

紫苏水提取物对高脂血症小鼠的降血脂及抗氧化作用

王婧瑜¹, 王 涵¹, 谷 岩^{2*}

(1. 吉林省农业科学院人事处, 长春 130033; 2. 吉林农业大学, 长春 130118)

摘 要: 研究紫苏[*Perilla frutescens* (L.) Britt.]水提取物对高脂血症小鼠的降血脂和抗氧化能力的影响。SPF级健康雄性小鼠随机分为正常对照组和高脂血症组, 分别给予普通饲料和高脂饲料饲养8周, 测定小鼠体重及血清中血脂水平, 判断小鼠高脂血症模型是否建立成功。将建模成功的高脂血症组小鼠分为模型组及低、中、高剂量组, 分别灌胃生理盐水10 mL/(kg·d)及紫苏水提取物3 g/(kg·d)、6 g/(kg·d)、9 g/(kg·d), 连续灌胃6周。试验结束后检测小鼠血清和肝脏中血脂和抗氧化指标水平。结果表明, 紫苏水提取物能降低高脂血症小鼠血清中胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平, 提高血清中高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平, 同时提高小鼠血清和肝脏中过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及超氧化物歧化酶(SOD)活力, 抑制丙二醛(MDA)活力, 其中以高剂量紫苏水提取物的降血脂作用和抗氧化效果最好。紫苏水提取物对高脂血症小鼠有显著的降血脂和抗氧化作用。

关键词: 紫苏; 高脂血症; 降血脂; 抗氧化

中图分类号: S567.9

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2017)01-0056-05

Effect of Water Extract of *Perilla frutescens* (L.) Britt. on Hypolipidemic and Antioxidative of Hyperlipidemic Mice

WANG Jingyu¹, WANG Han¹, GU Yan^{2*}

(1. Division of Personnel, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033; 2. Jilin agricultural university, Changchun 130118, China)

Abstract: The aim of the study was to explore effects of water extract of *Perilla frutescens* (L.) Britt. on blood lipid and antioxidant function of hyperlipidemia mice. SPF healthy male mice were divided into normal control group and hyperlipidemia group, respectively. They were fed with common feed and high fat diet for 8 weeks, then their body weight and serum lipid levels were measured to determine whether the mouse model of hyperlipidemia mice was established successfully. The hyperlipidemia modeling successfully mice were divided into model group and low, medium and high dose group, which were administered with normal saline 10 mL/kg·d, and water extract of *Perilla frutescens* (L.) Britt. 3 g/kg·d, 6 g/kg·d, 9 g/kg·d for 6 weeks. Blood lipid and antioxidant indexes in serum and liver were measured at the end of the experiment. The results showed that the water extract of *Perilla frutescens* (L.) Britt. reduced cholesterol, triglyceride, low density lipoprotein cholesterol, and increased high density lipoprotein cholesterol level in serum of hyperlipidemia mice, and increased catalase, glutathione peroxidase and superoxide dismutase, malondialdehyde inhibitory activity in serum and liver. The high dose of water extract of *Perilla frutescens* (L.) Britt. hypolipidemic and antioxidant effect was the best. The water extract of *Perilla frutescens* (L.) Britt. has significant hypolipidemic and antioxidation of hyperlipidemia mice.

Key words: *Perilla frutescens* (L.) Britt.; Hyperlipidemia; Hypolipidemic; Antioxidant

紫苏 [*Perilla frutescens* (L.) Britt.], 又名桂

荑、白苏、赤苏、香苏, 为唇形科 (Labiatae) 紫苏属 (*Perilla*) 植物, 具有特异的芳香, 其叶 (苏叶)、梗 (苏梗)、果 (苏子) 均可入药。紫苏叶具有解表散寒, 宣肺化痰, 行气和中, 安胎, 解鱼蟹毒之功效; 紫苏子具有降气、消痰、平喘、润肠之功效; 紫苏梗具有理气宽中, 安胎, 和血之功效^[1]。紫苏是我

