

土茯苓黄酮对高脂小鼠脂肪代谢及抗氧化水平的影响

张清峰, 付莹娟, 黄占旺, 郑国栋

(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: 研究了土茯苓总黄酮及主要成分落新妇苷对高脂小鼠脂肪代谢及体内抗氧化水平的影响。80只ICR小鼠随机分成8组, 其中I组为基础对照组, II组为高脂对照组; 其余6组在饮用水中分别添加1、2和4 mg/mL的落新妇苷或土茯苓总黄酮。八周后, 解剖小鼠, 采集腹腔脂肪和肝脏并称重, 分析血清中甘油三酯(TG), 总胆固醇, 高密度胆固醇和葡萄糖含量。实验结果表明与高脂对照组相比, 土茯苓黄酮对小鼠摄食量和饮水量无明显影响, 但可显著减少小鼠体重增幅、腹腔脂肪重量及血清中TG含量。机制研究表明土茯苓黄酮能显著提升小鼠肝脏中肉碱脂酰基转移酶和脂肪酸 β -氧化酶活性, 但对脂肪酸合成酶活性无明显影响, 说明土茯苓黄酮通过促进分解减少体内脂肪蓄积。土茯苓黄酮能显著增加肝脏中抗氧化酶活性, 并减少脂质过氧化产物丙二醛的含量, 说明土茯苓黄酮具有体内抗氧化活性。

关键词: 土茯苓总黄酮; 落新妇苷; 脂肪代谢; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2016)11-8-15

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.11.002

Effects of Flavonoids from *Rhizoma Smilacis glabrae* on Lipid Metabolism and Antioxidation Status in Mice

ZHANG Qing-feng, FU Ying-juan, HUANG Zhan-wang, ZHENG Guo-dong

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

Abstract: The effects of total flavonoids from *Rhizoma Smilacis glabrae* (RSG) and its main ingredient—astilbin—on the lipid metabolism and antioxidation level in mice were investigated. Eighty ICR mice were randomly assigned to eight groups. Group I was a control group fed with a normal diet, and group II was a control group fed with a high-fat diet. Total flavonoids and astilbin from RSG at concentrations of 1, 2, and 4 mg/mL were added to the drinking water for the other six groups, respectively. After eight weeks, the mice were dissected, the intraperitoneal adipose tissue (IPAT) and liver were collected and weighed, and the serum triglyceride (TG), total cholesterol, high-density cholesterol, and glucose levels were determined. The results showed that compared with the high-fat control group, RSG flavonoids had no effect on the food and water intake in mice, but could significantly reduce body weight gain and IPAT weight, as well as the TG content in serum. The mechanism study indicated that RSG flavonoids significantly improved the activities of carnitine acyltransferase and fatty acid beta-oxidase in mouse liver, but had no effect on the activity of fatty acid synthase, indicating that RSG flavonoids may reduce fat accumulation by promoting fat decomposition. RSG flavonoids could significantly enhance the activity of antioxidant enzymes and decrease the level of malondialdehyde (MDA), indicating that RSG flavonoids have *in vivo* antioxidant activity.

Key words: total flavonoids of *Rhizoma Smilacis glabrae*; astilbin; lipid metabolism; antioxidation

随着人民生活水平的提高, 因高糖高脂膳食而引起的肥胖、高血脂等健康问题日益严重。调查数据表明中国有11%的儿童及30%的成人超重, 42%的儿童至

收稿日期: 2015-11-25

基金项目: 江西省自然科学基金资助项目(20122BAB214005); 江西省天然产物与功能食品重点实验室开放基金项目(20150003)

作者简介: 张清峰(1983-), 男, 博士, 研究方向: 功能性食品成分, 天然产物开发与利用

少存在一种糖脂代谢指标异常^[1]。肥胖、高血脂的形成与膳食因素关系密切。研究表明食品中一些黄酮成分有调节脂肪代谢作用, 如藤茶中二氢杨梅素^[2], 大豆异黄酮^[3]等可降低血脂浓度。

土茯苓是百合科光叶菝葜的根茎, 是卫生部允许用于保健食品的“药食同源”资源。化学成分研究表明落新妇苷及其三种异构体、黄杞苷和异黄杞苷等黄酮物质是土茯苓的主要活性成分^[4-6]。我们通过HPLC对

18批土茯苓样品分析结果表明, 落新妇苷是土茯苓中最主要黄酮成分, 含量范围为5.48~25.75 mg/g; 花旗松素、黄杞苷、异黄杞苷、落新妇苷及其三种异构体等七种黄酮含量之和为6.72~35.3 mg/g, 平均含量为18.0±8.5 mg/g^[4]。现代药理研究显示土茯苓提取物有抗氧化^[7]和抑制肝癌细胞增殖和诱导调亡作用^[8], 并可诱导增强胰岛素活性而降低小鼠血糖^[9]。落新妇苷可加快小鼠脂肪组织中甘油三酯分解速率^[10]; 并能抑制胆固醇合成限速酶HMG-CoA还原酶的活性^[11]。Therault等研究发现落新妇苷苷元“花旗松素”能有效抑制HepG2细胞内胆固醇、甘油三酯及磷脂的合成^[12]; 其机制与抑制二酰基甘油酰基转移酶活性和降低载脂蛋白B分泌有关^[13]。

龟苓膏是以土茯苓为主要原料的功能食品。民间认为龟苓膏有护肝和调节血脂的功效, 但目前尚缺乏科学依据。我们前期研究发现, 龟苓膏中富含来源于土茯苓的黄酮成分-落新妇苷, 每进食一罐龟苓膏可摄入约100 mg^[4]。虽然已有少量落新妇苷体外调节脂肪代谢的研究报道^[10,11], 但目前还没有土茯苓总黄酮体内调节脂肪代谢的研究报道。除落新妇苷外, 土茯苓还含有许多其他黄酮成分, 各成分间是否存在协同增效作用, 也尚无相关研究。因此, 本文以ICR小鼠为对象, 在体内研究了土茯苓总黄酮及主要成分落新妇苷对高脂小鼠脂肪代谢及体内抗氧化水平的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

