葜水提物中落新妇苷、黄杞苷和白藜芦醇含量（mg/g）分别为：0.66±0.04、1.57±0.06 和 6.51±0.12。

表 1 菝葜水提物各组分的含量

Table 1 The content of components in WESC

成分	总三萜/%	总多酚/%	总多糖/%
菝葜水提物	9.95±0.23	26.62±0.55	22.44±0.51

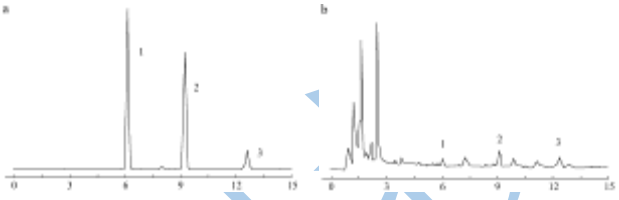


图 1 混合标曲与菝葜水提物的 HPLC 图谱

Fig.1 Chromatograms of standard mixture (a) and WESC (b)

注：1-落新妇苷；2-黄杞苷；3-白藜芦醇。

2.2 小鼠体重、肝脏、脂肪重量及摄食量变化

表 2 菝葜水提物对小鼠体重、肝脏及腹腔内脂肪组织重量的影响（$\bar{X}$ ±SE, n=10）

Table 2 Effects of WESC on body weight, weights of liver and intraperitoneal adipose tissue (IPAT) in mice

分组	初始体重/g	最终体重/g	体重增加/g	肝脏重量/g	IPAT/g	摄食量(g/d*只)
正常组	21.98±0.37	33.18±0.70^b	11.20±0.49^b	1.54±0.05	1.20±0.16^b	5.16±0.31
高脂组	23.33±0.53	42.41±3.98^a	19.08±3.62^a	1.79±0.21	3.87±1.41^a	5.34±0.41
低剂量组	22.45±0.34	35.43±0.81^b	12.98±0.89^b	1.81±0.06	2.27±0.26^b	5.69±0.56
中剂量组	22.38±0.35	34.14±0.63^b	11.77±0.58^b	1.67±0.17	1.99±0.11^b	5.61±0.34
高剂量组	23.28±0.66	34.89±0.65^b	12.04±0.41^b	1.58±0.18	2.19±0.21^b	5.51±0.48

注：1. 显著水平 p<0.05；2. 标准差右上角相同字母表示统计不显著，不同字母表示统计显著。

如表 2 所示，各组小鼠的初始体重无统计学差异。投喂期间各组的摄食量不存在显著差异，投喂结束后，高脂组小鼠的体重和 IPAT 重量与正常组相比显著增加。与高脂组相比，低、中、高剂量的菝葜水提物均能显著的减少小鼠体重（P<0.05）、体重增加（P<0.05）、IPAT（P<0.05），而各剂量组间无显著差异。各剂量组的肝脏重量不存在显著差异，说明菝葜水提物及高脂饲料对小鼠无显著的毒害作用。由以上可知，菝葜水提物能在不影响小鼠摄食量的情况下减少体重增加，减少体内脂肪的沉积。

2.3 小鼠血清指标变化

表 3 列出了小鼠投喂菝葜水提物 8 周后各剂量组 3 个血清指标的浓度。与正常组相比，高脂组血清中 GLU、TC 和 TG 的浓度显著增加（P<0.05）。与高脂组相比：低、中、高剂量组血清 GLU 浓度显著减少（P<0.05），TG 浓度显著减少（P<0.05），而 TC 含量差异不显著，各剂量组间 3 个血清指标均不存在显著差异。本实验结果显示菝葜水提物具有降血糖和降血脂的作用，进一步证实了菝葜的降糖作用[6]。菝葜水提物中主要含有三萜、多酚和多糖，研究表明活性多糖、苷类和多酚类都是中药中有效的降血脂成分[7]，推测菝葜水提物的降脂作用可能与这三种主要成分有关。

表 3 菝葜水提物对小鼠血清指标的影响（$\bar{X}$ ±SE, n=10）

T Table 3 Effects of WESC on serum parameters in mice (mmol/L)

分组	GLU	TC	TG
正常组	13.44±0.91^b	1.66±0.08^b	1.78±0.18^b
高脂组	16.56±0.95^a	2.96±0.20^a	2.90±0.30^a
低剂量组	11.84±0.60^b	3.11±0.14^a	1.86±0.14^b
中剂量组	13.72±0.89^b	3.25±0.17^a	2.05±0.10^b
高剂量组	14.06±0.45^b	3.37±0.11^a	1.54±0.15^b

