

doi: 10.11830/ISSN.1000-5013.201705035



楮实子油对大鼠血脂和脂肪组织的影响

王国权^{1,2}, 庞素秋³, 刘蒲^{1,2}, 李永⁴, 林俊生^{1,2}, 刁勇^{1,2}

(1. 华侨大学 生物医学学院, 福建 泉州 362021;

2. 华侨大学 医学院, 福建 泉州 362021;

3. 中国人民解放军第 180 医院 临床药学科, 福建 泉州 362000;

4. 华侨大学 化工学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 探讨楮实子油(FBO)的脂肪酸的化学组成及其对大鼠血脂和脂肪组织的影响. 首先,用气相色谱与质谱联用(GC-MS)法对 FBO 脂肪酸化学成分进行分析测定;然后,给 48 只雄性 Wistar 大鼠饲喂含胆固醇和 FBO 的饲料 28 d,以空白对照和辛伐他汀分散片阳性药对照比较 FBO 对大鼠血脂指标和脂肪组织的影响. 结果表明:GC-MS 法测定出 FBO 中的 11 个化合物,主要成分为亚油酸(67.03%)、棕榈酸(30.53%)、亚麻酸(1.45%)和 δ -生育酚;FBO 可显著降低高脂模型大鼠肝脏及脂肪组织的质量,降低甘油三酯、总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)浓度,升高高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)的浓度. 此外,FBO 中 68% 以上为多不饱和脂肪酸,并含有少量强抗氧化剂 δ -生育酚(0.54%),二者可能是影响高脂模型大鼠有调节血脂和抑制皮下脂肪组织聚集作用的主要成分.

关键词: 楮实子油; 多不饱和脂肪酸; δ -生育酚; 血脂; 脂肪组织; 大鼠

中图分类号: R 285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-5013(2017)05-0682-05

Effects of Fructus Broussonetiae Oil on Blood Lipids and Adipose Tissue in Rats

WANG Guoquan^{1,2}, PANG Suqiu³, LIU Pu^{1,2}, LI Yong⁴,
LIN Junsheng^{1,2}, DIAO Yong^{1,2}

(1. School of Biomedical Sciences, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China;

2. School of Medicine, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China;

3. Department of Clinical Pharmacy, The 180th Hospital of People's Liberation Army, Quanzhou 362000, China;

4. School of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China)

Abstract: The chemical compositions of fructus broussonetiae oil (FBO) and the effects of dietary FBO on the plasma lipids and adipose tissue were investigated in this study. The chemical composition of FBO fatty acid was determined by gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS). Then the effects of FBO on lipid indexes and adipose tissue of 48 male Wistar rats who were fed with diet containing FBO and cholesterol for 28 days were compared using blank control and simvastatin dispersible tablets as positive control. The results showed that eleven compounds were identified from FBO, with the main ingredients of linoleic acid (67.03%), hexadecanoic acid (30.53%), linolenic acid (1.45%), and delta-tocopherol. The FBO could significantly decrease the adipose tissue weight, and the concentrations of triacylglycerol, total cholesterol and low-density li-

收稿日期: 2017-05-18

通信作者: 庞素秋(1972-),女,副主任药师,博士,主要从事天然药物研发的研究. E-mail:1074730795@qq.com.

基金项目: 福建省泉州市科技计划项目(200712Z)

poprotein cholesterol (LDL-C), whereas increase the concentration of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C). In addition, more than 68% of FBO were multiple unsaturated fatty acids, and contained a small number of powerful antioxidant delta- tocopherol (0.54%), both of which might be the main ingredients which could regulate blood lipid and inhibit the aggregation in subcutaneous adipose tissue of the high fat model rats.

Keywords: fructus broussonetiae oil; polyunsaturated fatty acids; δ -tocopherol; plasma lipids; adipose tissue; rat

楮实子(fructus broussonetiae)为桑科构树属构树(*Broussonetia papyrifera*)的干燥成熟果实^[1],具有补肾、清肝、明目、利尿的功效,临床上用于治疗腰膝酸软、虚劳骨蒸、头晕目昏、目生膜、水肿胀满,还可以治疗顽癣、神经性皮炎、湿疹等皮肤病.楮实子不仅具有开发治疗老年性疾病新药的潜力,还可以制成美容保健类的产品^[2].文献[3-4]的前期研究中已发现楮实子中的多个活性部位和成分,以及生物活性.Li等^[5]发现楮实子提取物具有改善阿尔茨海默病模型认知功能.此外,有文献记载及现代研究均证实楮实子中含大量的不饱和脂肪酸^[6-7].本文用气相色谱与质谱联用(GC-MS)法对楮实子油(FBO)成分进行分析,并探讨楮实子油对大鼠血脂和脂肪组织的影响.