土茯苓总黄酮的纯化参考文献^[14], 土茯苓经60%乙醇提取, 提取液回收乙醇后加入 β -环糊精-淀粉树脂吸附, 然后用50%乙醇解析, 解析液除去乙醇后冷冻干燥。土茯苓总黄酮得率为2.3%, 经高效液相分析(HPLC)落新妇苷含量为48.7%, 另外还含有黄杞苷、异黄杞苷、及落新妇苷的三种异构体, 总黄酮含量为72.9%。总黄酮与 β -环糊精(β -CD)按质量比1:4混匀备用。将土茯苓总黄酮进一步通过硅胶柱层析纯化得到落新妇苷, 经HPLC分析纯度为91%, 与 β -CD按质量比1:4混匀备用。 β -CD购自江苏丰园生物技术有限公司; 总胆固醇(TC)测定试剂盒、甘油三酯(TG)测定试剂盒、葡萄糖(Glu)测定试剂盒和高密度胆固醇(HDL-C)测定试剂盒购自中生北控生物科技股份有限公司; 肉碱脂酰基转移酶(CACT)、脂肪酸 β -氧化酶(FA β O)、脂肪酸合成酶(FAS)和羟甲基戊二酰辅酶A还原酶(HMG-CoAR)等测定试剂盒购自上海索莱宝生物科技有限公司; 超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽

过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)和碱性磷酸酶(AKP)等测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.2 实验动物及饲料

4周龄ICR系雌性小鼠购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 实验动物生产许可证号为SCXK(湘)2011-0003, 动物批号为NO.43004700002 218。基础饲料购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 主要成分为: 粗蛋白20.86%、粗脂肪5.11%、粗纤维5.04%、水分7.8%、钙1.56%、磷0.72%和无氮浸出物50.49%。高脂饲料委托湖南斯莱克景达实验动物有限公司代加工, 配料为75%基础饲料+15%的猪油+10%的白砂糖, 在-20℃冰箱内保存。

1.3 动物分组

经适应性饲养1周后, 80只ICR小鼠随机分成8组, 其中I组为基础对照组, 喂食基础饲料和饮用蒸馏水; 另外7组均喂食高脂饲料, 其中II组为高脂对照组, 饮用蒸馏水; 分别在III、IV和V组小鼠饮用水中添加1 mg/mL、2 mg/mL和4 mg/mL落新妇苷; 在VI、VII和VIII组小鼠饮用水中添加1 mg/mL、2 mg/mL和4 mg/mL土茯苓总黄酮。动物饲养期间自由饮水及进食, 每两天更换一次饮用水和饲料。动物房温度为(23±2)℃, 相对湿度为(55±5)%, 光照时间为12 h/d。实验周期为8周, 每周称小鼠体重一次, 监测小鼠摄食量和饮水量3次。

实验结束后小鼠先禁食12 h, 期间正常饮水。小鼠经氯仿麻醉后解剖, 迅速从心脏采血约1 mL, 经3000 r/min离心15 min后, 取上层血清分成4份并放于-80℃冰箱内保存。采集小鼠脾、肾脏、肝脏及腹腔脂肪并称重。肝脏经生理盐水冲洗分成4份并迅速放入-80℃冰箱内保存。

1.4 小鼠血清中生化指标测定

小鼠血清中TG含量测定采用甘油磷酸氧化酶-过氧化物酶偶联法, TC采用胆固醇氧化酶-过氧化物酶偶联法、Glu采用葡萄糖氧化酶法、HDL-C采用直接清除法, 均严格按试剂盒说明书方法进行操作。小鼠血清中碱性磷酸酶(AKP)、谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)活性测定均采用比色法, 严格按照相关试剂盒说明书方法操作。

1.5 小鼠肝组织中相关酶活性测定

取一份-80 °C保存的肝脏,称重后按每3 g 肝脏加入20 mL 匀浆缓冲液(3 mM Tris/HCl, pH 7.2; 1 mM EDTA; 1 mM Dithiothreitol; 25 μM ALLN; 100 μM AEBSF; 100 μM Leupeptin; 0.25 M 蔗糖),并在冰上进行低温匀浆。肝组织匀浆用冷冻离心机 4000 r/min 离心 5 min 后取上清液。CACT、FAβO、FAS、ACAT 和 HMG-CoA 等酶活性均采用酶联免疫吸附法检测,严格按照相应试剂盒说明书操作。SOD、GSH-PX 和 CAT 等酶活性和 MDA 含量分别采用 WST-1 法、化学比色法、硝酸还原酶比色法和硫代巴比妥酸法测定,严格按照相应试剂盒说明书操作。

1.6 数据处理与分析

使用 Origin 8.0 统计软件和 Excel 2007 进行数据作图和方差分析,以平均值±标准误($\bar{x} \pm SE$)表示。采用 one-way ANOVA 检验进行多样本均数间的比较,与对照组相比, $p < 0.05$ 表示具有统计学上显著性差异, $p > 0.05$ 表示差异不显著。

