

实验研究

沙棘果渣总黄酮的降血脂及降血糖作用

孙琛¹ 冯野¹ 谢培¹ 宋忠兴² 唐志书¹

(1 陕西中医药大学/陕西省中药资源产业化协同创新中心, 咸阳, 712083; 2 陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 咸阳, 712046)

摘要 目的:探讨沙棘果渣总黄酮的降血脂及降血糖作用。方法:昆明种雄性小鼠72只适应环境7d后,随机分成6组($n=12$):空白对照组、模型组、辛伐他丁组、总黄酮小、中、高剂量组。除空白对照组外,其余各组喂高脂饲料诱发高血脂症,每天称小鼠体质量1次,按体质量更换给药剂量。试验第40天取血后解剖小鼠,检测TC、TG、HDL-C、LDL-C含量,观测体质量及脏器指数的变化情况。采用小鼠高血糖模型降糖实验方法考察沙棘果渣总黄酮的降血糖活性。结果:沙棘果渣总黄酮各剂量与模型组比较,可以显著降低TC、TG和LDL-C的含量($P<0.05$),显著升高HDL-C的含量($P<0.05$);沙棘果渣总黄酮组空腹血糖值显著降低($P<0.05$)。结论:沙棘果渣总黄酮具有降血脂及降血糖活性。

关键词 沙棘果渣总黄酮;降血脂作用;降血糖作用

Hypolipidemic and Hypoglycemic Effects of Total Flavonoids from Pomace of Fructus HippophaeSun Chen¹, Feng Ye¹, Xie Pei¹, Song Zhongxing², Tang Zhishu¹

(1 Shaanxi University of Chinese Medicine/Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Xianyang 712083, China; 2 Shaanxi Province Key Laboratory of New Drugs and Chinese Medicine Foundation Research, Xianyang 712046, China)

Abstract Objective: To study the hypolipidemic and hypoglycemic effects of total flavonoids from pomace of Fructus Hippophae. **Methods:** A total of 72 Kunming male mice were randomly divided into six groups ($n=12$ in each group): normal group, model group, simvastatin group, low-dose flavonoid group, middle-dose flavonoid group and high-dose flavonoid group. Except the blank control group, the mice were fed with high fat diets to induce hyperlipidemia. The body weight of mice was measured every day, and the dose was adjusted according to the weight. On the 40th day, the mice were decapitated and the TC, TG, HDL-C and LDL-C were detected. Changes of weight and viscera indexes were observed. The hypoglycemic activity of polysaccharide was investigated by animal experiments. **Results:** Compared with model group, the TC, TG and LDL-C of serum in the flavonoid groups were decreased significantly ($P<0.05$) and HDL-C was increased significantly ($P<0.05$). The total flavonoids from pomace of Fructus Hippophae group decreased fasting blood glucose values significantly ($P<0.05$). **Conclusion:** The total flavonoids from pomace of Fructus Hippophae have hypolipidemic and hypoglycemic effects.

Key Words Total flavonoids from pomace of Fructus Hippophae; Hypolipidemic effects; Hypoglycemic effects

中图分类号:R284 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.01.036

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)又名酸刺、黑刺、醋柳,为胡颓子科(*Elaegnaceae*)沙棘属(*Hippophae* L.)落叶灌木或小乔木^[1]。我国是世界上沙棘资源最丰富的国家,占全世界沙棘资源的99%以上^[2]。每年有大量的沙棘果用于生产果汁或者榨油,而含有丰富的黄酮类化合物和 β -胡萝卜素的果渣却被作为废弃物,极大地浪费了资源。有研究表明,沙棘果渣中的黄酮可以清除超氧阴离子自由基及羟自由基,其清除作用比维生素E还强,抗衰老作用明显^[3-4]、抗心血管疾病^[5]、雌激素样与抗雌激素

样的作用^[6]、降血脂、抗肿瘤、防癌抗癌、抗骨质疏松、抗疲劳、调节免疫力^[7-11]等作用。主要针对沙棘果渣总黄酮的降血脂及降血糖作用进行探讨,旨在对沙棘果渣进行深加工,充分利用沙棘资源,变废为宝。