收稿日期: 2016-11-29

基金项目: 吉林省科学技术厅国际合作项目 (20140414001GH)

作者简介: 王婧瑜 (1989-), 女, 硕士, 研究实习员, 主要从事天然产物研究。

通讯作者: 谷 岩, 女, 博士, 副教授, E-mail: 12538199@qq.com

国传统的药用植物,也是国家卫生部首批颁布的既是食品又是药品的60种物品之一^[2]。紫苏因具有较高的营养价值和药用价值,近年来成为倍受世界关注的多用途经济植物,欧美、日本、韩国等对紫苏进行大量地商业性栽种,开发出食用油、药品、饮料、化妆品等多种紫苏产品。

研究发现紫苏中的迷迭香酸成分具有清除超氧化物活性的能力,明显抑制变异的HL-60细胞内超氧化物和过氧化物的形成,作用效果比维生素C明显^[3-4]。紫苏苷A、C可有效抑制醛糖氧化酶的活力,有效防治和改善糖尿病慢性并发症的发生发展^[5]。紫苏油可抑制过敏反应的中间体—血小板凝集活化因子,能有效发挥抗炎性反应和免疫防御作用^[6]。紫苏中 α -亚麻酸是维持大脑神经系统功能所必需的因子,可有效增强智力和记忆力、保护视力^[7]。紫苏叶挥发油对革兰氏阳性菌中金黄色葡萄球菌和革兰氏阴性菌中大肠杆菌具有较强的抗菌作用^[8]。紫苏中黄酮类化合物、类胡萝卜素等活性成分,具有抗氧化和抗菌消炎作用^[9-10]。目前对于紫苏的研究主要集中在紫苏籽油上,对于紫苏水提取物是否具有降血脂和抗氧化方面的研究鲜见报道。本研究探讨紫苏[*Perilla frutescens* (L.) Britt.]水提取物对高脂血症小鼠的降血脂和抗氧化能力的影响,为紫苏水提取物预防和治疗高脂血症提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

紫苏药材购自吉林大药房,经吉林农业大学中药材学院生药学教研室鉴定为唇形科植物紫苏[*Perilla frutescens* (L.) Britt.]。紫苏水提取物的制备方法:1 kg紫苏(全草)加水5倍水煎煮2次,过滤后合并提取液并浓缩,制成相当于原生药量0.2 g/mL的药液,备用。

SPF级健康雄性小鼠140只,体重 23 ± 3 g(6周龄左右),购自长春市亿斯实验动物技术有限责任公司,动物许可证号:SCXK(吉)-2011-0004。

普通饲料成分:粗蛋白20%(以下均为质量分数),粗脂肪4%,粗纤维5%,粗灰分8%,水分10%,钙9.8%,磷1.2%,赖氨酸1%。

高脂饲料成分:基础饲料75%(以下均为质量分数)、猪油10%、蔗糖5%、蛋黄粉5%、胆盐5%。

1.2 仪器与试剂

FA2004电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)、KDC-40低速离心机(安徽科大创新股

份有限公司中佳分公司)、HZQ-Q型电热恒温培养箱(上海一恒实验设备有限公司)、ELx800型全自动酶标仪(美国BioTek公司)、XK96-B涡流混匀器(深圳市瑞鑫达科教仪器厂)、UV-721紫外-可见分光光度计(日本岛津公司)、72SO-260多功能破碎机(广东省顺德市嘉壕实业有限公司);KQ-250DB数控超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司)。

小鼠血清总胆固醇(Total Cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(High Density Lipoprotein, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(Low Density Lipoprotein, LDL-C)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)测定试剂盒均购于南京建成生物工程有限公司;其余所用试剂均为分析纯。

