

金花葵黄酮对高脂血症大鼠血脂的影响

李 芸¹, 杨秀松², 何计国^{1,*}

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2. 国家食品药品监督管理局培训中心, 北京 100073)

摘 要: 目的: 探讨金花葵黄酮对高脂血症模型大鼠血脂的影响。方法: 100 只 SD 大鼠, 按体质量随机分为 6 组; 除空白对照组外, 其余各组饲喂高脂饲料制作动物高脂血症模型; 其中金花葵黄酮分为 3、30、90mg/(kg·d) 剂量组; 阳性对照组灌胃洛伐他汀片 10mg/(kg·d); 空白对照组、阴性对照组灌胃 10mL/(kg·d) 蒸馏水, 连续 6 周。每两周测定血脂相关指标, 最后一周测定氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)。结果: 3 个剂量组大鼠血清血脂水平(总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C))及 ox-LDL 明显降低。结论: 金花葵黄酮能缓解大鼠高脂血症, 降低 ox-LDL 水平, 延缓泡沫细胞的形成和动脉粥样硬化的发生。

关键词: 金花葵; 黄酮; 高脂血症

Effect of *Abelmoschus manihot* Flavonoids on Blood Lipid Levels of Hyperlipidemic Rats

LI Yun¹, YANG Xiu-song², HE Ji-guo^{1,*}

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. Training Center of State Food and Drug Administration, Beijing 100073, China)

Abstract: Objective: To explore the effect of *Abelmoschus manihot* flavonoids on blood lipids of hyperlipidemic rats. Methods: Totally 100 SD rats were divided randomly into 6 groups: normal control group, high-fat control group, lovastatin positive control group at the dose of 10 mg/(kg·d), and flavonoid groups at low, middle and high doses (3, 30 mg/(kg·d) and 90 mg/(kg·d)). Except normal the control group, all groups were fed high-fat diet to establish a hyperlipidemia model. Normal control group and high-fat control group were given distilled water at the dose of 10 mL/(kg·d) once a day for 6 consecutive weeks. Serum TC, TG, HDL-C, LDL-C, and ox-LDL were determined after the last administration. Results: Compared with the control group, serum TC, TG, LDL-C and ox-LDL revealed a significantly reduction in all the model groups. However, no significant difference in HDL-C level was observed among these groups. Conclusion: The flavonoids can delay the formation and development of arteriosclerosis.

Key words: *Abelmoschus manihot*; flavonoids; hyperlipidemia

中图分类号: Q946.83

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)01-0248-04

金花葵(*Abelmoschus manihot*(L.)), 又名金芙蓉、菜芙蓉、野芙蓉, 为锦葵科秋葵属一年生草本植物, 在 20 世纪 80 年代末农业资源普查时被认为已灭绝, 2003 年由中国农业科学院专家在河北邢台地区发现, 具有食用、药用、保健功能, 有较高的开发利用价值^[1-2]。

研究证明, 氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)是动脉粥样硬化形成的重要中心环节^[3], 而血脂升高是导致低密度脂蛋白氧化加速和动脉粥样硬化形成的主要危险因素。因此, 预防和控制血脂升高已成为功能食品领域的研究热点之一^[4]。黄酮类化合物具有降低血脂, 减缓心血管疾病风险的作用^[5]。金花葵富含黄酮类物质, 为主要的活性成分^[6]。

本研究通过饲喂高脂饲料, 建立大鼠高血脂模型, 制备金花葵黄酮, 观察灌胃金花葵黄酮后对血脂水平、ox-LDL 水平的改变, 旨在观察金花葵黄酮是否具有降低血脂、延缓大鼠早期动脉粥样硬化形成作用。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

金花葵购买于锦州市泰和区卫生局。

总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、ox-LDL ELISA 试剂盒 北京科美生物技术有限公司。

收稿日期: 2011-03-22

作者简介: 李芸(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为降脂功能食品。E-mail: shirley8624@sohu.com

* 通信作者: 何计国(1966—), 男, 副教授, 研究方向为功能食品以及食品安全检测。E-mail: hejiguo0870@sina.com

Alpha-pure 纯水系统 上海瑞枫生物科技有限公司；YS-04 粉碎机 北京燕山正德机械设备有限公司；722S 分光光度计 上海精密仪器科技有限公司；东芝 TBA-120FR 全自动生化分析仪 日本东芝公司；THERMO-ASCENT 全自动酶标仪 美国热电公司。

1.2 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠，体质量(140 ± 10)g，100 只，由解放军军事科学院实验动物中心提供，许可证编号为 SCXK(军)2007-004。