近年来,随着人们生活水平的不断提高,高血脂、脂肪肝、高血糖等由饮食习惯而导致的疾病正在日益增加,目前除了加强锻炼和控制饮食就是依靠药物。而可以有效治疗高血脂不良反应小的药物还很匮乏。本实验将通过建立高血脂、高血糖小鼠模

基金项目:陕西省科技厅社会发展科技攻关项目(2015SF244)——利用沙棘果渣开发黄酮降脂胶囊研究

作者简介:孙琛(1988.10—),女,硕士,讲师,研究方向:中药的提取分离及药理作用研究, E-mail:346520892@qq.com

通信作者:唐志书(1972.09—),男,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:中药高新制备技术与中药资源开发与综合利用研究, E-mail:tzs6565@163.com

型,以辛伐他丁及二甲双胍为阳性对照药,研究沙棘果渣总黄酮对高血脂小鼠的降血脂和降血糖作用,为以后进一步开发降血脂、降血糖保健品和药物提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 健康雄性昆明种小鼠 108 只,清洁级,体质量 18~25 g,购自西安交通大学医学部实验动物中心。动物许可证号:SCXK(陕)2012-003。

1.1.2 药物 参照文献[12]采用最佳提取工艺提取沙棘果渣总黄酮,即:利用超声波辅助提取技术,乙醇体积分数 60%,超声功率 250 W,提取时间 40 min、料液比 1:50(g/mL)、提取 2 次;此条件下,沙棘果渣中总黄酮提取率为 2.55%。提取总黄酮后加蒸馏水配制成沙棘总黄酮 3 个剂量组,分别为 100、200、400 mg/kg,4℃保存备用。辛伐他汀(simvastatin):杭州默沙东制药有限公司。

1.1.3 试剂与仪器 丙基硫氧嘧啶:武汉市合中生化制造有限公司;胆酸钠:山东康勤生物科技有限公司;胆固醇:山东康勤生物科技有限公司;吐温-80:上海备科化工有限公司。链脲佐菌素,美国 Sigma。全自动生化分析仪,深圳迈瑞公司;电子天平,赛多利斯;TGL-20B 离心机,上海雅程。

1.2 实验方法

1.2.1 分组与模型制备 制备高脂合剂^[13]高脂合剂由 50%猪油、24%胆固醇、1%丙基硫氧嘧啶、5%胆酸钠及 20%吐温-80 组成。取 50 g 猪油置于烧杯中,加热到 100℃时,加入 24 g 胆固醇,溶化后充分搅匀,然后加入丙基硫氧嘧啶 1 g 和 20 mL 吐温-80,充分搅拌均匀。取另一个烧杯,加入蒸馏水 100 mL,加热到 60℃左右,加入 5 g 脱氧胆酸钠,充分搅拌直至完全溶解。将 2 个烧杯中的溶液充分混匀,即制成脂肪合剂。取健康的雄性小鼠 54 只,在 SPF 实验室适应 1 周后,随机分出 9 只作为空白组,其他小鼠喂高脂合剂 30 d,每 10 d 腹腔注射 1.1%链脲佐菌素(110 mg/kg),空白组注射等剂量的生理盐水。于第 31 天禁食 12 h,尾静脉取血测其血糖值,血糖 ≥ 11.1 mmol/L 即为造模成功。将造模成功的小鼠根据血糖值及体质量分为模型组、总黄酮低剂量、总黄酮中剂量、总黄酮高剂量,二甲双胍组。每天灌胃给药,总黄酮低、中、高剂量(100、200、400 mg/kg),二甲双胍(125 mg/kg)。在实验期间每 7 d 观察血糖变化,并于实验第 21 天禁食不禁水 12 h,眼眶取血,测定血糖值。将实验动物随机分为 6

组,每组 12 只,即模型组、空白组、辛伐他汀组(阳性对照)、总黄酮低剂量组、总黄酮中剂量组、总黄酮高剂量组。

1.2.2 给药方法 除空白组外,其他各组小鼠每天灌胃高脂合剂(10 mL/kg),在每天灌胃高脂合剂的基础上,每天对小鼠灌胃给药剂量如下:沙棘果渣总黄酮低、中、高剂量(100、200、400 mg/kg)、辛伐他汀组(20 mg/kg),空白组和模型组给予生理盐水(20 mg/kg),各组小鼠自由饮水、摄食,每隔 1 周记录小鼠体质量 1 次,便于调整给药剂量。