2 结果与分析

2.1 土茯苓黄酮对小鼠体重的影响

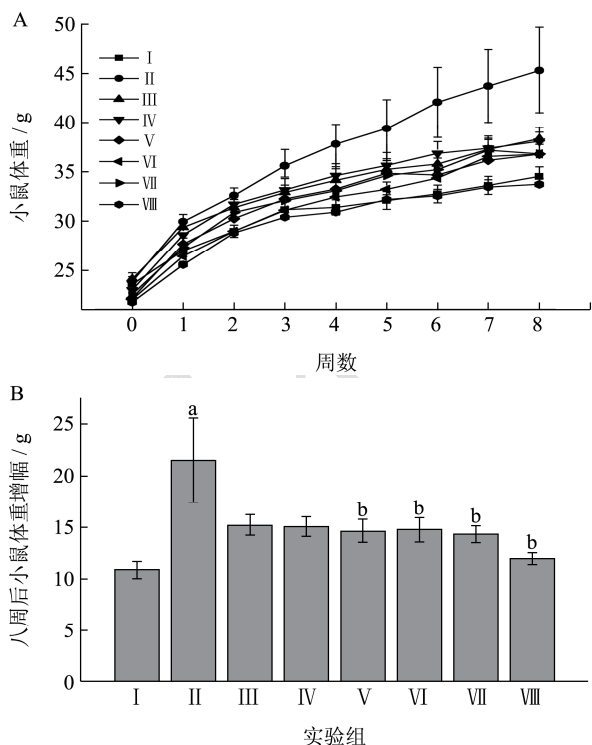


图1 土茯苓黄酮对小鼠体重增长(A)及8周后体重增幅(B)的影响

Fig.1 Effects of RSG flavonoids on mouse growth (A) and bodyweight gain after eight weeks (B)

注: 字母 a 表示与 I 组有显著差异($p < 0.05$); b 表示与 II 组有

显著差异($p < 0.05$)。I 代表基础对照组; II 代表高脂对照组; III、IV 和 V 组分别添加了 1、2 和 4 mg/mL 落新妇苷; VI、VII 和 VIII 组分别添加了 1、2 和 4 mg/mL 土茯苓总黄酮。

小鼠经适应性饲养后,随机分为 8 组,各组小鼠平均体重均为 23 g 左右,各组间无显著差异。实验期间各组小鼠体重均持续增加,在前两周,各组小鼠体重均未表现显著差异(图 1)。从第 3 周起,高脂对照组小鼠(II 组)体重明显重于基础对照组($p < 0.05$),说明实验使用的高脂饲料能够加快小鼠体重增加,导致小鼠肥胖。与 II 组相比,给予土茯苓黄酮的各组小鼠的体重增长趋势明显减缓。从第 5 周起,喂食落新妇苷高剂量组和土茯苓总黄酮低、中和高剂量组小鼠的平均体重均显著低于高脂对照组($p < 0.05$)。图 1B 为饲养 8 周后各组小鼠的体重增幅。高脂对照组小鼠体重平均增幅为 21.4 g,显著高于基础对照组的 10.9 g。给予不同剂量土茯苓总黄酮和落新妇苷的各组小鼠体重增幅介于 11.9 g 和 15.2 g 之间,其中 V、VI、VII、VIII 组和 II 组差异显著($p < 0.05$)。这些结果说明土茯苓总黄酮和主要成分落新妇苷对小鼠体重的增长有抑制效果。HPLC 分析结果表明土茯苓总黄酮中,除主要含有落新妇苷外,还含有落新妇苷异构体、花旗松素、黄杞苷和异黄杞苷等黄酮成分。土茯苓总黄酮抑制小鼠体重增长效果强于落新妇苷单一组分,可能各黄酮成分间有协同作用。

2.2 土茯苓黄酮对小鼠摄食量和饮水量的影响

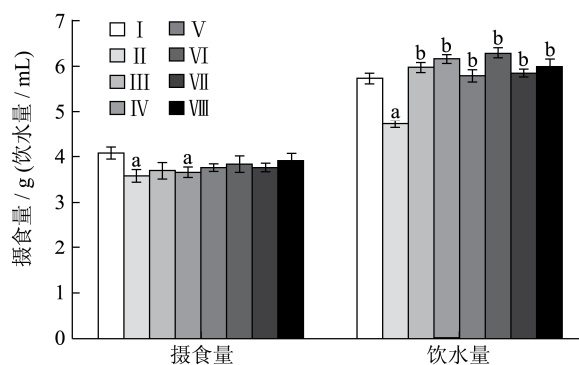


图2 土茯苓黄酮对小鼠摄食量和饮水量的影响

Fig.2 Effects of RSG flavonoids on mice food and water intake

注: 字母 a 表示与 I 组有显著差异($p < 0.05$); b 表示与 II 组有显著差异($p < 0.05$)。I 代表基础对照组; II 代表高脂对照组; III、IV 和 V 组分别添加了 1、2 和 4 mg/mL 落新妇苷; VI、VII 和 VIII 组分别添加了 1、2 和 4 mg/mL 土茯苓总黄酮。

实验期间,对每组小鼠每天的摄食量和饮水量进行监测。图 2 为第五周时各组小鼠的摄食量和饮水量

统计结果。实验发现与基础对照组相比，高脂对照组的摄食量和饮水量显著减少，这可能与饲料中含油量太高，小鼠不爱进食有关。在小鼠饮用水中添加不同剂量土茯苓总黄酮或落新妇苷，与高脂对照组相比，小鼠的饮水量显著增加($p<0.05$)，达到基础对照组水平；同时，摄食量也有一定程度的增加，但无显著差异。实验结果说明土茯苓总黄酮和落新妇苷不会减少小鼠摄食量和饮水量。

2.3 土茯苓黄酮对小鼠脏器重量的影响

脏器状态能够间接反应小鼠的生理状况。实验结束后将各组小鼠进行解剖，并观察小鼠体内各脏器形态和颜色，给予土茯苓黄酮的各组与基础组相比均未发现任何异常。如表 1 所示，喂食高脂饲料各组小鼠的肝脏系数均比基础组更大，说明长期的高脂饮食可导致脂质在肝脏中累积，其中VI组和I组间存在显著差异($p<0.05$)；但同样喂食高脂饲料的其余 7 组 (II至VIII组) 间无显著差异。从肾脏和脾脏重量来看，8 个实验组间均无差异($p>0.05$)。实验结果初步说明土茯苓总黄酮和落新妇苷不会影响小鼠脏器重量和形态，应该没有毒副作用。

