

桑叶生物碱对高脂饮食小鼠的抗氧化作用

郝麒麟¹, 彭晓蝶¹, 杨敏¹, 丁晓雯¹, 黄先智²

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400716) (2. 西南大学科技处, 重庆 400716)

摘要: 本文旨在研究桑叶生物碱对高脂饮食小鼠抗氧化能力的影响。以含桑叶生物碱剂量分别为 20、40 和 80 mg/kg 灌胃喂饲高脂饮食小鼠 4、8、12、16 周, 用试剂盒测定各组小鼠肝脏和血清中丙二醛(malondialdehyde, MDA)等指标。结果表明, 与高脂对照组小鼠相比, 以桑叶生物碱剂量为 80 mg/kg 灌胃小鼠 16 周, 小鼠肝脏中 MDA 含量减少 43.63%, 血清中的减少 50.91%; 肝脏中总抗氧化能力(total antioxidant capability, T-AOC)、还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量分别增加 2.36 倍、2.69 倍, 血清中的分别增加 2.25 倍、1.59 倍; 肝脏中过氧化氢酶(catalase, CAT)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性分别增加 1.82 倍、2.22 倍、1.90 倍、1.22 倍, 血清中的分别增加 1.48 倍、2.19 倍、1.59 倍、1.44 倍。结论, 桑叶生物碱对高脂饮食小鼠具有较强的抗氧化作用。

关键词: 桑叶; 生物碱; 高脂小鼠; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2019)06-39-47

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.6.006

Antioxidant Activity of Mulberry Alkaloid in Mice on High-fat Diet

HAO Qi-lin¹, PENG Xiao-die¹, YANG Min¹, DING Xiao-wen¹, HUANG Xian-zhi²

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China)

(2. Department of Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: To study the antioxidant capacity of mulberry alkaloid in mice on high fat-diet, the mice on high fat-diet were fed with alkaloid at different concentrations (20, 40, 80 mg/kg) by gastric gavage for 4, 8, 12, 16 weeks respectively, the content of malondialdehyde (MDA) and other indicators in liver and serum of the mice on high fat-diet were assessed by kit. The results showed that in the mice fed with a dose of 80 mg/kg by gastric gavage for 16 weeks, the content of MDA in liver decreased by 43.63% and in serum decreased by 50.91%, compared with the hyperlipidemic control group. The contents of T-AOC and GSH in liver were increased by 2.36 and 2.69 times respectively, and the contents in serum increased by 2.25 and 1.59 times respectively. The activity of glutathione (GSH), catalase (CAT), peroxidase (POD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and superoxide dismutase(SOD) in liver increased by 1.82, 2.22, 1.90 and 1.22 times, and the activity in serum increased by 1.48, 2.19, 1.59 and 1.44 times, respectively. In conclusion, the alkaloids of mulberry leaves have strong antioxidant effects on high-fat diet mice.

Key words: mulberry; alkaloid; high-fat mice; antioxidation

当今经济、社会的快速发展,影响着人们的生活方式和日常饮食习惯,高能量、高脂肪、低膳食纤维食物摄入增加,从而导致全球肥胖率逐年上升,II型糖尿病、高血压、高血脂、心脏病等非传染性疾病的患病几率也逐年增加^[1]。过多的高脂饮食摄入会致使体内能量过剩,造成脂肪堆积异常,引起细胞损伤、

收稿日期: 2019-01-15

基金项目: 重庆市科委社会民生重点项目 (CSTS2017shms-zdyfx0054); 公益性行业(农业)科研专项(201403049); 国家现代农业(桑蚕)产业技术体系建设专项(CARS-18)

作者简介: 郝麒麟(1995-),男,硕士研究生,研究方向: 食品安全与功能食品

通讯作者: 黄先智(1965-),男,博士,副研究员,研究方向: 蚕桑资源利用

发生氧化应激等^[2]。体内过多的脂肪组织将会导致脂肪细胞因子调节异常,影响机体正常代谢,继而引发和产生过量的自由基^[3]。机体发生的脂质过氧化、蛋白质氧化等大分子功能异常以及一系列疾病的产生都与机体内过量的自由基有着密切关系^[4,5]。

桑叶为桑科植物桑的叶,又名神仙草、铁扇子等,收录于《中国药典》,是一种“药食同源”植物,距今已有 4000 多年的栽培历史,其资源丰富,在我国主要栽培于江浙、川渝等地。研究发现,桑叶含有生物碱类、多糖类、黄酮类化合物等多种活性物质,具有抗衰老、抗菌、抗肿瘤、降血糖血脂、护肝、缓解慢性炎症等功效。目前,有关桑叶生物碱的研究热点主要在提取方法、成分分析、降血糖血脂等方面^[6-8],关于桑叶生物碱对高脂饮食引起的氧化应激作用未见报

道,有研究发现生物碱对高血糖引起的肝脏损伤具有一定保护作用^[9],推测其机理可能与氧化应激作用相关。因此,本文通过研究桑叶生物碱对高脂饮食小鼠血清和肝脏中相关氧化指标的影响,探讨桑叶生物碱对高脂饮食引起的氧化应激作用,为开发桑叶健康食品提供参考依据及思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

桑叶粉,重庆市畜牧科学院蚕研所提供,55℃烘干,粉碎,常温保存备用。

200只4周龄昆明种清洁级雄性小鼠,体重(20±2)g,购于重庆市中药研究院[许可证号SCXK(渝)2012-0006]。

基础饲料,购于重庆滕鑫比尔实验动物有限公司;高脂饲料由实验室自制,配方^[10]:基础饲料78.9%、胆固醇1%、胆酸钠0.1%、蛋黄粉10%、猪油10%。

1.2 试验试剂

MDA试剂盒、CAT试剂盒、POD试剂盒、T-AOC试剂盒、SOD试剂盒、GSH试剂盒、GSH-Px试剂盒均购于南京建成生物工程研究所;其他试剂均为生化试剂或分析纯试剂。