1.2.3 检测指标与方法 连续给药 42 d,并于试验第 7、15、25 天检测血浆总胆固醇(TC)和三酰甘油(TG),第 40 天末次给药后,小鼠禁食不禁水 12 h,眼眶取血,静置后分离血清(3 500 r/min 离心 10 min)。检测 TC、TG、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)。解剖后,检测小鼠脏器指数。

1.3 统计学方法 剔除异常数据,所有数值均采用 SPSS 17.0 统计软件进行方差分析和多重比较,测得数据以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 总胆固醇(TC)的变化 空白组 TC 含量稳定,模型组随着每天灌胃高脂合剂 TC 含量逐渐升高,并于第 7 天 TC 含量显著高于空白组($P < 0.05$),说明高脂模型造模成功。沙棘果渣总黄酮各剂量组血浆 TC 含量和模型组比较显著降低($P < 0.01$),且存在剂量正相关。说明沙棘果渣总黄酮对高血脂模型小鼠血浆 TC 的升高有抑制作用,时间越长,剂量越高效果越好。见表 1。

2.2 6 组小鼠 TG 的变化 观察实验过程中 TG 的含量变化发现,喂予高脂饲料后 15 d,血浆中的 TG 含量显著升高($P < 0.01$),说明高血脂模型造模成功。整个实验过程中,和模型组比较,总黄酮各剂量的 TG 含量显著降低($P < 0.01$)。说明沙棘果渣总黄酮可以抑制模型组小鼠的 TG 升高,给药时间越长,剂量越高,效果越明显。见表 2。

2.3 6 组低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平 经高脂饲料喂养后,小鼠 LDL-C 含量显著升高($P < 0.01$),HDL-C 含量明显降低,说明高脂模型造模成功。总黄酮低、中、高剂量组较模型组显著降低($P < 0.01$),从 HDL-C 的含量来看,和模型组比较总黄酮低、中、高剂量的 HDL-C 显著升高。见表 3。

表 1 6 组小鼠总胆固醇的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	7 d (mmol/L)	15 d (mmol/L)	25 d (mmol/L)	40 d (mmol/L)
空白组	11	2.93 ± 0.13	3.31 ± 0.27	0.37 ± 0.31	3.53 ± 0.22
模型组	10	3.57 ± 0.27 *	5.17 ± 0.61 **	5.47 ± 0.61 **	5.88 ± 0.51 **
辛伐他丁组	11	1.87 ± 0.32 *△△	3.63 ± 0.33 △	4.31 ± 0.39 **△	4.33 ± 0.41 *△△
总黄酮低剂量组	12	1.72 ± 0.35 **△△	4.1 ± 0.25 *△	4.43 ± 0.41 **△△	4.57 ± 0.61 *△△
总黄酮中剂量组	11	1.69 ± 0.38 **△△	4.04 ± 0.21 **△	4.32 ± 0.47 **△△	4.45 ± 0.42 **△△
总黄酮高剂量组	12	1.64 ± 0.41 **△△	4.07 ± 0.15 **△△	4.26 ± 0.35 **△△	4.04 ± 0.33 **△△

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$

表 2 6 组小鼠三酰甘油(TG)的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	7 d (mmol/L)	15 d (mmol/L)	25 d (mmol/L)	40 d (mmol/L)
空白组	11	0.39 ± 0.03	0.36 ± 0.05	0.37 ± 0.04	0.35 ± 0.05
模型组	10	0.40 ± 0.04	0.50 ± 0.06 *	0.62 ± 0.08 **	0.64 ± 0.09 **
辛伐他丁组	11	0.30 ± 0.02 **△△	0.31 ± 0.03 *△△	0.25 ± 0.04 **△	0.21 ± 0.01 *△△
总黄酮低剂量组	12	0.32 ± 0.04 *△△	0.32 ± 0.02 *△△	0.30 ± 0.02 **△△	0.28 ± 0.04 *△△
总黄酮中剂量组	11	0.31 ± 0.03 **△	0.29 ± 0.04 *△△	0.27 ± 0.06 **△△	0.24 ± 0.06 *△△
总黄酮高剂量组	12	0.29 ± 0.02 **△△	0.27 ± 0.03 *△△	0.23 ± 0.07 **△△	0.20 ± 0.03 *△△