1.3 动物饲养条件

实验动物饲养于中国农业大学食品安全技术中心 (SPF 级)；饲养温度： $20 \sim 25^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度： $40\% \sim 70\%$ ；实验动物饲喂常规饲料由解放军军事科学院实验动物中心提供。

清洁级基础饲料配方：粗蛋白 20.8%、粗脂肪 4.5%、粗灰分 6.83%、水分 10%、粗纤维 4.4%、钙 1.23%、磷 0.96%；高脂饲料配方：78.8% 基础饲料、1% 胆固醇、10% 蛋黄粉、10% 猪油、0.2% 胆盐。

1.4 方法

1.4.1 金花葵黄酮提取分离

根据夏文宽^[7]的研究，采用金花葵总黄酮的提取最佳工艺参数进行提取： 80°C 水浴，80% 乙醇作为提取溶剂，提取 2 次，每次提取 2h，干燥的金花葵粉末和提取溶剂的料液比为 1:100(m/V)，提取 pH 值为 10。采用 AB-8 大孔树脂对金花葵总黄酮进行纯化。三氯化铝法^[6]测定金花葵含量。金花葵花总黄酮的提取率为干质量的 1.7%(17mg/g 干花)。金花葵黄酮溶液于 4°C 冰箱保存备用。

1.4.2 大鼠高血脂模型的建立

大鼠 10 只/笼，适应性喂养一周后，随机选取 10 只作为空白对照组，给予基础饲料，其余 90 只连续饲喂高脂饲料两周，不限饮水。两周后，隔夜禁食 12h，内眦静脉取血，生化分析仪测定 TC、TG、LDL-C、HDL-C 含量，比较高脂饲料组与空白对照组的 TC 含量，选取高脂组中与空白对照组 TC 值存在显著性的 50 只作为模型动物。

1.4.3 分组及给药剂量

依模型大鼠的 TC 值，运用 SPSS 软件随机分组，分为阳性对照组(洛伐他汀)、黄酮高剂量组、黄酮中剂量组、黄酮低剂量组、阴性对照组，每组 10 只。

将金花葵黄酮溶液配制含黄酮 0.3mg/mL 的水溶液，作为低剂量组的灌胃剂量，每组大鼠按 10mL/kg 进行灌胃，相当于黄酮剂量为 3mg/(kg·d)。

以低剂量组 10 倍剂量为中剂量，配制含黄酮 3mg/mL 的水溶液，每组大鼠按 10mL/kg 进行灌胃，相当于黄酮

剂量为 30mg/(kg·d)。

以低剂量组 30 倍剂量为高剂量，配制含黄酮 9mg/mL 的水溶液，每组大鼠按 10mL/kg 进行灌胃，相当于黄酮剂量为 90mg/(kg·d)。

依洛伐他汀的服用量，将洛伐他汀配制成 1mg/mL 溶液，用于阳性对照组。每组大鼠按 10mL/kg 进行灌胃。

空白对照组和阴性对照组每天灌以蒸馏水。

空白对照组喂食基础维持饲料，其余受试组饲喂高脂饲料，不限饮水，喂养 6 周。

1.4.4 数据处理

采用 SPSS 16.0 软件分析，用单因素方差分析 ANOVA(one-way analysis of variance)，以 Duncan's 多种比较检验(Duncan's multiple range tests)。实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示， $P < 0.05$ 时具有显著性差异， $P < 0.01$ 时具有极显著性差异。

2 结果与分析

2.1 金花葵黄酮对大鼠血清 TC 水平的影响

表 1 金花葵黄酮对大鼠血清 TC 水平的影响($n=10$)

Table 1 Effect of *Abelmoschus manihot* flavonoids on serum TC of rats ($n=10$)

组别	血清 TC 含量/(mmol/L)			
	0 周	2 周	4 周	6 周
空白对照组	$2.23 \pm 0.22^{**}$	$1.80 \pm 0.16^{**}$	$2.04 \pm 0.17^{**}$	$1.90 \pm 0.16^{**}$
阴性对照组	3.97 ± 0.81	3.03 ± 0.56	2.92 ± 0.33	3.04 ± 0.29
阳性对照组	3.99 ± 0.82	2.75 ± 0.59	2.83 ± 0.47	$2.15 \pm 0.23^{**}$
低剂量组	3.74 ± 0.71	2.46 ± 0.32	$2.41 \pm 0.32^{**}$	$2.45 \pm 0.20^{**}$
中剂量组	3.71 ± 0.80	$2.27 \pm 0.29^{**}$	$2.43 \pm 0.18^{**}$	$2.37 \pm 0.17^{**}$
高剂量组	3.74 ± 0.78	3.06 ± 1.03	$2.44 \pm 0.31^{**}$	2.96 ± 0.64