1.3 试验仪器

M680型酶标仪,美国基因公司;5880型冷冻离心机,德国Eppendorf;DUP-9082恒温培养箱,上海齐欣实验器材有限公司;DW-HL438超低温冰箱,合肥美菱股份有限公司;ALPAAI-4LSC高速离心机,德国Chirst公司;KQ5200DB超声波清洗机,昆山市超声仪器有限公司;XW-80A微型涡旋混合仪,上海精科实业有限公司;752型紫外可见分光光度计,上海菁华科技仪器有限公司。

1.4 试验方法

1.4.1 桑叶生物碱的制备

称取桑叶粉于烧杯中,按料液比1:30加入去离子水,在超声波清洗机中提取1h(60℃、600W),重复提取2次,过滤,合并滤液,减压浓缩,再将浓缩液以2.1BV/h过D101大孔树脂,再以2.5BV/h过732型阳离子树脂吸附,用蒸馏水洗至pH为7,再用0.5mol/L氨水洗脱液以2.1BV/h过AB-8大孔树脂,冷冻干燥处理得到样品^[11]。采用硅钨酸沉淀法测得样品中总生物碱含量为(72.34±2.36)%。

1.4.2 动物分组及饲养

200只雄性小鼠适应性饲养一周,随机分成五组:正常对照组、高脂对照组、桑叶生物碱低、中、高剂量组。正常对照组喂饲基础饲料,高脂对照组喂饲高脂饲料,3个剂量组喂饲高脂饲料,同时灌胃桑叶生物碱。按照预实验的结果,确定桑叶生物碱低、中、高剂量组分别按生物碱剂量为20、40和80mg/kg灌胃,其他两组则予以等量生理盐水,1次/天。小鼠按每5只/笼分别喂养4、8、12和16周。饲养室内控制温度22~25℃,相对湿度40%~60%,12h明暗轮换(AM9:00~PM21:00)。

1.4.3 试样采集

实验小鼠分别灌胃4、8、12和16周,禁食不禁水12h,眼球取血于含有肝素钠的真空取血管中,将取得的血样于冷冻离心机中4000r/min离心15min后取上清液得血清,-80℃保存待用。

将取血后的小鼠脱颈处死,打开腹腔、胸腔,摘取肝脏,用4℃生理盐水清洗表面的血水,用吸水纸擦干表面水分,称重后于-80℃保存备用。称取保存的肝脏0.2g,加入1.8mL4℃的生理盐水制备成10%的肝匀浆,于冷冻离心机中4000r/min离心15min,取上清液,得肝匀浆清液,于-80℃超低温冰箱中保存备用。

1.4.4 小鼠肝脏和血清中相关氧化指标的测定

小鼠肝脏和血清中MDA等指标的测定均按试剂盒提供的步骤操作。

1.5 数据分析

所得结果以($\bar{X} \pm SD$)表示,采用SPSS 20.0对结果进行one-way ANOVA,差异显著水平为 $p < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 桑叶生物碱对小鼠肝脏和血清中MDA含量的影响

桑叶生物碱对高脂饮食小鼠肝脏和血清中MDA含量的影响见表1,整体来看,小鼠血清中MDA含量显著高于肝脏中的($p < 0.05$),正常对照组小鼠肝脏、血清的MDA含量在实验过程中基本保持稳定。与正常对照组比,高脂对照组小鼠肝脏的MDA含量,随着喂饲时间延长有一定增加($p < 0.05$),说明高脂饮食导致了脂质过氧化。桑叶生物碱各剂量组小鼠肝脏与血清中MDA含量随灌胃剂量的增加与时间的延长都有所下降($p < 0.05$)。与高脂对照组比较,高剂量桑叶生物

碱灌胃小鼠 16 周, 可使小鼠肝脏中 MDA 减少 43.64% ($p < 0.01$), 血清中 MDA 减少 50.91% ($p < 0.01$)。

表 1 桑叶生物碱对小鼠肝脏、血清 MDA 含量的影响

Table 1 The effect of mulberry leaves aqueous extract on the liver and serum MDA content in mice with high fat diet

组别	4 周	8 周	12 周	16 周
肝(U/mg Prot)				
正常对照组	2.27±0.24 ^β	2.24±0.19 ^β	2.21±0.20 ⁺	2.15±0.16 ⁺
高脂对照组	2.68±0.23 ^α	2.77±0.15 ^α	2.83±0.10 [*]	2.91±0.13 [*]
低剂量	2.09±0.12 ^{αβ}	1.97±0.11 ^{α+}	1.85±0.13 ^{αβ}	1.82±0.11 ^{αβ}
中剂量	2.03±0.27 ^{αβ}	1.88±0.25 ^{α+}	1.76±0.17 ^{*+}	1.79±0.19 ^{α+}
高剂量	1.82±0.52 ^{α+}	1.76±0.13 ^{α+}	1.69±0.19 ^{*+}	1.64±0.12 ^{α+}
血清(U/mL)				
正常对照组	5.09±0.41 ⁺	5.68±0.08 ^β	5.22±0.13 ^β	5.21±0.66 ⁺
高脂对照组	5.85±0.25 [*]	6.30±0.88 ^α	6.41±0.49 ^α	6.56±0.51 [*]
低剂量	5.36±0.27 ^{α+}	5.29±0.42 ^{αβ}	4.19±0.15 ^{*β}	4.17±0.31 ^{*+}
中剂量	4.83±0.46 ^{α+}	5.29±0.38 ^{αβ}	3.89±0.25 ^{*+}	3.96±0.47 ^{*+}
高剂量	4.29±0.24 ^{α+}	4.63±0.13 ^{α+}	3.83±0.12 ^{*+}	3.22±0.12 ^{*+}