表 1 土茯苓黄酮对小鼠主要脏器和脂肪系数的影响

Table 1 Effects of RSG flavonoids on the indices of mouse liver, kidney, spleen, and intraperitoneal adipose tissue

| 组别 | n | 肝脏系数/% | 肾脏系数/% | 脾脏系数/% | 脂肪系数/% |
|------|----|------------------------|-----------|-----------|------------------------|
| I | 10 | 3.78±0.12 | 1.12±0.04 | 0.33±0.02 | 2.56±0.53 |
| II | 10 | 4.19±0.55 | 0.98±0.07 | 0.33±0.03 | 10.65±4.7 ^a |
| III | 10 | 3.96±0.23 | 1.17±0.06 | 0.39±0.04 | 3.56±0.62 ^b |
| IV | 10 | 4.57±0.10 | 1.14±0.03 | 0.41±0.03 | 5.70±0.62 ^b |
| V | 10 | 4.56±0.76 | 1.08±0.07 | 0.38±0.02 | 4.54±0.20 ^b |
| VI | 10 | 5.15±0.95 ^a | 1.10±0.05 | 0.35±0.02 | 4.27±0.14 ^b |
| VII | 10 | 5.02±0.51 | 1.02±0.04 | 0.33±0.02 | 4.63±0.41 ^b |
| VIII | 10 | 3.93±0.18 | 0.99±0.05 | 0.33±0.01 | 4.40±0.22 ^b |

注：系数=(脏器或脂肪重量/动物体重×100%)；字母 a 表示与I组有显著差异($p<0.05$)；b 表示与II组有显著差异($p<0.05$)。I 代表基础对照组；II代表高脂对照组；III、IV和V组分别添加了 1、2 和 4 mg/mL 落新妇苷；VI、VII和VIII组分别添加了 1、2 和 4 mg/mL 土茯苓总黄酮。

2.4 土茯苓黄酮对小鼠体内脂肪积累的影响

小鼠体内总脂肪重量和脂肪系数是反映其肥胖程度的一个重要指标。基础对照组小鼠腹腔内脂肪平均重量为 0.91g，而高脂对照组小鼠腹腔内脂肪平均重量为 4.25 g，高脂饲料可以显著增加小鼠腹腔脂肪重量和脂肪系数($p<0.05$)；与高脂对照组相比，给予不同剂

量的土茯苓总黄酮和落新妇苷均可显著减少小鼠腹腔脂肪重量 (介于 1.40 g~2.21 g) 和脂肪系数($p<0.05$, 表 1)。说明落新妇苷和土茯苓总黄酮可以有效地减少小鼠由于高脂饮食而引起的体内脂肪堆积，从而减少体重增长。

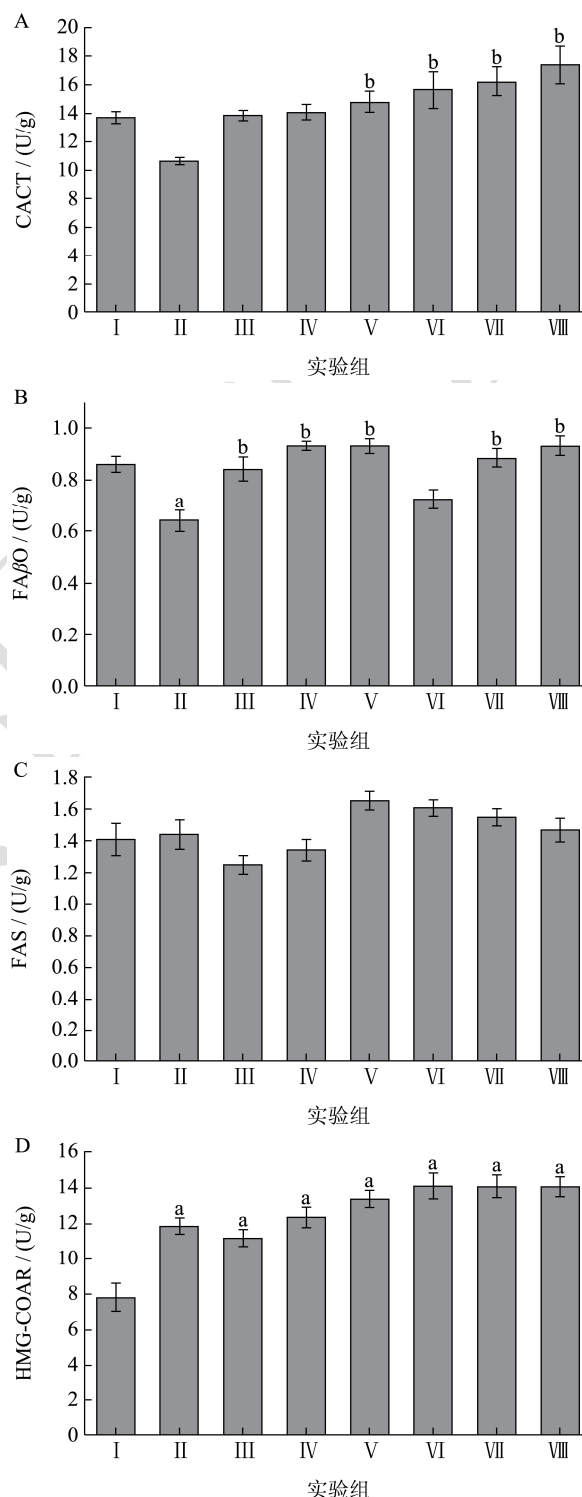


图 3 土茯苓黄酮对肝脏中 CACT (A)、FA β0 (B)、FAS (C) 及 HMG-CoAR (D) 活性的影响

Fig.3 Effects of RSG flavonoids on the activity of CACT (A), FA β0 (B), FAS (C) and HMG-CoAR (D) in mouse liver