注：1. 显著水平 p<0.05；2. 标准差右上角相同字母表示

统计不显著，不同字母表示统计显著。

2.4 小鼠肝脏中脂类代谢相关酶活性的变化

低、中、高剂量菝葜水提物投喂对小鼠肝脏中脂类代谢相关酶活性的影响如表 4 所示。与正常组相比，高脂组 HMGCR、ACO、CPT、AMPK 活性显著提升（P<0.05），FAS 活性差异不显著。与高脂组相比，低、中、高剂量组肝脏中 ACO 的活性显著提升（P<0.05），低剂量组 AMPK 活性无显著影响，中、高剂量组 AMPK 活性（P<0.05）显著提升，各剂量组 FAS、HMGCR、CAT 的活性差异不显著。

表 4 菝葜水提物对小鼠肝脏脂类代谢相关酶活性的影响（IU/mg 蛋白质）（$\bar{X}$ ±SE, n=10）

Table 4 Effects of WESC on liver lipid metabolism related enzymes activity in mice (IU/mg protein)

分组	FAS	HMGCR	CPT	ACO	AMPK
正常组	0.18±0.01	0.44±0.03^{b}	0.59±0.05^{b}	0.62±0.02^{c}	0.18±0.01^{c}
高脂组	0.16±0.01	0.70±0.04^{a}	0.94±0.04^{a}	1.02±0.03^{b}	0.24±0.01^{b}
低剂量组	0.20±0.02	0.75±0.03^{a}	0.92±0.07^{a}	1.28±0.06^{a}	0.24±0.03^{b}
中剂量组	0.17±0.02	0.78±0.03^{a}	0.87±0.07^{a}	1.32±0.05^{a}	0.31±0.01^{a}
高剂量组	0.19±0.02	0.78±0.06^{a}	0.85±0.09^{a}	1.29±0.02^{a}	0.32±0.02^{a}

注：1. 显著水平 p<0.05；2. 标准差右上角相同字母表示统计不显著，不同字母表示统计显著。

ACO 和 CAT 都是脂肪酸 β-氧化的限速酶，研究报道 ACO 基因敲除小鼠，因缺乏 ACO 而造成脂肪在肝脏中大量蓄积[8]。推测菝葜水提物能通过增加 ACO 的活性来促进脂肪酸的 β-氧化。AMPK 在调控糖类代谢、胆固醇代谢和脂类代谢中起着重要的作用[9]。在环境胁迫下，AMPK 可以调控葡萄糖转运子 4，使更多葡萄糖转动到细胞内，进行糖代谢，维持能量平衡[10]。由前面的结果可知，菝葜水提物有降血糖的作用，所以菝葜水提物可能通过提升 AMPK 的活性来促进血糖的分解，达到降血糖的作用，而 AMPK 活性提升可能也刺激了脂类的代谢。

FAS 是高等动物内源性脂肪酸合成的最重要酶之一，降低 FAS 酶活性可以减少脂肪合成，调节 FAS 活性已经成为治疗和预防肥胖的重要靶点之一[11]。由于各剂量组与高脂组的 FAS 活性差异不显著，说明菝葜水提物对脂肪酸的合成无明显效果。HMGCR 是胆固醇合成关键酶，其活性与机体内源性胆固醇含量有密切关系。高脂组与各给药组间肝脏的 HMGCR 活性无明显差异，因此这与表 3 中的血清中 TC 浓度差异不显著，说明菝葜水提物与胆固醇合成无关。

研究表明，三萜类化合物熊果酸能改善小鼠内脏的脂肪过多，调控脂肪代谢具有减肥作用[12]。多酚化合物，是潜在的治疗谢综合症的成分，某些多酚类物质如白藜芦醇具有减少体重、降糖、降压等活性[13]。秋葵多糖能减少高脂肪饮食喂养 C57BL/6 小鼠的体重和葡萄糖水平减少血清中总胆固醇水平[14]。由分析可知，菝葜水提物的主要成分为三萜类（9.95%）、多酚（26.62%）和多糖（22.44%），这三组成分都可能具有减肥降脂作用，然而本实验未对其细分，故对于其中起作用的成分还不明确，需要进一步研究。