注: 与正常对照相比, “α”表示 $p < 0.05$, “*”表示 $p < 0.01$; 与高脂对照组相比, “β”表示 $p < 0.05$, “+”表示 $p < 0.01$ 。后面的图表与之相同。

表 2 桑叶生物碱对高脂饮食小鼠肝脏和血清中 T-AOC 的影响

Table 2 The effect of mulberry leaves aqueous extract on the liver and serum T-AOC in mice with high fat diet

组别	4 周	8 周	12 周	16 周
肝(U/mg Prot)				
正常对照组	76.12±4.11 ^β	78.28±1.37 ^β	82.12±1.73 ^β	84.94±1.90 ^β
高脂对照组	55.43±3.74 ^α	59.56±0.66 ^α	57.14±0.82 ^α	58.89±1.19 ^α
低剂量	99.55±5.69 ^{*+}	101.81±1.63 ^{*+}	106.82±1.92 ^{*+}	110.16±2.43 ^{*+}
中剂量	106.58±6.39 ^{*+}	112.19±0.36 ^{*+}	117.13±2.22 ^{*+}	120.19±1.49 ^{*+}
高剂量	125.89±8.83 ^{*+}	131.13±3.89 ^{*+}	135.28±1.48 ^{*+}	139.27±1.77 ^{*+}
血清(U/mL)				
正常对照组	92.69±0.99 ^β	106.97±0.49 ^β	113.28±5.59 ^β	127.39±1.42 ^β
高脂对照组	76.59±0.62 ^α	83.54±0.79 ^α	97.23±0.31 ^α	97.64±1.00 ^α
低剂量	97.43±0.98 ^β	109.77±0.98 ^β	119.92±0.63 ^β	142.94±1.42 ^β
中剂量	103.27±1.05 ^β	136.37±1.12 ^β	150.47±0.65 ^β	207.49±4.10 ^β
高剂量	113.75±1.70 ^β	159.79±0.96 ^β	193.26±2.04 ^β	219.59±4.10 ^β

2.2 桑叶生物碱对小鼠肝脏和血清中 T-AOC 含量的影响

由表 2 可知, 小鼠肝脏中 T-AOC 明显低于血清的 ($p < 0.05$)。正常对照组小鼠肝脏和血清中 T-AOC 随着喂饲时间延长有一定增加但差异不显著 ($p > 0.05$)。与正常对照组相比, 高脂对照组小鼠肝脏和血清中 T-AOC 显著降低 ($p < 0.05$)。喂饲高、中、低 3 个剂量的桑叶生物碱的高脂小鼠, 与正常对照组、高脂对照组的小鼠相比, 肝脏、血清中 T-AOC 随桑叶生物碱灌胃剂量的增加均有不同程度的增加。与高脂对照组

相比, 灌胃高剂量桑叶生物碱 16 周, 可使高脂小鼠肝脏中 T-AOC 含量增加 2.38 倍 ($p < 0.01$), 血清中的增加 2.25 倍 ($p < 0.05$)。

2.3 桑叶生物碱对小鼠肝脏和血清中 GSH 含量的影响

由表 3 可知, 小鼠肝脏中 GSH 含量显著高于血清中的 ($p < 0.05$)。正常对照组小鼠肝脏 GSH 含量在第 8 周时显著上升, 之后基本保持稳定, 而血清中 GSH 含量随着喂饲时间延长而缓慢增长但没有显著差异 ($p > 0.05$)。高脂对照组小鼠肝脏和血清中 GSH 含量与

正常对照组比显著降低($p<0.05$)。灌胃 3 个剂量桑叶生物碱的小鼠, 与正常对照组、高脂对照组小鼠相比, 肝脏、血清中 GSH 含量随灌胃剂量的增加均有不同

程度的增加。灌胃到第 8 周后, 随着时间的延长, 肝脏、血清中 GSH 含量增加不明显($p>0.05$)。

表 3 桑叶生物碱对高脂饮食小鼠肝脏和血清中 GSH 含量的影响

Table 3 The effect of mulberry leaves aqueous extract on the liver and serum GSH content in mice with high fat diet

组别	4 周	8 周	12 周	16 周
肝(U/mg Prot)				
正常对照组	5.04±0.28 ⁺	10.19±0.27 ^β	9.30±0.10 ^β	9.52±0.27 ⁺
高脂对照组	4.36±0.01 [*]	7.23±0.49 ^α	7.46±0.49 ^α	6.65±0.29 [*]
低剂量	5.14±0.61 ^{*+}	15.55±0.59 ^{*+}	14.14±0.13 ^{*+}	13.02±0.94 ^{*+}
中剂量	5.33±0.80 ^{*+}	16.51±0.58 ^{*+}	16.64±0.11 ^{*+}	16.34±0.21 ^{*+}
高剂量	5.49±0.47 ^{*+}	17.21±0.55 ^{*+}	18.73±0.19 ^{*+}	17.90±0.08 ^{*+}
血清(U/mL)				
正常对照组	2.21±0.02 ^β	2.42±0.08 ^β	2.87±0.06 ^β	2.92±0.02 ^β
高脂对照组	1.59±0.07 ^α	2.17±0.01 ^α	2.44±0.09 ^α	2.58±0.03 ^α
低剂量	2.59±0.0 ^α	3.26±0.02 ^{*+}	3.31±0.02 ^β	3.35±0.01 ⁺
中剂量	2.63±0.04 ^{*β}	3.29±0.01 ^{*+}	3.58±0.01 ⁺	3.60±0.02 ⁺
高剂量	2.83±0.17 ^{*+}	3.41±0.01 ^{*+}	3.96±0.03 ^{*+}	4.01±0.02 ^{*+}

表 4 桑叶生物碱对高脂饮食小鼠肝脏和血清中 CAT 活性的影响

Table 4 The effect of mulberry leaves aqueous extract on the liver and serum CAT activity in mice with high fat diet