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$

表 3 6 组小鼠 LDL-C、HDL-C 的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
空白组	11	0.65 ± 0.07	1.33 ± 0.17
模型组	10	2.30 ± 0.17 **	0.78 ± 0.12 **
辛伐他丁组	11	0.71 ± 0.09 △△	1.40 ± 0.15 △△
总黄酮低剂量组	12	0.93 ± 0.11 *△△	1.08 ± 0.09 △
总黄酮中剂量组	11	0.88 ± 0.13 △△	1.22 ± 0.15 △
总黄酮高剂量组	12	0.72 ± 0.08 △△	1.43 ± 0.1 △△

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$

2.4 各组小鼠体质量的变化 在实验过程的 40 d 期间,各组小鼠的体质量均呈现逐渐增长的趋势,模

型小组体质量增长较快。总黄酮各组小鼠增重值与空白对照组比较。见表 4。

2.5 6 组小鼠体脏器变化 沙棘果渣总黄酮对心、肝、脾、肾没有太大影响。说明沙棘总黄酮不会伤及脏器,不良反应较少。见表 5。

2.6 6 组小鼠空腹血糖的变化 给药前,高血糖小鼠各组血糖值与空白组比较差异显著,说明高血糖小鼠造模成功。给药 21 d 后,与模型组比较,阳性药物二甲双胍组和沙棘果渣总黄酮各剂量组差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 6。

表 4 6 组小鼠体质量的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	初始 (m/g)	10 d (m/g)	30 d (m/g)	40 d (m/g)
空白组	11	21.3 ± 1.13	25.7 ± 1.17	30.1 ± 1.42	37.9 ± 2.16 △△
模型组	10	21.42 ± 1.23	28.53 ± 1.39 *	34.91 ± 1.58	42.02 ± 1.97 *
辛伐他丁组	11	22.03 ± 1.54	27.36 ± 1.68 △	35.17 ± 2.61 △	41.73 ± 1.89
总黄酮低剂量组	12	23.7 ± 1.74	29.42 ± 2.08 *	35.32 ± 2.31 △	42.21 ± 1.76 *
总黄酮中剂量组	11	21.92 ± 1.76	28.13 ± 2.13	33.63 ± 2.84	39.56 ± 3.12 △△
总黄酮高剂量组	12	22.54 ± 1.57	28.27 ± 2.34	34.28 ± 1.97 △	40.64 ± 2.69

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$

表 5 6 组小鼠体脏器指数的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	心/体质量	肝/体质量	脾/体质量	肾/体质量
空白组	11	0.46 ± 1.13	3.62 ± 0.07	0.23 ± 0.17	1.52 ± 0.22
模型组	10	0.51 ± 0.08	3.71 ± 0.04	0.21 ± 0.22	1.47 ± 0.23
辛伐他丁组	11	0.49 ± 0.03	3.82 ± 0.25	0.20 ± 0.13	1.62 ± 0.12
总黄酮低剂量组	12	0.54 ± 0.05	4.13 ± 0.08	0.19 ± 0.15	1.71 ± 0.17
总黄酮中剂量组	11	0.52 ± 0.06	3.94 ± 0.09	0.22 ± 0.17	1.48 ± 0.20
总黄酮高剂量组	12	0.48 ± 0.04	3.76 ± 0.31	0.28 ± 0.11	1.49 ± 0.22

表 6 6 组小鼠空腹血糖值变化($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	给药前(mmol/L)	给药后 7 d(mmol/L)	给药后 14 d(mmol/L)	给药后 21 d(mmol/L)
空白组	11	6.13±1.13	6.04±1.27	5.74±0.81	4.92±1.07
模型组	10	21.27±1.68**	21.13±1.72**	23.62±1.53**	25.63±1.10**
二甲双胍组	11	20.31±1.96**	15.81±1.25 $\Delta\Delta$	14.24±1.33 $\Delta\Delta$	13.49±1.26 $\Delta\Delta$
总黄酮低剂量组	12	21.17±1.36**	18.13±1.28	15.47±1.73 $\Delta\Delta$	14.92±1.36 $\Delta\Delta$
总黄酮中剂量组	11	20.52±1.91**	16.42±2.12 Δ	14.11±1.75 $\Delta\Delta$	13.87±1.59 $\Delta\Delta$
总黄酮高剂量组	12	21.18±1.14**	17.92±1.36 Δ	14.70±2.14 $\Delta\Delta$	13.53±1.58 $\Delta\Delta$