1.3 动物分组造模及喂养

基础饲料适应性喂养小鼠1周,室温20~23℃,相对湿度40%~60%,12 h光照/黑暗循环,试验期间自由摄食饮水。

造模期间,随机选取20只小鼠作为正常对照组,饲喂普通饲料;其余120只为高脂血症组小鼠给予高脂饲料喂养,8周后测定体重。体重增加量超过正常对照组平均体重值20%为肥胖模型,剔除造模不成功小鼠。小鼠禁食(不禁水)12 h以上,乙醚麻醉后,每组选取6只眼眶静脉采血,血液室温凝固50 min,2 500 r/min离心15 min,收集上层血清分装于试管中,置于-80℃冰箱中保存,备用。参照ELISA试剂盒说明书测定肥胖模型小鼠血清中TC、TG、HDL-C、LDL-C水平。以正常对照组为参考,选取120只血脂指标明显升高的高脂血症小鼠,将其随机分为4组,分别为模型组、低剂量组、中剂量组、高剂量组,每组20只,剔除造模不成功的小鼠。

实验期间,正常对照组和模型组小鼠灌胃无菌生理盐水10 mL/(kg·d),低剂量组、中剂量组、高剂量组小鼠分别灌胃紫苏水提取物3 g/(kg·d)、6 g/(kg·d)、9 g/(kg·d),连续灌胃6周^[11]。

1.4 指标测定

实验结束后,小鼠禁食不禁水16 h,摘取小鼠眼球取血,血液于室温凝固50 min,2 500 r/min离心15 min,收集上层血清分装于试管中,置于-80℃冰箱中保存,备用。参照ELISA试剂盒说明书方法测定血清中TC、TG、LDL-C、HDL-C、

MDA、SOD、CAT、GSH-Px 含量。

小鼠处死后,迅速解剖取出肝脏,用预冷生理盐水洗去血渍及组织液,滤纸吸干,肝组织匀浆,参照 ELISA 试剂盒说明书方法测定组织中 MDA、SOD、CAT、GSH-Px 含量。

1.5 数据统计分析

实验数据采用 SPSS 19.0 统计软件进行处理,计量结果均以“均数±标准差($\bar{x} \pm s$)”表示,“n”表示“每组小鼠只数”,采用单因素方差分析,不同组间与模型组的比较采用方差分析比较,以 $P<0.05$ 判断为有显著性差异, $P<0.01$ 为有极显著性差异。

2 结果与分析

2.1 小鼠高脂血症模型的建立

根据 1.2 节方法,SPF 级健康雄性小鼠 140 只,适应性饲喂基础饲料 1 周。随机选取 20 只小鼠作为正常对照组饲喂基础饲料,其余 120 只为高脂

血症组饲喂高脂饲料 8 周。于第 9 周结束时称量高脂血症组小鼠体质量,体质量增加量超过正常对照组均值 20% 为肥胖模型小鼠,剔除造模不成功小鼠。造模过程中有 96 只小鼠体质量达到标准,造模成功率为 80%;24 只小鼠未达到肥胖标准。乙醚麻醉小鼠,眼眶采血并检测小鼠血清血脂指标,其中有 88 只小鼠达到高脂血症标准,高脂血症模型成功率为 75.56%。选取 80 只成功造成高脂血症模型小鼠,将其随机分为 4 组,分别为模型组、低剂量组、中剂量组、高剂量组,每组 20 只,剔除造模不成功小鼠。

造模期间正常对照组饲喂基础饲料,高脂血症组小鼠喂食高脂饲料,诱导 8 周后,测定各组小鼠血清的血脂水平,结果见表 1。高脂血症组与正常对照组相比,小鼠血清中总胆固醇(TC)、总甘油三酯(TG)水平均提高,HDL-C 较正常对照组降低,LDL-C 较正常对照组升高,均具有极显著性差异($P<0.01$),说明高脂血症模型构建成功。

表 1 各组小鼠血清血脂水平($\bar{x} \pm s$) mmol/L

组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常对照组	0.98±0.17	3.36±0.25	1.47±0.18	0.83±0.21
高脂血症组	1.29±0.14 ^{##}	4.47±0.33 ^{##}	0.73±0.21 ^{##}	1.75±0.16 ^{##}