组别	4 周	8 周	12 周	16 周
肝(U/mg Prot)				
正常对照组	10.18±0.13 ⁺	12.93±0.33 ^β	13.37±0.89 ^β	14.54±0.99 ⁺
高脂对照组	9.44±0.22 [*]	10.21±0.28 ^α	11.11±0.55 ^α	12.37±0.54 [*]
低剂量	14.42±0.27 ^{*+}	16.66±0.34 ^{*+}	17.55±0.25 ^{*+}	19.22±0.37 ^{*+}
中剂量	14.63±0.22 ^{*+}	18.79±0.48 ^{*+}	19.72±0.23 ^{*+}	21.81±0.23 ^{*+}
高剂量	15.67±0.47 ^{*+}	19.10±0.68 ^{*+}	20.56±0.39 ^{*+}	22.48±0.27 ^{*+}
血清(U/mL)				
正常对照组	3.29±0.16 ^β	4.03±0.33 ^β	4.68±0.13 ^β	4.82±0.06 ^β
高脂对照组	2.76±0.31 ^α	3.10±0.06 ^α	3.36±0.09 ^α	3.53±0.05 ^α
低剂量	4.31±0.29 ^α	4.29±0.07 ^β	4.74±0.13 ^β	4.95±0.27 ⁺
中剂量	5.21±0.14 ^{*β}	4.31±0.11 ^β	4.91±0.33 ⁺	5.01±0.07 ⁺
高剂量	5.42±0.35 ^{*+}	4.37±0.11 ^β	5.06±0.13 ^{*+}	5.22±0.18 ^{*+}

2.4 桑叶生物碱对小鼠肝脏和血清中 CAT 活性的影响

灌胃不同剂量桑叶生物碱的高脂饮食小鼠肝脏和血清中 CAT 活性如表 4 所示, 小鼠肝脏中 CAT 活性显著高于血清中的($p<0.05$)。正常组小鼠肝脏和血清中 CAT 活性随着喂饲时间延长而缓慢增长, 但无显著变化($p>0.05$)。高脂对照小鼠肝脏和血清中 CAT 活性与正常对照组比较显著降低($p<0.05$)。与正常对照组、高脂对照组相比, 灌胃 3 个剂量的桑叶生物碱的小鼠肝脏、血清中 CAT 的活性随桑叶生物碱灌胃剂量的增加

均有不同程度的增加。与高脂对照组相比, 灌胃高剂量桑叶生物碱 16 周的小鼠肝脏中 CAT 活性增加 1.82 倍($p<0.01$), 血清中的增加 1.48 倍($p<0.01$)。

2.5 桑叶生物碱对小鼠肝脏和血清中 POD 活性的影响

由表 5 可知, 小鼠肝脏中 POD 活性显著低于血清中的($p<0.05$)。随着喂饲时间的延长, 正常对照组小鼠肝脏、血清中 POD 活性缓慢增加($p<0.05$)。高脂对照组小鼠肝脏和血清中 POD 活性与正常对照组相比显著下降($p<0.05$)。与正常对照组、高脂对照组小鼠相

比, 灌胃 3 个剂量的桑叶生物碱的高脂小鼠肝脏、血清中 POD 活性随灌胃剂量的增加和时间的延长均有不同程度的增加。与高脂对照组相比, 用高剂量桑叶

生物碱灌胃 16 周, 小鼠肝脏中 POD 活性增加 2.22 倍 ($p<0.01$), 血清中的增加 2.19 倍 ($p<0.01$), 均极显著高于正常组的水平 ($p<0.01$)。

表 5 桑叶生物碱对高脂饮食小鼠肝脏和血清中 POD 活性的影响

Table 5 The effect of mulberry leaves aqueous extract on the liver and serum POD activity in mice with high fat diet

组别	4 周	8 周	12 周	16 周
肝(U/mg Prot)				
正常对照组	16.14±0.70 ^β	17.15±0.32 ^β	20.11±2.28 ^β	22.89±0.48 ^β
高脂对照组	13.60±0.44 ^α	12.97±0.62 ^α	14.18±0.78 ^α	14.48±0.71 ^α
低剂量	18.18±0.41 ^{*+}	21.93±0.69 ^{*+}	23.29±1.38 ^{*+}	26.12±0.47 ^{*+}
中剂量	20.27±0.96 ^{*+}	24.86±0.92 ^{*+}	25.15±1.61 ^{*+}	28.28±0.77 ^{*+}
高剂量	22.37±0.35 ^{αβ}	28.72±0.44 ^{*+}	30.02±1.05 ^{*+}	32.19±1.00 ^{α+}
血清(U/mL)				
正常对照组	29.29±0.84 ^β	30.74±0.13 ^β	33.19±0.46 ^β	34.44±1.35 ^β
高脂对照组	24.48±0.44 ^α	26.96±0.46 ^α	25.93±0.71 ^α	22.52±0.46 ^α
低剂量	31.52±0.71 ^{*+}	34.96±1.36 ^{*+}	37.70±1.22 ^{*+}	38.67±1.78 [*]
中剂量	34.59±0.55 ^{*+}	36.29±1.00 ^{*+}	40.15±1.45 ^{*+}	42.67±0.59 ^{*+}
高剂量	36.85±0.86 ^{*+}	39.56±0.58 ^{α+}	47.19±1.12 ^{*+}	49.33±1.36 ^{*+}

表 6 桑叶生物碱对高脂饮食小鼠肝脏、血清 GSH-Px 活性的影响

Table 6 The effect of mulberry leaves aqueous extract on the liver and serum GSH-Px activity in mice with high fat diet