注：*、与阴性对照组比较，有显著性差异($P < 0.05$)；**、与阴性对照组比较，有极显著性差异($P < 0.01$)。下同。

由表 1 可见，饲喂高脂饲料，造模成功后(0 周)，高脂模型鼠血清 TC 含量高于空白对照组且存在极显著性差异($P < 0.01$)，说明高脂饲料能够成功的复制高 TC 含量大鼠模型，可以用于受试物的降脂实验；灌胃金花葵黄酮 4 周后，阳性对照组和受试物各剂量组大鼠血清 TC 含量与阴性对照组相比存在极显著性差异($P < 0.01$)，表明受试物各剂量组的血清 TC 含量低于阴性对照组，说明受试物具有降低血清 TC 含量的作用。

2.2 金花葵黄酮对大鼠血清 TG 水平的影响

由表 2 可见，饲喂高脂饲料，造模成功后(0 周)，高脂模型大鼠血清 TG 含量高于空白对照组且存在极显著性差异($P < 0.01$)，说明高脂饲料能够成功的复制高 TG 含量

表5 金花葵黄酮对大鼠血清 ox-LDL 的影响(n=10)
Table 5 Effect of *Abelmoschus manihot* flavonoids on serum ox-LDL of rats (n=10)

组别	空白对照组	阴性对照组	阳性对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
ox-LDL 含量/($\mu\text{g}/100\text{mL}$)	0.235 $\pm$ 0.038*	0.250 $\pm$ 0.030	0.286 $\pm$ 0.054	0.241 $\pm$ 0.048*	0.261 $\pm$ 0.060	0.224 $\pm$ 0.031**

大鼠模型，可以用于受试物的降脂实验；实验第2周开始，阳性对照组和受试物各剂量组大鼠血清 TG 含量低于阴性对照组且存在极显著性差异($P < 0.01$)；实验后期，各剂量组 TG 水平均低于空白对照组说明受试物具有降低血清 TG 含量的作用。

表2 金花葵黄酮对大鼠血清 TG 水平的影响(n=10)
Table 2 Effect of *Abelmoschus manihot* flavonoids on serum TG of rats (n=10)

组别	血清 TG 含量/(mmol/L)			
	0周	2周	4周	6周
空白对照组	1.26 $\pm$ 0.09**	1.13 $\pm$ 0.20**	1.11 $\pm$ 0.13**	1.29 $\pm$ 0.43*
阴性对照组	1.55 $\pm$ 0.17	1.46 $\pm$ 0.24	1.54 $\pm$ 0.21	1.55 $\pm$ 0.27
阳性对照组	1.70 $\pm$ 0.35	0.65 $\pm$ 0.06**	0.73 $\pm$ 0.14**	0.64 $\pm$ 0.15**
低剂量组	1.56 $\pm$ 0.19	0.62 $\pm$ 0.14**	0.68 $\pm$ 0.17**	0.73 $\pm$ 0.18**
中剂量组	1.48 $\pm$ 0.14	0.70 $\pm$ 0.16**	0.77 $\pm$ 0.08**	0.83 $\pm$ 0.18**
高剂量组	1.52 $\pm$ 0.18	0.75 $\pm$ 0.18**	0.75 $\pm$ 0.08**	0.99 $\pm$ 0.25**

2.3 金花葵黄酮对大鼠血清 LDL-C 水平的影响

表3 金花葵黄酮对大鼠血清 LDL-C 水平的影响(n=10)
Table 3 Effect of *Abelmoschus manihot* flavonoids on serum LDL-C of rats (n=10)

组别	血清 LDL-C 含量/(mmol/L)			
	0周	2周	4周	6周
空白对照组	1.43 $\pm$ 0.14**	1.12 $\pm$ 0.09**	1.31 $\pm$ 0.11**	0.95 $\pm$ 0.09**
阴性对照组	2.48 $\pm$ 0.48	2.03 $\pm$ 0.24	2.13 $\pm$ 0.29	1.98 $\pm$ 0.35
阳性对照组	2.52 $\pm$ 0.51	1.59 $\pm$ 0.35*	1.77 $\pm$ 0.29**	1.05 $\pm$ 0.09**
低剂量组	2.27 $\pm$ 0.46	1.44 $\pm$ 0.19**	1.52 $\pm$ 0.21**	1.22 $\pm$ 0.10**
中剂量组	2.26 $\pm$ 0.54	1.29 $\pm$ 0.22**	1.52 $\pm$ 0.12**	1.17 $\pm$ 0.10**
高剂量组	2.32 $\pm$ 0.49	1.83 $\pm$ 0.59	1.54 $\pm$ 0.19**	1.47 $\pm$ 0.31**