注:与正常对照组比较,[#]显著性差异($P<0.05$);^{##}极显著性差异($P<0.01$)

2.2 紫苏水提取物对高脂血症小鼠血脂水平的影响

高脂血症是体内血脂代谢异常所致,主要表现为血清中胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)和低密度脂蛋白(LDL-C)过高或高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)过低。由表 2 结果可知,高脂血症模型组小鼠血清中血脂代谢异常,灌服低剂量和中剂量的紫苏水提取物 6 周后可降低血清中 TC 水平,高剂量的紫苏水提取物明显降低 TC 水平($P<$

0.05)。不同剂量的紫苏水提取物均可降低小鼠血清中 TG 水平,且呈现出一定的量效关系,灌服 6 周后,小鼠血清中 TG 水平恢复到正常对照组水平。同时紫苏水提取物可降低 LDL-C 的水平,提高 HDL-C 的水平。上述结果表明,紫苏水提取物可在很大程度上改善高脂血症小鼠血脂水平,缓解机体血脂代谢紊乱,降低血清中胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇水平,提高高密度脂蛋白胆固醇水平。

表 2 紫苏水提取物对高脂血症小鼠血脂水平的影响($\bar{x} \pm s, n=20$) mmol/L

组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常对照组	2.19±0.17	1.55±0.18	2.17±0.16	0.76±0.28
模型组	3.21±0.13	3.47±0.11	1.73±0.42	1.65±0.14
低剂量组	2.63±0.25	2.62±0.22	1.92±0.45	1.03±0.23
中剂量组	2.46±0.15	1.89±0.17*	2.01±0.34	0.85±0.33*
高剂量组	2.33±0.24*	1.48±0.17**	2.03±0.29*	0.77±0.42**

注:与模型组比较,*显著性差异($P<0.05$);**极显著性差异($P<0.01$),下同

2.3 紫苏水提取物对高脂血症小鼠抗氧化能力的影响

由表 3 数据可知,高脂血症引起的过氧化损伤导致模型组小鼠血清中抗氧化活力下降,小鼠

灌服紫苏水提取物6周后小鼠血清中的SOD、CAT、GSH-Px活力均出现明显增高趋势,中剂量组和高剂量组血清中SOD分别提高到56.98 U/mL、55.47 U/mL,与模型组相比差异极显著($P<0.01$);中剂量组和高剂量组血清中CAT分别提高到25.84 U/mL、25.63 U/mL,与模型组相比差异极显著($P<0.01$);高剂量组GSH-Px提高效果最明显,到实验结束时血清中GSH-Px水平提高到94.67 nmol/mL($P<$

0.01)。与高脂血症模型组小鼠相比,高、中、低剂量组小鼠血清中MDA含量均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且随着给药剂量的增大MDA活力逐渐降低。上述结果表明,紫苏水提取物能提高小鼠血清中超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性,抑制丙二醛活力,表现出明显的抗氧化能力,且紫苏水提取物剂量越大抗氧化效果越明显。

表3 紫苏水提取物对高脂血症小鼠血清中抗氧化指标的影响($\bar{x}\pm s, n=20$)

组别	SOD (U/mL)	MDA (nmol/mL)	CAT (U/mL)	GSH-Px (nmol/mL)
正常对照组	58.65±3.64	2.79±0.44	26.91±4.16	142.45±11.07
模型组	41.02±8.15	4.51±0.33	16.29±2.14	68.19±5.92
低剂量组	51.21±7.64	3.53±0.79	17.36±2.62	72.94±5.06
中剂量组	56.98±8.62**	3.38±0.47	25.84±3.09**	88.40±6.55*
高剂量组	55.47±5.72**	3.04±0.75*	25.63±5.45**	94.67±7.10**