组别	4 周	8 周	12 周	16 周
肝(U/mg Prot)				
正常对照组	630.00±4.19 ^β	654.25±5.43 ^β	729.94±9.14 ^β	736.85±5.33 ^β
高脂对照组	530.18±6.31 ^α	575.17±6.39 ^α	587.79±4.77 ^α	632.37±4.26 ^α
低剂量	728.73±5.42 ^{α+}	768.73±4.39 ^β	1083.92±5.77 ^{*+}	1104.31±5.47 ^{*+}
中剂量	734.48±4.77 ^{α+}	774.48±4.17 ^{α+}	1093.47±6.35 ^{*+}	1116.40±4.32 ^{*+}
高剂量	805.63±6.38 ^{α+}	815.63±4.55 ^{α+}	1161.13±4.91 ^{*+}	1203.75±3.05 ^{*+}
血清(U/mL)				
正常对照组	297.33±4.61 ^β	350.67±4.56 ^β	385.33±5.31 ^β	396.00±3.56 ^β
高脂对照组	254.00±5.01 ^α	294.67±2.78 ^α	306.00±4.62 ^α	317.33±3.09 ^α
低剂量	324.00±3.52 ^{αβ}	370.67±2.94 ^{αβ}	422.67±4.63 ^{αβ}	428.00±4.54 ^{α+}
中剂量	314.67±2.85 ^{αβ}	413.33±3.28 ^{αβ}	454.67±5.91 ^{αβ}	473.33±5.32 ^{α+}
高剂量	354.67±5.22 ^{αβ}	446.67±5.79 ^{αβ}	496.00±5.83 ^{α+}	504.00±2.71 ^{*+}

2.6 桑叶生物碱对小鼠肝脏和血清中 GSH-Px 活性的影响

桑叶生物碱对高脂饮食小鼠肝脏和血清中 GSH-Px 活性的影响结果见表 6, 小鼠肝脏中 GSH-Px 活性明显高于血清中的 ($p<0.05$)。正常对照组小鼠肝脏和血清中 GSH-Px 活性随着喂食时间延长都有一定的增加; 高脂对照组小鼠肝脏和血清中 GSH-Px 活性虽有缓慢增加, 但与正常对照组相比显著降低 ($p<0.05$)。与正常对照组、高脂对照组小鼠相比, 灌胃低、中、高 3 个剂量的桑叶生物碱的高脂小鼠, 其肝脏、血清

中 GSH-Px 的活性随灌胃剂量的增加、喂食时间的延长均有不同程度的增加, 高剂量组的效果最好。与高脂对照组相比, 小鼠灌胃高剂量桑叶生物碱 16 周, 其肝脏 GSH-Px 活性增加 1.90 倍 ($p<0.01$), 血清中的增加 1.59 倍 ($p<0.01$)。

2.7 桑叶生物碱对小鼠肝脏和血清中 SOD 活性的影响

不同剂量桑叶生物碱对高脂饮食小鼠肝脏和血清中 SOD 活性的影响如表 7 所示, 肝脏中 SOD 活性与血清中的相当。随着喂食时间的延长, 正常对照组小

鼠肝脏、血清中 SOD 活性保持基本稳定; 高脂对照组小鼠肝脏和血清中 SOD 活性有一定程度增加但与正常对照组相比显著下降($p<0.05$)。灌胃 3 个剂量的桑叶生物碱的高脂小鼠, 与正常对照组、高脂对照组小

鼠相比, 肝脏、血清中 SOD 活性随灌胃剂量的增加均有不同程度的增加。与高脂对照组相比, 用高剂量桑叶生物碱灌胃 16 周, 小鼠肝脏中 SOD 活性增加 1.22 倍($p<0.05$), 血清中的增加 1.44 倍($p<0.05$)。

表 7 桑叶生物碱对高脂饮食小鼠肝脏、血清 SOD 活性的影响

Table 7 The effect of mulberry leaves aqueous extract on the liver and serum SOD activity in male mice with high fat diet

组别	4 周	8 周	12 周	16 周
	肝(U/mg Prot)			
正常对照组	259.15±6.20 ⁺	261.09±2.79 ⁺	266.67±3.53 ⁺	270.79±3.27 ⁺
高脂对照组	244.12±7.98 [*]	247.03±5.44 [*]	251.39±3.49 [*]	255.76±3.93 [*]
低剂量	270.79±5.04 ⁺⁺	279.76±6.61 ⁺⁺	287.76±5.26 ⁺⁺	290.18±3.89 ⁺⁺
中剂量	272.24±4.07 ⁺⁺	281.21±6.47 ⁺⁺	290.18±4.97 ⁺⁺	296.48±2.16 ⁺⁺
高剂量	283.64±3.83 ⁺⁺	293.33±3.83 ⁺⁺	300.85±3.03 ⁺⁺	311.03±2.36 ⁺⁺
	血清(U/mL)			
正常对照组	237.17±6.18 ^β	248.48±4.45 ^β	242.11±5.26 ^β	256.84±3.85 ^β
高脂对照组	202.42±5.88 ^α	215.05±2.29 ^α	193.68±5.83 ^α	202.11±2.63 ^α
低剂量	248.48±5.18 ^β	249.29±2.74 ^β	261.00±4.95 ^β	261.05±2.59 ^β
中剂量	249.29±4.54 ^β	251.72±6.12 ^β	261.05±2.97 ^β	282.11±3.19 ^β
高剂量	251.71±7.92 ^β	255.76±4.97 ^β	277.89±5.47 ^β	290.53±3.43 ^β

3 结论

3.1 有研究表明, 肥胖会引起机体氧化应激水平和脂质过氧化物含量明显升高, 而机体自身防御体系中的抗氧化酶活性降低^[12,13]。本实验中, 与正常对照组相比, 高脂对照组小鼠肝脏和血清中 MDA 含量均有所上升, 而 T-AOC、GSH、CAT、POD、GSH-Px、SOD 活性均有所降低, 说明高脂饮食引起的氧化应激模型构建成功^[14]。本研究以不同剂量的桑叶生物碱灌胃高脂饮食小鼠, 结果显示小鼠的肝脏和血清中 MDA 含量显著降低, 并低于正常组; T-AOC、GSH、CAT、POD、GSH-Px 活性均显著增强且高于正常组, 这与蔡文涛等^[15]、Hao 等^[16]研究结果基本一致。