注: 字母 a 表示与 I 组有显著差异($p < 0.05$); b 表示与 II 组有显著差异($p < 0.05$)。I 代表基础对照组; II 代表高脂对照组; III、IV 和 V 组分别添加了 1、2 和 4 mg/mL 落新妇苷; VI、VII 和 VIII 组分别添加了 1、2 和 4 mg/mL 土茯苓总黄酮。

2.5 土茯苓黄酮对小鼠血清中指标的影响

血清中总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)含量是反映高脂血症的重要指标。与基础对照组相比, 高脂对照组小鼠血清中 TC 和 TG 含量均显著升高, 说明本实验成功建立了高血脂小鼠模型(表 2)。与高脂对照组相比, 喂食土茯苓黄酮可降低血清中 TC 和 TG 含量, 其中 III、V、VII 和 VIII 组 TG 含量和 II 组有显著差异($p < 0.05$)。土茯苓总黄酮的降血清 TG 效果强于落新妇苷单一组分。各组小鼠血清中葡萄糖(Glu)指标都无显著性差异($p > 0.05$)。各组小鼠血清中 HDL-C 水平和动脉粥样硬化指数(AI)都无显著性差异, 但从表 2 可知, 高脂对照组小鼠 AI 值比其他各组的都大, 说明落新妇苷和土茯苓总黄酮在一定程度上可以预防动脉粥样硬化的发生。

表 2 土茯苓黄酮对小鼠血清中 TC、TG、Glu 和 HDL-C 含量影响

Table 2 Effects of RSG flavonoids on the levels of TC, TG, Glu, and HDL-C in mouse serum

| 组别 | 血清指标 | | | | AI |
|------|------------------------|------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | TC | TG | Glu | HDL-C | |
| I | 2.03±0.09 | 2.40±0.19 | 4.07±0.35 | 1.91±0.20 | 0.06±0.01 |
| II | 3.46±0.34 ^a | 3.92±0.28 ^a | 4.66±0.43 | 2.56±0.29 | 0.35±0.08 |
| III | 3.16±0.17 ^a | 2.89±0.20 ^b | 6.35±1.00 | 2.57±0.21 | 0.23±0.09 |
| IV | 3.15±0.20 ^a | 3.07±0.23 | 5.76±0.73 | 2.60±0.23 | 0.21±0.10 |
| V | 2.47±0.18 | 2.38±0.17 ^b | 6.44±0.67 | 1.94±0.22 | 0.12±0.02 |
| VI | 2.56±0.17 | 3.15±0.23 | 6.06±0.67 | 2.07±0.21 | 0.24±0.03 |
| VII | 2.56±0.17 | 2.65±0.24 ^b | 6.46±0.56 | 2.29±0.29 | 0.12±0.01 |
| VIII | 2.64±0.24 | 2.67±0.24 ^b | 4.32±0.52 | 2.41±0.29 | 0.10±0.01 |

注: 动脉粥样硬化指数(AI=(TC-HDL-C)/HDL-C); 字母 a 表示与 I 组有显著差异($p < 0.05$); b 表示与 II 组有显著差异($p < 0.05$)。I 代表基础对照组; II 代表高脂对照组; III、IV 和 V 组分别添加了 1、2 和 4 mg/mL 落新妇苷; VI、VII 和 VIII 组分别添加了 1、2 和 4 mg/mL 土茯苓总黄酮。

2.6 土茯苓黄酮对小鼠肝脏中脂肪酸及胆固醇代谢相关酶活性影响

图 3 为各实验组间三种脂肪酸代谢相关酶肉毒碱脂酰基转移酶(CACT)、脂肪酸 β -氧化酶(FA β O)和脂肪酸合成酶(FAS)活性的比较结果。CACT 和 FA β O 是脂肪酸在体内氧化分解代谢的关键酶。图 3A 表明,

与基础对照组相比, 高脂对照组肝脏中 CACT 活性减小, 但无显著差异($p > 0.05$); 与高脂对照组相比, 落新妇苷高剂量组(V 组)和土茯苓总黄酮各剂量组(VI、VII、VIII 组) CACT 活性均显著增加($p < 0.05$), 而落新妇苷低、中剂量组则无统计学差异($p > 0.05$)。FA β O 活性比较结果与 CACT 类似(图 3B)。与基础对照组相比, 高脂对照组小鼠肝脏中 FA β O 活性显著减小($p < 0.05$); 与高脂对照组相比, 落新妇苷各剂量组和土茯苓总黄酮中、高剂量组 FA β O 活性均显著增加($p < 0.05$)。实验结果说明土茯苓总黄酮及落新妇苷可以通过诱导增加脂肪分解代谢相关酶活性促进脂肪分解, 从而减少体内脂肪的累积。与促进脂肪酸氧化酶活性不同, 各实验组之间 FAS 活性均无显著差异($p > 0.05$, 图 3C), 说明落新妇苷和土茯苓总黄酮对小鼠肝脏中脂肪酸的合成无显著影响。

羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMG-CoAR)是胆固醇合成过程中的限速酶, 抑制其活性可以减少内源性 TC 的生成。图 3D 表明与基础对照组相比, 各喂食高脂饲料组小鼠肝脏中的 HMG-CoAR 活性均显著升高($p < 0.05$); 但与高脂对照组相比, 落新妇苷和土茯苓总黄酮各剂量组都无统计学差异($p < 0.05$)。实验结果说明土茯苓总黄酮和落新妇苷对小鼠体内胆固醇合成关键酶 HMG-CoAR 活性无显著影响, 这与表 2 反映的土茯苓黄酮对小鼠血清中 TC 水平无显著影响一致。