由表3可见，饲喂高脂饲料，造模成功后(0周)，高脂模型大鼠血清 LDL-C 含量与空白对照组相比存在显著性差异($P < 0.01$)。实验第2周，低、中剂量组能显著降低血清 LDL-C 水平($P < 0.01$)；实验第4周，3个剂量组均能显著降低血清 LDL-C 水平($P < 0.01$)，各剂量组之间没有差异($P > 0.05$)；实验第6周，低、中剂量组效果优于高剂量组。说明金花葵黄酮可以有效降低血清 LDL-C 水平。

2.4 金花葵黄酮对大鼠血清 HDL-C 水平的影响

由表4可见，饲喂高脂饲料，造模成功后(0周)，模型组间不存在显著性差异性($P > 0.05$)，与空白对照组存在显著差异($P < 0.01$)。灌胃开始后，阴性对照组血

清 HDL-C 与空白对照组相比并没有持续的存在显著差异性。各剂量组对血清 HDL-C 水平影响也不显著，仅在第2周时，高剂量组与阴性对照组相比存在显著性差异($P < 0.05$)。说明金花葵黄酮在提高血清 HDL-C 水平方面效果不明显。

表4 金花葵黄酮对大鼠血清 HDL-C 水平的影响(n=10)
Table 4 Effect of *Abelmoschus manihot* flavonoids on serum HDL-C of rats (n=10)

组别	血清 HDL-C 含量/(mmol/L)			
	0周	2周	4周	6周
空白对照组	0.62 $\pm$ 0.04**	0.53 $\pm$ 0.05	0.62 $\pm$ 0.04	0.54 $\pm$ 0.05
阴性对照组	1.01 $\pm$ 0.22	0.57 $\pm$ 0.07	0.66 $\pm$ 0.05	0.67 $\pm$ 0.07
阳性对照组	1.05 $\pm$ 0.23	0.57 $\pm$ 0.11	0.67 $\pm$ 0.11	0.53 $\pm$ 0.05
低剂量组	0.96 $\pm$ 0.20	0.56 $\pm$ 0.08	0.62 $\pm$ 0.09	0.66 $\pm$ 0.05
中剂量组	0.94 $\pm$ 0.20	0.53 $\pm$ 0.09	0.59 $\pm$ 0.08	0.59 $\pm$ 0.06
高剂量组	0.96 $\pm$ 0.23	0.70 $\pm$ 0.19*	0.64 $\pm$ 0.08	0.78 $\pm$ 0.14

2.5 金花葵黄酮对大鼠血清 ox-LDL 水平的影响

实验第6周，大鼠处死，采血测得血清 ox-LDL。由表5可见，阴性对照组 ox-LDL 水平显著高于空白对照组($P < 0.05$)。低剂量组与阴性对照组相比存在显著性差异($P < 0.05$)；高剂量组与阴性对照组相比存在极显著性差异($P < 0.01$)；阳性对照组与阴性对照组差异性不显著($P > 0.05$)。说明金花葵黄酮能显著降低血清 ox-LDL 水平，能够延缓动脉粥样硬化的发生。

3 讨论

高脂血症是临床常见病、多发病。升高的血脂既是病理产物，又是心脑血管疾病发生与加重的主要因素。研究显示，冠心病患者血清胆固醇、低密度脂蛋白水平与左心功能不全呈正相关^[8]。动脉粥样硬化是当代威胁人类健康和生命安全的重要疾病，以高脂血症为代表的脂质代谢紊乱及脂质氧化是引发动脉粥样硬化的病理基础之一^[9]。动脉粥样硬化是一个慢性炎症性病变^[10]，ox-LDL 由血浆中的 LDL 经过氧化修饰形成，是粥样斑块的特征性成分之一。ox-LDL 可通过多方面作用促进动脉粥样硬化发生发展^[11]。其机制有^[12]：趋化作用，促进循环中白细胞黏附于血管内皮以及单核细胞进入内皮下层；ox-LDL 不被 LDL 受体识别，清道夫受体加速 ox-LDL。动脉粥样硬化斑块中泡沫细胞内的胆固醇主要是以胆固醇酯的形式存在，并主要来源于血浆脂蛋白中的 LDL^[13]。

生物黄酮的功能早已被医学界所公认,它在治疗心脑血管缺氧、缺血,增进人体代谢中抗氧化功能,以及缓解抑郁紧张症状等方面都有显著效果。心脑血管疾病是当今世界公认的十大疾病杀手之一,而生物黄酮则被称为心脑血管疾病的克星^[7]。