3.2 生物机体自身存在一种自由基的清除机制, 依靠体内的氧化和抗氧化作用保持机体抗氧化防御体系正常运行^[17]。有研究发现, 氧化应激可引起高血脂, 这可能与血清中活性氧有关^[18,19]。MDA 是脂质过氧化的最终产物, 被认为是反映机体膜受损害程度的间接指标, 其含量越高, 能反映氧自由基的生成量越高, 发生氧化反应的程度越强, 对组织损伤的越严重, 机体所受自由基攻击也越严重^[20,21]。T-AOC 能反映机体抗氧化酶与非酶系统防御体系状况, 其值越高, 机体抗氧化系统的性能状态越强, 抗氧化能力越高^[22]。GSH、CAT、POD、GSH-Px、SOD 都存在于机体细胞中, 在机体内发挥着维护氧化和抗氧化平衡、清除

过氧化氢、阻断羟自由基的产生等作用^[23-26]。其中, GSH 和 T-AOC 能影响非酶体系的抗氧化能力, 若机体产生过多的自由基, 将会耗尽储备的 GSH, 从而造成机体组织损伤^[27]。CAT 主要存在于过氧化物酶体中, CAT 能催化 H₂O₂ 进而阻止机体中羟基自由基的生成^[28]。SOD 可与 O²⁻ 反应生成 H₂O₂, 在经过过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶催化成 H₂O, 从而达到清除自由基, 保护组织效果^[29]; POD 催化超氧化物发生歧化反应成 H₂O₂ 和 O₂, H₂O₂ 又经过 CAT 作用成 H₂O 和 O₂, 从而达到抗氧化作用。GSH-Px 作为一种重要的催化氧化酶, 广泛分布在细胞质、线粒体内, 包括含硒的(Se-GSH-Px)和不含硒的(non-GSH-Px)2 种; 硒催化 GSH 后与过氧化物发生还原反应生成羟基化合物, 从而避免细胞膜受到过氧化物的影响及危害。GSH-Px 不仅能清除体内的自由基, 还能阻断脂质过氧反应, 维持机体正常的抗氧化能力^[30,31]。肝细胞即是由于增强 GSH-Px 活性有效清除自由基、防止过氧化反应从而达到保护作用^[32]。本研究发现, 与正常对照组小鼠相比, 随喂饲时间的延长, 高脂对照组小鼠肝脏和血清中 T-AOC、GSH、CAT、POD、GSH-Px、SOD 活性均有所下降, MDA 水平均有所上升, 说明高脂对照组小鼠体内脂质过氧化反应增强。与正常对照组、高脂对照组小鼠相比, 灌胃高、中剂量的桑叶生物碱的高脂饮食小鼠肝脏、血清中 T-AOC、GSH、CAT、POD、GSH-Px 活性均显著增强, MDA 含量均显著降低, 说明桑叶生物碱可增强抗氧化能力, 并且

表现出随剂量增加而效果明显,这可能是桑叶生物碱中的活性物质 1-脱氧野尻霉素(1-deoxynojirimycin, DNJ)有关。有研究发现 DNJ 能促进血脂血糖的代谢来改善小鼠肝损伤^[33],推测可能是通过增强细胞中基因表达,从而提高相关酶活性,从而有效清除自由基,增强机体防御功能^[34]。杨忠敏等^[35]发现桑叶生物碱能够降低高脂小鼠的肝脏系数和血浆中香草转氨酶和谷丙转氨酶的活性改善脂质变性。在本研究中,与正常对照组小鼠相比,灌胃桑叶生物碱的高脂饮食小鼠肝脏、血清中 SOD 活性虽然随灌胃剂量的增加均有不同程度的增加,但增加程度均低于其他酶活性,这与陈艳珍等^[36]的报道相似,其原因机理有待进一步探究。小鼠灌胃 8 周时,剂量组小鼠中血清和肝脏中 GSH 保持稳定并且有一定程度降低,这与彭晓蝶等^[37]中结果相似,可能是由于桑叶中的其他成分影响着血清和肝脏中 GSH 活性,其物质成份及作用有待进一步探究。

3.3 由本研究结果可知,一定剂量的桑叶生物碱对高脂饮食小鼠体内抗氧化酶的活性有增强作用,可以为桑叶生物碱的开发与利用提供一定指导作用。但是,本研究未对基因水平以及相关作用因子进行进一步探究,尚不能准确阐述桑叶生物碱的抗氧化机理,同时长达 16 周的桑叶生物碱灌胃,小鼠肝脏中毒性作用不明确,需要在后期的研究中逐步深入。