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

3 讨论

将中药废弃物转化为可利用或可再生资源,是中药制造产业绿色化发展的有效途径。药渣是中药制药过程中产生的固体废弃物,每年的产量高达数百万吨,直接丢弃不仅污染环境,还会造成巨大的浪费,探索中药药渣的高值利用,开发具有高附加值的资源性产品极具研究意义与研究价值^[14-15]。我们针对沙棘果渣的利用进行进一步研究,变废为宝,开发具有高附加值的资源性产品。

现代研究表明,血脂过高,会引发冠心病及动脉粥样硬化等心脑血管疾病,三酰甘油(TG)、血清总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)等是反映脂质代谢的重要指标。高血糖及高血脂严重影响人们的生活,高血脂是动脉粥样硬化、冠心病的危险因素之一,高血糖会导致糖尿病,糖尿病会引发肾功能衰竭、视网膜病变及心脑血管疾病等。

由本实验结果可以看出,沙棘果渣总黄酮可以降低高血脂小鼠的 TC、TG 和 LDL-C 含量,升高 HDL-C 含量由《保健食品功能学评价程序和检验方法》及修订案可知,血浆中 TC、TG 和 HLD-C 为调节血脂作用的必测指标,若其中两项或两项以上为阳性,则说明有调节血脂作用。由此可知,沙棘果渣总黄酮具有调节血脂的作用,呈现一定的量效关系。沙棘果渣总黄酮可以明显降低高血糖小鼠的空腹血糖。并且沙棘果渣总黄酮对脏器无毒性,小鼠体质量维持。

参考文献

[1]熊丙全,余东,袁军,等.中国沙棘属植物资源及其开发利用现状[J].中国野生植物资源,2004,23(2):25-26.
[2]利毛才让,索有瑞.正交设计优化沙棘果中总酚酸的提取工艺

[J].西北药学杂志,2011,26(2):82-84.
[3]Sadik CD,Sies H,Schewe T. Inhibition of 15-lipoxygenases by flavonoids;structure-activity relations and mode of action[J]. Biochem Pharmacol,2003,65(5):773-781.
[4]王秉文,李小安,康军,等.沙棘叶中黄酮的抗衰老作用的实验研究[J].沙棘,1998,11(2):26-31.
[5]Woodman OL,Meeker WF,Boujaoude M. Vasorelaxant and antioxidant activity of flavonols and flavones;structure-activity relationships[J]. J Cardiovasc Pharmacol,2005,46(3):302-309.
[6]Kim YW,Hackett JC,Brueggemeier RW. Synthesis and aromatase inhibitory activity of novel pyridine-containing isoflavones[J]. J Med Chem,2004,47(16):4032-4040.
[7]高锦明,李芸生.沙棘黄酮化学研究的进展[J].沙棘,1998,11(2):34-40.
[8]高锦明,李芸生,张鞍灵,等.沙棘黄酮化学研究的进展[J].沙棘,1998,11(2):34-39.
[9]张余,阚建全,陈宗道.生物类黄酮抗癌作用研究进展[J].中国食品添加剂,2003,13(3):17-20.
[10]刘莉华,宛晓春,李大祥.黄酮类化合物抗氧化活性构效关系的研究进展(综述)[J].安徽农业大学学报,2002,29(3):265-270.
[11]曹父,陈广仁,王爱国.沙棘黄酮类化合物及其生理功能探究[J].饮料工业,2003,6(6):5-9.
[12]白生文,汤超,田京,等.沙棘果渣总黄酮提取工艺及抗氧化活性分析[J].食品科学,2015,36(10):59-64.
[13]赵玉珍.沙棘中黄酮类化合物及其药用价值[J].沙棘,1997,10(1):39-41.
[14]段金彪,宿树兰,郭盛,等.中药资源产业化过程废弃物的产生及其利用策略与资源化模式[J],中草药,2013,44(20):2787-2797.
[15]李峰,王娜,张师愚,等.中药药渣的综合利用及其研究进展[J],中国医药工业杂志,2016,47(10):1322-1326.

(2017-02-28 收稿 责任编辑:杨觉雄)