高脂血症引起肝脏脂质过氧化程度升高,表4结果显示,小鼠灌服紫苏水提取物6周后,与正常组小鼠相比,模型组小鼠肝脏的SOD含量显著降低,中剂量和高剂量组肝脏中SOD提高到264.49 U/mg、260.91 U/mg,与模型组相比差异极显著($P<0.01$)。与高脂血症模型组小鼠相比,高、中、低剂量组小鼠肝脏中的MDA含量均显著降低,且随着给药剂量的增大MDA活力逐渐降低。治疗后,高剂量组肝脏中CAT提高到96.03 U/mg,

与模型组相比差异极显著($P<0.01$)。低、中、高剂量组小鼠肝脏中GSH-Px有不同程度的提高,高剂量组GSH-Px提高效果最明显,到实验结束时肝脏中GSH-Px水平提高到267.10 nmol/mg,与模型组相比均有极显著差异($P<0.01$)。结果表明,紫苏水提取物能显著抑制高脂血症引起的氧化损伤,提高肝脏中超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性,抑制丙二醛活力,表现出明显的抗氧化效果。

表4 紫苏水提取物对高脂血症小鼠肝脏中抗氧化指标的影响($\bar{x}\pm s, n=20$)

组别	SOD (U/mg)	MDA (nmol/mg)	CAT (U/mg)	GSH-Px (nmol/mg)
正常对照组	269.45±21.37	3.86±0.85	98.16±7.63	367.56±31.92
模型组	179.92±19.43	7.96±1.04	78.75±6.81	188.42±17.53
低剂量组	264.49±21.67**	6.11±0.72	82.09±5.72	199.08±19.06
中剂量组	232.04±26.92*	4.63±0.59*	86.45±4.79	218.49±21.64
高剂量组	260.91±19.24**	3.96±0.67**	96.03±5.11**	267.10±22.69**

3 讨论

长期的高胆固醇、高糖饮食习惯会导致体内脂质代谢或运转异常,使血清中一种或多种脂类代谢障碍,进而引发高脂血症(Hyperlipidemia)。高脂血症主要引起的血清胆固醇(TC)或甘油三酯(TG)水平升高,过多的脂质沉积于血管壁和血管内皮细胞上,促进动脉粥样硬化的发生,同时也是诱发心血管疾病、糖尿病的危险因素之一^[12-15]。高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)将周围组

织及动脉壁上的胆固醇运送到肝脏中进行分解,并通过胆汁排到体外,减少胆固醇沉积,低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)则是将肝脏合成的胆固醇转运到全身组织^[16]。研究结果表明,低、中、高剂量的紫苏水提取物均能降低高脂血症小鼠血清中胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平,提高小鼠血清中高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平,缓解体内脂质代谢紊乱,有效抑制脂质在肝脏和动脉壁沉积^[17]。

高脂血症造成机体脂质代谢紊乱的同时引起

机体氧化与抗氧化平衡失调,即机体氧自由基产生增加而自由基相关清除酶活力下降^[18-20]。SOD是体内清除氧自由基的关键酶,反映机体清除氧自由基的能力。MDA是过氧化脂质氧化分解的产物,对细胞膜及细胞功能具有一定的损伤作用,同时干扰脂肪酸的氧化降解^[21-23]。GSH-Px是一种重要的过氧化物分解酶,抑制脂质过氧化反应对细胞的损伤。紫苏水提取物能提高小鼠血清和肝脏中过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及超氧化物歧化酶活力(SOD),抑制丙二醛(MDA)活力,对由高脂血症引起的机体脂质过氧化有显著的抑制作用,有效减少脂质过氧化物对心血管的损伤。

本研究对紫苏水提取物降血脂和抗氧化的作用机制做了初步的探讨,发现紫苏水提取物可有效降低高血脂水平,改善脂质代谢紊乱和脂质过氧化,为进一步开发利用紫苏植物资源和研制新型的功能食品、药品提供理论依据。

参考文献:

- [1] 王健,薛山,赵国华.紫苏不同部位精油成分及体外抗氧化能力的比较研究[J].食品科学,2013,34(7):86-91.
- [2] 卫生部药典委员会.中国药典[M].北京:化学工业出版社,人民卫生出版社,1985:1130-1131.
- [3] 黄明发,郭莉,郑炯,等.紫苏的研究进展[J].中国食品添加剂,2007(4):85-89.
- [4] 王玉萍,杨峻山,赵杨景,等.紫苏类中药化学和药理的研究概况[J].中国药学杂志,2003,38(4):250-253.
- [5] Fujita T, Ohra K, Miyatake K, et al. Inhibitory effect of perillones A and C, and related monoterpene glucosides on aldose reductase and their structure-activity relationships[J]. Chemical pharmaceutical bulletin, 1995, 43(6): 920-926.
- [6] 韦保耀,黄丽,滕建文,等.紫苏叶抗过敏作用的评价[J].食品科技,2006,8(11):284-286.
- [7] 蒲海燕,李影球,李梅.紫苏的功能性成分及其产品开发[J].中国食品添加剂,2009(2):133-135.
- [8] 黄丹,刘达玉.紫苏提取物抑菌特性研究[J].食品工业,2007(3):11-13.
- [9] 黄丹,严芳,刘达玉,等.紫苏提取物的特性及应用[J].安徽农业科学,2010,38(10):5094-5096.
- [10] 黄明发,郭莉,郑炯,等.紫苏的研究进展[J].中国食品添加剂,2007(4):85-88.
- [11] 梁景岩,王英歌.紫苏叶提取物抗家兔动脉粥样硬化作用研究[J].亚太传统医药,2015,11(16):18-19.
- [12] Phung O J, Baker W L, Tongbram V, et al. Oral antidiabetic drugs and regression from prediabetes to normoglycemia: a meta-analysis[J]. Annals of Pharmacotherapy, 2012, 46(4): 469-476.
- [13] Makni M, Fetoui H, Gargouri N K, et al. Hypolipidemic and hepatoprotective effects of flax and pumpkin seed mixture rich in ω -3 and ω -6 fatty acids in hypercholesterolemic rats [J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46: 3714-3720.
- [14] 谭健苗,谭少文,蒋宝瑞,等.血脂与动脉粥样硬化发展阶段的相关性[J].中国临床保健杂志,2007,10(4):336-341.
- [15] Chisolm G M, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview[J]. Free Radical Biology Medicine, 2000, 31(2): 1815-1826.
- [16] 胡文兵,赵静,陈婷婷,等.青钱柳多糖对高脂血症小鼠的降血脂作用及机制初探[J].现代食品科技,2015,31(11):39-44.
- [17] 吴坤,孙秀发.营养与食品卫生学[M].北京:人民卫生出版社,2004:85-39,87-105.
- [18] Rodriguez porcel M, Lerman A, Best P J, et al. Hypercholesterolemia impairs myocardial perfusion and permeability: role of oxidative stress and endogenous scavenging activity[J]. Journal of the American College of Cardiology, 2001, 37(2): 608-612.
- [19] Youngi S, Mceneny J. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis [J]. Biochemical Society Transactions, 2001, 29: 358-362.
- [20] Dobrian A D, Davies M J, Prewitt R L, et al. Development of hypertension in a rat model of diet-induced obesity[J]. Hypertension, 2000, 35(4): 1009-1015.
- [21] 蒋锐,姜海斌,刘柏炎,等.参七合剂对高脂血症大鼠 sLOX-1、SOD、NO 和胆汁酸代谢的影响[J].中成药,2016,38(6):1376-1379.
- [22] Stoke KY, Cooper D, Tailor A, et al. Hypercholesterolemia promotes inflammation and microvascular dysfunction: Role of nitric oxide and superoxide[J]. Free Radical Biology Medicine, 2002, 33(8): 1026-1036.
- [23] Taniyama Y, Griendling K K. Reactive oxygen species in the vasculature: Molecular and cellular mechanisms[J]. Hypertension, 2003, 42(6): 1075-1081.

(责任编辑:王昱)