参考文献

- [1] 粮农组织,农发基金,儿基会,等.2018 年世界粮食安全和营养状况:增强气候抵御能力,促进粮食安全和营养[R].罗马,粮农组织,2018
FAO, IFAD, UNICEF, et al. World food security and nutrition in 2018: Strengthen climate resilience and promote food security and nutrition[R]. Rome, FAO, 2018
- [2] Sugimoto K, Takei Y. Clinicopathological features of non-alcoholic fatty liver disease [J]. Hepatology Research, 2011, 41(10): 911-920
- [3] Parelman M A, Storms D H, Kirschke C P, et al. Dietary strawberry powder reduces blood glucose concentrations in obese and lean C57BL/6 mice, and selectively lowers plasma c-reactive protein in lean mice [J]. Br J Nutr, 2012, 108: 1789-1799
- [4] 徐颖,董文宾,代春吉.自由基的清除[J].食品研究与开发, 2005,3:10-13
XU Ying, DONG Wen-bin, DAI Chun-ji. Free radicals scavenging [J]. Food Research and Development, 2005, 3: 10-13
- [5] Liochev S I. Which is the most significant cause of aging [J]. Antioxidants (Basel), 2015, 4(4): 793-810
- [6] 阴新负,彭效明,李翠清,等.桑叶生物碱和多糖的分离纯化研究进展[J].中医药导报,2016,22(14):108-110,113
YIN Xin-fu, PENG Xiao-ming, LI Cui-qing, et al. The research progress of technology on separation and purification of polysaccharides and alkaloids in mulberry leaves [J]. Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2016, 22(14): 108-110, 113
- [7] 贺胜,周杏子,何海,等.桑叶生物碱类成分研究概况[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(13):222-226
HE Sheng, ZHOU Xing-zi, HE Hai, et al. Research progress of alkaloids in mori folium [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2015, 21(13): 222-226
- [8] Li Y G, Ji D F, Zhong S, et al. 1-deoxynojirimycin inhibits glucose absorption and accelerates glucose metabolism in streptozotocin induced diabetic mice [J]. Scientific Reports, 2013, 3: 1377
- [9] 王贺.新疆药桑叶生物碱的提取及不同活性成分降血糖作用的研究[D].阿拉尔:塔里木大学,2016
WANG He. Study on extract technology of alkaloids and hypoglycemic effect on different active components from *Morusnigra* L. in Xinjiang province [D]. Alaer: Tarim University, 2016
- [10] 卫生部卫生监督局. 保健食品检验与评论技术规范实施手册[M].北京:中科多媒体电子出版社,2003
Health Supervision Bureau of the Ministry of Health. Health food inspection and review technical specification implementation manual [M]. Beijing: Zhongke Multimedia Electronic Publishing House, 2003
- [11] 黄勇,刘凡,廖森泰,等.采用大孔树脂与阳离子交换树脂分离纯化桑叶活性物质的效果分析[J].蚕业科学,2012,38(6): 1079-1085
HUANG Yong, LIU Fan, LIAO Sen-tai, et al. Analysis on separation and purification effect of active substances from mulberry leaves with macroporous resins and cation exchange resin [J]. Science of Sericulture, 2012, 38(6): 1079-1085
- [12] Cho A S, Jeon S M, Kim M J, et al. Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet induced obese mice [J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48: 937-943
- [13] Furukawa S, Ujita T, Himabukur O M, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic

- syndrome [J]. *J Clin Invest*, 2004, 114: 1752-1762
- [14] 李龙因.抗氧化功能因子对高脂膳食小鼠脂代谢的调节作用及其机制研究[D].无锡:江南大学,2013
- LI Long-nan. Effect and mechanisms of antioxidant factors on lipid metabolism in high-fat diet-fed mice [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013
- [15] 慕文涛,王世霞,李笑蕊,等.荞麦粉对高脂血症小鼠血脂和肝脏抗氧化功能的调节作用[J].中国食品学报,2018,2:63-70
- QI Wen-tao, WANG Shi-xia, LI Xiao-rui, et al. Regulation function of buckwheat on blood lipid and liver anti-oxidation of hyperlipemia mice [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2018, 2: 63-70
- [16] Hao J Y, Wan Y, Yao X H, et al. Effect of different planting areas on the chemical compositions and hypoglycemic and antioxidant activities of mulberry leaf extracts in southern China [J]. *Plos One*, 2018, 26: 1-15
- [17] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39: 44-84
- [18] Meng Q, Shi D, Feng J, et al. Hypercholesterolemia up-regulates the expression of intermedin and its receptor components in the aorta of rats *via* inducing the oxidative stress [J]. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 2016, 46(1): 5-17
- [19] Adegbola P, Aderibigbe I, Hammed W, et al. Antioxidant and anti-inflammatory medicinal plants have potential role in the treatment of cardiovascular disease: A review [J]. *American Journal of Cardiovascular Disease*, 2017, 7(2): 19-32
- [20] 高璐,王滢,饶胜其,等.葡萄籽原花青素提取物对衰老模型小鼠抗氧化作用[J].食品科学,2014,35(23):253-256
- GAO Lu, WANG Ying, RAO Sheng-qi, et al. Antioxidant activity of grape seed proanthocyanidin extract in aging mouse model [J]. *Food Science*, 2014, 35(23): 253-256
- [21] 刘富萍,张琦,谷楠,等.谷胱甘肽及丙二醛在炎症中表达的研究进展[J].医学美容美容旬刊,2015,24(6):1001-1002
- LIU Fu-ping, ZHANG Qi, GU Nan, et al. Advances in the expression of glutathione and malondialdehyde in inflammation [J]. *Medical Aesthetics and Beauty Magazine*, 2015, 24(6): 1001-1002
- [22] Yang F, Zhang C, Zhuang Y, et al. Oxidative stress and cell apoptosis in caprine liver induced by molybdenum and cadmium in combination [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2016, 173(1): 9-86
- [23] 王美菊,陶明焯,牛文颖,等.石榴叶多酚对急性酒精性肝损伤小鼠肾脏、心脏及免疫器官的抗氧化作用[J].食品科学,2016,37(1):208-213
- WANG Mei-ju, TAO Ming-xuan, NIU Wen-ying, et al. Antioxidant effects of purified polyphenols from leaves of *Punicagranatum* L. on kidney, heart and immune organs in mice with acute alcoholic liver injury [J]. *Food Science*, 2016, 37(1): 208-213
- [24] 刘稳,李杨,高培基,等.过氧化物酶研究进展[J].纤维素科学与技术,2000,2(9):52-64
- LIU Wen, LI Yang, GAO Pei-ji, et al. Research advance in peroxidases [J]. *Journal of Cellulose Science and Technology*, 2000, 2(9): 52-64
- [25] 董亮,何永志,王远亮,等.超氧化物歧化酶(SOD)的应用研究进展[J].中国农业科技导报,2013,5(15):53-58
- DONG Liang, HE Yong-zhi, WANG Yuan-liang, et al. Research progress on application of superoxide dismutase (SOD) [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2013, 5(15): 53-58
- [26] Karakiulakis G, Roth M. Muscarinic receptors and their antagonists in COPD: Anti-inflammatory and antiremodeling effects [J]. *Mediators Inflamm*, 2012, 2012: 1-9
- [27] 程光宇,刘俊,王峰,等.鸡腿菇子实体多糖对小鼠血液和肝脏的抗氧化作用[J].食品科学,2010,31(13):267-272
- CHENG Guang-yu, LIU Jun, WANG Feng, et al. Antioxidant effects of *coprinus comatus* polysaccharides in the blood and liver of normal and alloxan-induced diabetic mice [J]. *Food Science*, 2010, 31(13): 267-272
- [28] Nordgren, Marcus, Fransen Marc, et al. Peroxisomal metabolism and oxidative stress [J]. *Biochimie*, 2014, 98(3): 56-64
- [29] 王富明,张亚敏,孙华,等.针刺对大鼠脑缺血再灌注损伤后不同时间点血清 SOD 和 MDA 表达的影响[J].针灸临床杂志,2015,31(2):62-65
- WANG Fu-ming, ZHANG Ya-min, SUN Hua, et al. Expression of SOD and MDA in the serum of rats subjected to cerebral ischemic-reperfusion treated by acupuncture [J]. *Journal of Clinical Acupuncture and Moxibustion*, 2015, 31(2): 62-65
- [30] Chung S S, Kim M, Youn B S, et al. Glutathione peroxidase 3 mediates the antioxidant effect of peroxisome proliferator-activated receptor γ in human skeletal muscle cells [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2009, 29(1): 20-30
- [31] Meigs J B, Larson M G, Fox C S, et al. Association of oxidative stress, insulin resistance, and diabetes risk phenotypes the framingham offspring study [J]. *Diabetes*