本研究从富含黄酮的金花葵中提取制得黄酮提取液,通过饲喂高脂饲料,建立大鼠高血脂模型,同时给药组给以3个剂量的金花葵黄酮提取液。金花葵黄酮提取液对高血脂大鼠的血清TC、TG、LDL-C均有显著降低作用,但对HDL-C影响不大,说明金花葵黄酮主要是通过降低TC、TG、LDL-C含量,而不是通过升高HDL-C水平发挥降低血脂的作用。HDL-C是冠心病的保护因素,具有抗动脉粥样硬化作用。单独升高HDL-C水平可以降低冠心病发生率。HDL-C具有调节体内组织胆固醇库的作用,它能将周围组织和动脉壁上的胆固醇吸收下来,并把它运输到肝脏中代谢,从胆汁排出。因此HDL-C可防止脂质在动脉壁上沉积,防止脂肪在肝内堆积,具有抗动脉硬化和抗脂肪肝的作用^[14]。但在本研究中金花葵黄酮没有提高HDL-C的直接作用,这方面的问题有待今后的研究中进一步探讨。

金花葵黄酮能降低高血脂症大鼠血清ox-LDL水平,可能是通过降低血脂LDL水平及抑制LDL氧化从而降低血清ox-LDL水平。金花葵黄酮可以通过降低血清脂质水平,提高机体抗氧化能力,进而减少LDL的氧化修饰,从而起到延缓动脉粥样硬化发生的作用。推测原因可能是金花葵黄酮能增强清除自由基能力,抑制LDL氧化。

另外,血清脂质过氧化反应可诱导炎症因子及炎症反应^[15],因此金花葵黄酮的抗氧化作用及降低炎症因子水平的研究具有重要意义,在今后的实验中有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 彭志兵,吴正平. 高效液相色谱-质谱法分析金花葵中金丝桃苷[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(23): 10028-10029.
- [2] 刘临. 原子吸收光谱法测定金花葵中微量元素[J]. 微量元素与健康研究, 2008, 25(4): 17-29.
- [3] PETTT L, LESNIK P, DACHET C, et al. Tissue factor pathway inhibitor is expressed by human monocyte-derived macrophages: relationship to tissue factor induction by cholesterol and oxidized LDL[J]. Arterioscler Thromb Vaac Biol, 1999, 19(2): 309-315.
- [4] MURRAY C J L, LOPEZ A D. Mortality by cause for eight regions of the world: global burden of disease study[J]. Lancet, 1997, 349: 1269-1276.
- [5] 李楠, 刘元, 侯滨滨. 黄酮类化合物的功能特性[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(6): 139-141.
- [6] 吴名全, 雷波. 金花葵中总黄酮的提取纯化及含量测定[J]. 农技服务, 2009, 26(10): 127-138.
- [7] 夏文宽. 菜芙蓉花总黄酮的提取与抗氧化活性研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2007.
- [8] 林泽鹏, 张治伟, 金光临, 等. 冠心病患者血脂和脂蛋白水平及与心功能的关系[J]. 中国康复理论与实践, 2005, 11(6): 427-428.
- [9] 王敏, 魏益民, 高锦明. 苦荞麦总黄酮对高血脂大鼠血脂和抗氧化作用的影响[J]. 营养学报, 2006, 28(6): 502-509.
- [10] LIBBY P. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms[J]. Am J Clin Nutr, 2002, 83(2): 456S-460S.
- [11] PARTHASARATHY S, RANKIN S M. The role of oxidized LDL in atherogenesis[J]. Prog Lipid Res, 1992, 31: 127-143.
- [12] JUDITH A, BERLITER, ANDHEW D W. The role of oxidized lipoprotein in atherosclerosis[J]. Free Radic Biol and Med, 1996, 20(5): 707-727.
- [13] CANAVESI M, BALDINI N, LEONARDI A, et al. *in vitro* inhibitory effect of lereanidipine on cholesterol accumulation and matrix metalloproteinases secretion by macrophages [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2004, 44(4): 416-422.
- [14] 王继峰, 李峨, 李贡宇, 等. 大豆总黄酮对实验性大鼠高血脂症及脂肪肝的治疗作用[J]. 中国医药学报, 2001, 16(1): 23-27.
- [15] SANEHEZ PEREZ M J, GONZALEZ R E, SANTOLARIA F F, et al. Lipid peroxidation and serum cytokines in acute alcoholic hepatitis[J]. Alcohol, 2006, 41(6): 593-597.