3 结论

菝葜水提物中总三萜、总多酚和总多糖的含量分别为 9.95%、和 22.44%，通过 HPLC 分析得知菝葜水提物中白藜芦醇的含量较高，黄杞苷次之，落新妇苷含量很少。动物实验中，与高脂组相比，投喂低、中、高剂量的菝葜水提物能显著减少小鼠体重增加（31.97%、38.31%、36.90%）、IPAT 重量（41.34%、48.58%、43.41%），降低血清中 GLU（28.50%、17.15%、15.10%）和 TG（35.86%、29.31%、46.90%）浓度，提升肝脏中 ACO 的活性（25.49%、29.41%、26.47%），中、高剂量的菝葜水提物还能提升 AMPK 的活性（29.17%、33.33%）。由此推测，菝葜水提物主要是通过提升小鼠肝脏中 ACO 活性来促进脂肪的β-氧化，从而达到减少体重增加，减少小鼠体内脂肪沉积的作用。

参考文献

[1] 袁建,肖廷超,朱照静. 减肥药物不良反应文献综合分析[J]. 药事组织,2011,20(12):52-53
YUAN Jian, XIAO Ting chao, ZHU Zhao jing. Analysis of the Adverse Drug Reaction of Anti-Obesity Agents [J]. China Pharmaceuticals, 2011, 20(12): 52-53

[2] 钱芳芳,张长林.菝葜化学成分与药理作用的研究进展[J]. 药学研究,2013,32(4):229-231
QIAN Fang-fang, ZHANG Chang-lin. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Smilax China* L. [J]. Joumal of Pharmaceutical Research, 2013, 32(4): 229-231

[3] ZHANG Qing-feng, GUO Yu-xian, SHANGGUAN

Xin-chen, et al. Antioxidant and anti-proliferative activity of Rhizoma Smilacis Chinae extracts and main constituents [J]. Food Chemistry, 2012, 133(1): 140-145

[4] YUAN Li-li, GAN Guo-ping, ZHANG Hui zhan, et al. A flavonoid glycoside isolated fromSmilax chinaL. rhizome in vitro anticancer effects on human cancer cell lines [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2007, 113(1): 115-124

[5] SHU Xiao shun, GAO Zhong hong, YANG Xiang-liang. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of Smilax china L. aqueous extract [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2006, 103(3): 327-332

[6] 马世平,卫敏,郭健,等.菝葜对小鼠血糖和肝糖元的影响[J].中国现代应用药学杂志,1998,15(5):5-7
MA Shi-ping, WEI Min, GUO Jian, et al. Effects of Rhizoma Smilacinus on blood glucose level and hepatic glycogen in mice [J]. The Chinese Journal of Modern Appled Pharmacy, 1998, 15(5): 5-7

[7] 张勇,尚德静,李庆伟.中药降血脂的研究进展[J].辽宁师范大学学报,2004,27(2):201-205
ZHANG Yong, SHANG De jing, LI Qing wei. The progress of research in reducing blood lipid by traditional chinese medicine [J]. Journal of Liaoning Normal University, 2004, 27(2): 201-205

[8] Fan C Y, Pan J, Chu R, et al. Hepatocellular and hepatic peroxisomal alterations in mice with a disrupted peroxisomal fatty acyl-coenzyme A oxidase gene [J]. J .Biol. Chem., 1996, 271: 24698-24710

[9] Hardi DC. Biochemistry. Balancing cellular energy [J]. Science, 2007, 315: 1671-1672

[10] Feng L, Song Y F, Guan Q B, et al. Long-term ethanol exposure inhibits glucose transporter 4 expression via an AMPK-dependent pathway in adipocytes [J]. Acta Pharmacologicca Sinica, 2010, 31: 329-340

[11] Tian W X. Inhibition of fatty acid synthase by polyphenols [J]. Current Medicinal Chemistry, 2006, 13(8): 967-977

[12] De Melo C L, Queiroz MGR, Fonseca SGC, et al. Oleanolic acid, a natural triterpenoid improves blood glucose tolerance in normal mice and ameliorates visceral obesity in mice fed a high-fat diet [J]. Chemico-Biological Interactions, 2010, 185(1): 59-65

[13] Cherniack EP. Polyphenols: Planting the seeds of treatment for the metabolic syndrome [J]. Nutrition, 2011, 27(6): 617-623

[14] Fan Shengjie, Guo Lu, Zhang Yu, et al. Okra polysaccharide improves metabolic disorders in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice [J]. Molecular nutrition & Food Research, 2013, 57(11): 2075-2078

现代食品科技