许多同类研究表明植物活性成分的降脂减肥作用与其影响肝脏中脂肪及胆固醇代谢关键酶活性有很强的相关性^[15]。如狗枣猕猴桃叶中黄酮成分可显著降低高脂小鼠血清中甘油三酯、总胆固醇、低密度载脂蛋白等指标, 这种降脂作用与其降低肝脏中磷脂水解酶及 HMG-CoA 活性相关^[16]。桑叶水提物中主要含芦丁、绿原酸等多酚成分, 可提高仓鼠肝脏中过氧化物增殖剂活化受体 α (PPAR α)及 CAT 活性, 降低 FAS 及 HMG-CoA 活性, 从而抑制脂肪合成和加快脂肪分解, 表现抗肥胖作用^[17]。

2.7 对小鼠体内抗氧化体系的影响

许多研究表明, 高血脂等脂质代谢紊乱的形成与机体氧化应激损伤和自由基代谢失调有关^[18]。图 4 为各实验组小鼠肝脏中抗氧化相关指标的比较结果。图 4A 表明与基础对照组相比, 喂食高脂饲料的各组小鼠肝脏中 MDA 含量均有升高趋势, 其中 II 和 III 组有显著差异($p < 0.05$)。MDA 是体内脂质过氧化的分解产物, 具有细胞毒性, 其含量的多少能直接反映体内脂质氧化反应的程度。实验结果说明长期进食高脂食物, 会增加体内脂肪氧化水平。喂食落新妇苷和土茯苓总

黄酮可降低小鼠肝脏中的MDA含量，且随着剂量增加，下降幅度增大。其中高剂量的V组和VIII组与高脂对照组有显著差异($p < 0.05$)，其它剂量组则呈下降趋势，但无显著差异($p > 0.05$)。

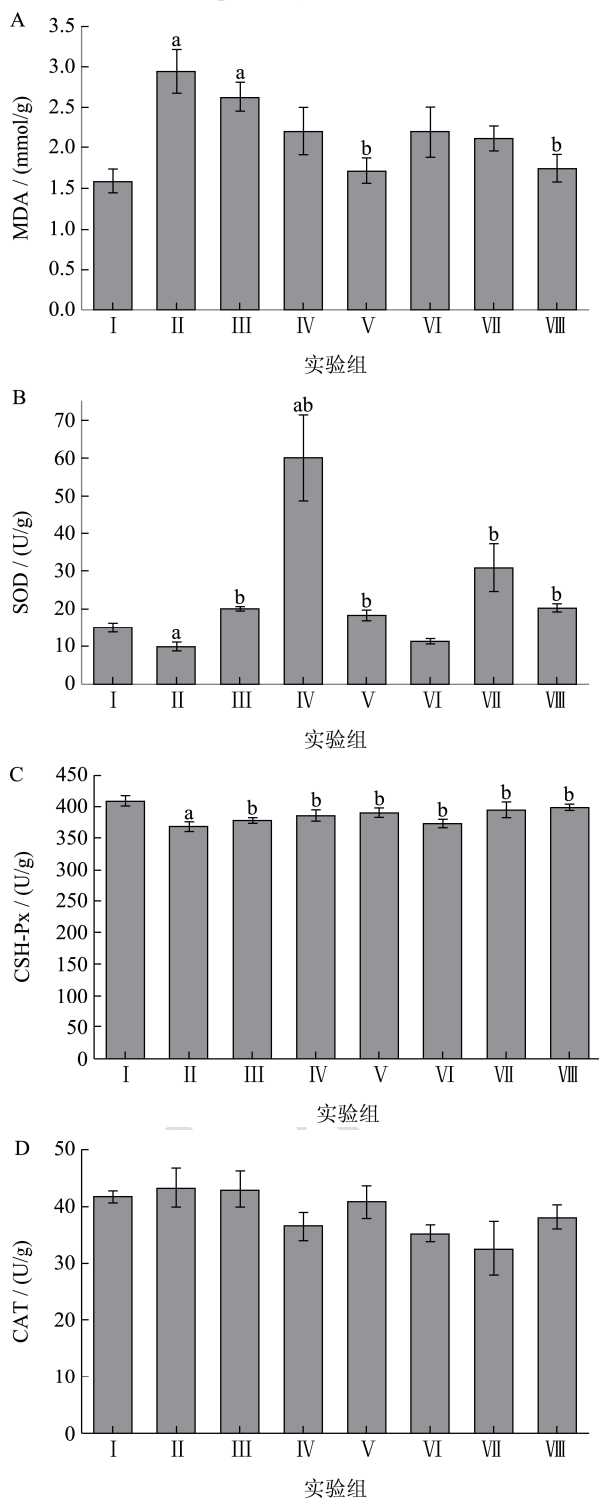


图4 土茯苓黄酮对肝脏中MDA(A)含量及SOD(B), GSH-Px(C), CAT(D)活性的影响

Fig.4 Effects of RSG flavonoids on the content of MDA(A), activity of SOD(B), GSH-Px(C) and CAT(D) in mouse liver