- Care, 2007, 30(10): 2529-2535
- [32] 张伟.青砖茶对实验大鼠的减肥和调节血脂作用及其机制研究[D].武汉:华中农业大学,2009
ZHANG Wei. Studies on anti-obesity, blood liquid regulation effects and mechanisms of dark brick tea on rats [D]. Wuhan: Huazhong Agriculture University, 2009
- [33] Hu X Q, Thakur K, Chen G H, et al. Metabolic effect of 1-deoxynojirimycin from mulberry leaves on db/db diabetic mice using liquid chromatography-mass spectrometry based metabolomics [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(23): 4658-4667
- [34] Takahata Y, Ohnishi K M, Furuta S, et al. Highly polymerized procyanidins in brown soybean seed coat with a high radical-scavenging activity [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(12): 5843-5847
- [35] 杨忠敏,王祖文,杨敏,等.桑叶生物碱对高脂饮食诱导小鼠肝损伤的改善作用及机理[J].食品科学:<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20181214.1348.012.html>
- YANG Zhong-min, WANG Zu-wen, YANG Min, et al. The improvement effect and mechanism of mulberry alkaloids on high-fat diet induced liver injury in mice [J]. Food Science: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20181214.1348.012.html>
- [36] 陈艳珍,宋新华.黄秋葵果实粉对衰老模型小鼠抗氧化能力的影响[J].食品研究与开发,2014,35(15):19-21
CHEN Yan-zhen, SONG Xin-hua. Effects of okra fruit powder on antioxidant abilities in aged mice induced by d-galactose [J]. Food Research and Development, 2014, 35(15): 19-21
- [37] 彭晓蝶.桑叶生物碱粗提液对高脂饮食小鼠抗氧化作用及机理研究[D].重庆:西南大学,2018
PENG Xiao-die. Study on antioxidation and mechanism of mulberry alkaloid crude extract in mice with high fat diet [D]. Chongqing: Southwest University, 2018

(上接第 16 页)

- [26] Patras Laura, Sesarman Alina, Licarete E, et al. Dual role of macrophages in the response of C26 colon carcinoma cells to 5-fluorouracil administration [J]. Oncology Letters, 2016, 12(2): 1183-1191
- [27] Helen Shiphrah Vethakanraj, Thabraz Ahmed Babu, Ganesh Babu Sudarsanan, et al. Targeting ceramide metabolic pathway induces apoptosis in human breast cancer cell lines [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2015, 464(3): 833-839
- [28] 朱相展,张彦婷,杨露,等. β -胡萝卜素对食管鳞癌 EC1 细胞增殖、凋亡、迁移及细胞周期的影响[J].郑州大学学报(医学版),2016,51(4):437-441
ZHU Xiang-zhan, ZHANG Yan-ting, YANG Lu, et al. The influence of β -carotene on proliferation, apoptosis, migration and cell cycle of esophageal squamous cell carcinoma EC1 cells [J]. Zhengzhou University (Medical Edition), 2016, 51(4): 437-441
- [29] Caryne M B, Antônio Carlos P O, Leonardo Tadeu S Rocha, et al. Characterization of the antinociceptive and anti-inflammatory activities of riboflavin in different experimental models [J]. European Journal of Pharmacology, 2006, 547: 184-191
- [30] Alison L Steiber, Charles Chazot, Joel D Kopple. Vitamin and trace element needs in chronic kidney disease [J]. Nutrition in Kidney Disease, 2014: 389-404

(上接第 101 页)

- [29] 冯杰,詹晓北,周朝晖,等.两种膜过滤产生的纯生酱油风味物质比较[J].食品与生物技术学报,2010,29(1):33-39
FENG Jie, ZHAN Xiao-bei, ZHOU Zhao-hui, et al. Comparative analysis of flavor compounds in draft soy sauce origin from two different membranes [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2010, 29(1): 33-39
- [30] 顾赛麒,张晶晶,王锡昌,等.不同产地熟制中华绒螯蟹蟹肉挥发性成分分析[J].食品工业科技,2014,35(5):289-293
GU Sai-qi, ZHANG Jing-jing, WANG Xi-chang, et al. Analysis of volatile components in meat of steamed Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) farmed in different regions [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(5): 289-293