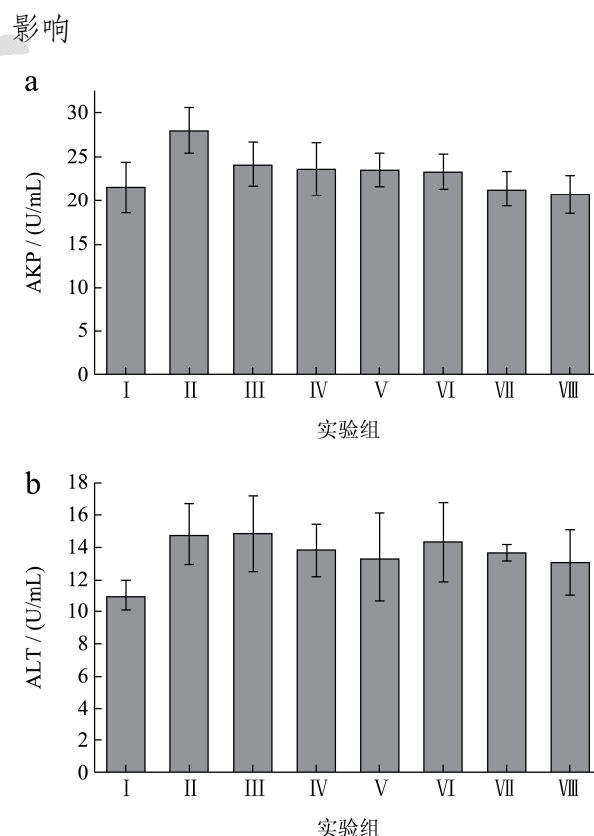
注: 字母 a 表示与I组有显著差异($p < 0.05$); b 表示与II组有

显著差异($p < 0.05$)。I代表基础对照组; II代表高脂对照组; III、IV和V组分别添加了1、2和4 mg/mL 落新妇苷; VI、VII和VIII组分别添加了1、2和4 mg/mL 土茯苓总黄酮。

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)是机体主要的抗氧化酶。与基础对照组相比，高脂对照组小鼠肝脏中 SOD 活性显著减小($p < 0.05$)。喂食落新妇苷和土茯苓总黄酮可增加 SOD 活性。与高脂对照组相比，除总黄酮低剂量组外，其余各剂量的落新妇苷和土茯苓总黄酮均显著增加小鼠肝脏中 SOD 活性($p < 0.05$)。与 SOD 活性类似，与基础对照组相比，高脂对照组小鼠肝脏中 GSH-Px 活性显著减小($p < 0.05$)；与高脂对照组相比，各剂量的落新妇苷和土茯苓总黄酮均可显著增加 GSH-Px 活性($p < 0.05$)。但图 3D 反映各实验组小鼠肝脏中 CAT 活性都无显著性差异($p > 0.05$)。

实验结果说明进食土茯苓总黄酮及落新妇苷可诱导提高小鼠体内 SOD 和 GSH-Px 等抗氧化酶活性水平，降低脂质过氧化产物 MDA 生成量，从而体高小鼠体内的抗氧化能力，减少自由基的毒副作用和降低其造成的损伤关。许多多酚类物质通过提升机体抗氧化酶活性，从而改善高脂膳食引起的肥胖和高血脂症 [19,20]。

2.8 土茯苓黄酮对小鼠肝功能相关酶活性的影响



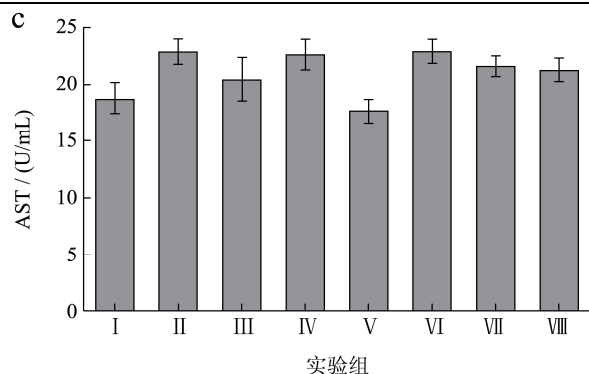


图5 土茯苓黄酮对小鼠血清中 AKP (a)、ALT (b) 和 AST (c) 活性的影响

Fig.5 Effects of RSG flavonoids on the activity of AKP (A), ALT (B) and AST (C) in mouse serum

注: I代表基础对照组; II代表高脂对照组; III、IV和V组分别添加了1、2和4 mg/mL 落新妇苷; VI、VII和VIII组分别添加了1、2和4 mg/mL 土茯苓总黄酮。

肝脏是机体重要的生物转化场所和最大的解毒器官,血清中谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)活力可间接反映肝细胞的受损程度;另外碱性磷酸酶(AKP)也是反映肝功能的重要指标。图5的实验结果表明,与基础对照组相比,喂食高脂饲料的各组小鼠血清中 AKP、ALT 和 AST 活性均有一定程度增加,但都无显著性差异 ($p>0.05$)。与高脂对照组相比,给予土茯苓总黄酮和落新妇苷组可降低小鼠血清中 AKP、ALT 和 AST 活性,并有剂量依赖性,但都无显著性差异 ($p>0.05$)。实验结果说明土茯苓总黄酮和落新妇苷至少对肝脏无损伤作用。

3 结论

3.1 与高脂对照组相比,喂食土茯苓总黄酮及其主要成分落新妇苷对小鼠摄食量和饮水量,血清中 AKP、ALT 和 AST 活性均无显著影响,也不影响肝脏、肾脏、脾脏等主要器官系数,说明土茯苓黄酮无毒副作用。

3.2 喂食土茯苓总黄酮及落新妇苷能显著降低小鼠体重增幅及腹腔脂肪重量;显著降低小鼠血清中 TG 含量,并且土茯苓总黄酮效果强于落新妇苷单体。说明土茯苓黄酮具有一定的调节脂肪代谢作用,并且各黄酮成分间可能有协同作用。

3.3 土茯苓黄酮能显著增加小鼠肝脏中肉碱脂酰基转移酶(CACT)和脂肪酸 β -氧化酶(FA β O)活性,但对脂肪酸合成酶(FAS)和羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMG-CoAR)活性无明显影响,说明土茯苓黄酮通过促进脂肪酸的分解而减少体内脂肪的累积,但对脂肪酸和胆固醇的合成无明显影响。

3.4 土茯苓黄酮能显著增加高脂饮食小鼠肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,减少脂质过氧化产物丙二醛(MDA)的含量,说明土茯苓黄酮具有体内抗氧化活性。

参考文献

- [1] Yan S, Li J, Li S, et al. The expanding burden of cardiometabolic risk in China: the China health and nutrition survey [J]. *Obesity Reviews*, 2012, 13(9): 810-821
- [2] 陈玉琼. 藤茶中黄酮、二氢杨梅素的提取分离、降血脂作用及藤茶安全评价的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007
CHEN Yu-qiong. Study on extraction, isolation and hypolipidemic effects of flavones and dihydromyricetin from Tengcha and safety assessments of Tengcha [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007
- [3] 李国莉, 赵伟明, 杨建军, 等. 大豆异黄酮降血脂作用的研究[J]. *食品科学*, 2006, 27(10): 528-531
LI Guo-li, ZHAO Wei-ming, YANG Jian-jun, et al. Effects of soy isoflavones on hyperlipidemia rats [J]. *Food Science*, 2006, 27(10): 528-531
- [4] 张清峰, 张汉扬, 上官新晨, 等. 高效液相法同时测定土茯苓中五种多酚成分[J]. *现代食品科技*, 2013, 29(9): 2275-2278
ZHANG Qing-feng, CHEN Han-yang, SHANGGUAN Xin-chen, et al. Quantitative analysis of five polyphenols in *Rhizoma smilacis glabrae* by HPLC [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29(9): 2275-2278
- [5] Zhang Q F, Li S C, Lai W P, et al. β -Cyclodextrin facilitates simultaneous analysis of six bioactive components in *Rhizoma smilacis glabrae* by capillary zone electrophoresis [J]. *Food Chemistry*, 2009, 113(2): 684-691
- [6] Zhang Q F, Cheung H Y, Zeng L B. Development of HPLC fingerprint for species differentiation and quality assessment of *Rhizoma smilacis glabrae* [J]. *Jouranal of Natural Medicines*, 2013, 67(1): 207-211
- [7] Zhang Q F, Zhang Z R, Cheung H Y. Antioxidant activity of *Rhizoma smilacis glabrae* extracts and its key constituent-astilbin [J]. *Food Chemistry*, 2009, 115(1): 297-303
- [8] Sa F, Gao J L, Fung K P, et al. Anti-proliferative and pro-apoptotic effect of *Smilax glabra roxb.* extract on hepatoma cell lines [J]. *Chemico-biological Interaction*, 2008, 171(1): 1-14
- [9] Fukunaga T, Miura T, Furuta, K, et al. Hypoglycemic effect of the rhizomes of *Smilax glabra* in normal and diabetic mice [J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 1997, 20(1): 44-46

- [10] Motoyashiki T, Miyake M, Morita T, et al. Enhancement of the vanadate-stimulated release of lipoprotein lipase activity by astilbin from the leaves of *Engelhardtia chrysolepis* [J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 1998, 21(5): 517-519
- [11] Chen T H, Liu J C, Chang J J, et al. The *in vitro* inhibitory effect of flavonoid astilbin on 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase on Vero cells [J]. Chinese Medical Journal (Taipei), 2001, 64(7): 382-387
- [12] Theriault A, Wang Q, Van Iderstine S C, et al. Modulation of hepatic lipoprotein synthesis and secretion by taxifolin, a plant flavonoid [J]. Journal of Lipid Research, 2000, 41(12): 1969-1979
- [13] Casaschi A, Rubio B K, Maiyoh, G K, et al. Inhibitory activity of diacylglycerol acyltransferase (DGAT) and microsomal triglyceride transfer protein (MTP) by the flavonoid, taxifolin, in HepG2 cells: Potential role in the regulation of apolipoprotein B secretion [J]. Atherosclerosis, 2004, 176(2): 247-253
- [14] 张清峰,陈继光,上官新晨,等. β -环糊精-淀粉树脂分离纯化土茯苓中的总黄酮,现代食品科技[J].2013,29(11):2717-2721
ZHANG Qing-feng, CHEN Ji-guang, SHANGGUAN Xin-chen, et al. Separation and purification of flavonoids from rhizoma smilacis glabrae by β -cyclodextrin-starch resin polymer [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(11): 2717-2721
- [15] Yang M Y, Peng C H, Chan K C, et al. The hypolipidemic effect of hibiscus sabdariffa polyphenols via inhibiting lipogenesis and promoting hepatic lipid clearance [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(2): 850-859
- [16] Zhao X Z, Li X W, Jin Y R, et al. Hypolipidemic effects of by a high-fat diet [J]. Molecular Medicine Reports, 2012, 5(3): 837-841
- [17] Peng C H, Liu L K, Chuang C M, et al. Mulberry water extracts possess an anti-obesity effect and ability to inhibit hepatic lipogenesis and promote lipolysis [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(6): 2663-2671
- [18] Lee C Y. The effect of high-fat diet-induced pathophysiological changes in the gut on obesity: What should be the ideal treatment? [J]. Clinical and Translational Gastroenterology, 2013, 4(7): e39
- [19] Feng L J, Yu C H, Ying K J, et al. Hypolipidemic and antioxidant effects of total flavonoids of *Perilla Frutescens* leaves in hyperlipidemia rats induced by high-fat diet [J]. Food Research International, 2011, 44(1): 404-409
- [20] Oben J E, Enyegue D M, Fomekong G I, et al. The effect of *Cissus quadrangularis* (CQR-300) and a Cissus formulation (CORE) on obesity and obesity-induced oxidative stress [J]. Lipids in Health and Disease, 2007, 6(1): 4-11