1 实验部分

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂 楮实子于2015年8月采自福建省泉州市清源山(东经118°30′21″,北纬24°55′39″),性状特征参照文献经鉴定为桑科植物构树的成熟果实^[8].楮实子油于动物实验前用吐温-80、蒸馏水配制成质量浓度分别为12.5,25.0,50.0 g·L⁻¹的乳浊液.辛伐他汀分散片(阳性对照药物),广州南新制药有限公司生产,批号SST01204,用吐温-80和蒸馏水配制成质量浓度为0.2 g·L⁻¹的乳浊液.胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒,购自日本协和医药株式会社(Kyowa Medex).高脂饲料配方:质量分数分别为90.3%基础饲料,2.0%胆固醇,0.5%胆盐,0.2%丙基硫氧嘧啶和7.0%猪油.石油醚(沸程30~60℃)、乙醚、氢氧化钾与甲醇,均为分析纯.

1.1.2 主要仪器 7980型气相色谱仪、5975型质谱仪、MSD Chemstation D.03.00.611型色谱数据处理系统,均为美国Agilent公司产品;质谱检索数据库为NIST MS Search 2.0;AS3000型自动进样器;索氏提取装置;旋转蒸发装置:EYELA N-1100型旋转蒸发仪,EYELA OSB-2100型水浴锅,EYELA SCA-111型冷却水循环装置,均为日本东京理化器械上海爱朗仪器有限公司产品;SHZ-D(Ⅲ)型循环水式真空泵,河南省巩义市予华仪器有限公司产品;JA2003A型电子分析天平,上海精天电子仪器有限公司产品;全自动生化分析仪,美国Beckman公司产品.

1.1.3 实验动物 Wistar大鼠48只,雄性,一级动物,体质量为(160±20)g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,生产许可证号:SCXK(沪)2016-0002.

1.2 实验方法

1.2.1 提取楮实子油 按文献[9-10]的方法将楮实子干燥后粉碎,准确称取10.0g,用滤纸包好放入索氏提取器中,加入150 mL无水乙醚;连接好冷凝装置,放入40℃水浴中回流提取8h,待冷却过滤后,将得到的提取液置于真空旋转蒸发仪回收溶剂;得到橙黄色澄清油状液体,即FBO,保存于-4℃冰箱中备用.为精确计算出油率,取平行试验中的1份放入105℃烘箱中干燥至恒质量,经计算,出油率为30.97%.

1.2.2 FBO样中的脂肪酸组成测定 采用GC-MS法,色谱柱为Agilent HP-5 MS石英毛细管柱(柱尺寸:30.00 m×0.25 mm×0.25 μm).质谱检测器:EI电离源、电离电压为70 eV、源温为200℃,发射电流为150 μA,质荷比(*m/z*)扫描范围为50~550,扫描周期为0.5 s.数据采集扫描模式为全扫描,溶剂延迟时间为1 min.程序升温:起始温度70℃保持3 min,以5℃·min⁻¹速度升温至180℃,保持5 min,再以4℃·min⁻¹速度升温至260℃,保持10 min.进样口温度为250℃,进样体积为0.5 μL,分流进样,分流比为30:1.载气He的流量为1 mL·min⁻¹.峰面积归一化法计算各化合物的相对含量.

1.2.3 动物血脂及相关指标测定 雄性 Wistar 大鼠 48 只,室温 20~24 ℃,自然光照,自由进食、饮水,每笼 8 只,在实验环境下大鼠喂饲基础饲料观察 1 周,随机分为 6 组. A 组为空白对照组喂普通饲料,灌胃给吐温-80 乳浊液,其余组喂高脂饲料;B,C,D 组按每千克大鼠体质量分别灌胃给予 10 mL 质量浓度为 12.5,25.0,50.0 g·L⁻¹的楮实子油/吐温-80 乳浊液;E 组按每千克大鼠体质量分别灌胃给予 10 mL 质量浓度为 0.2 g·L⁻¹的辛伐他汀分散片/吐温-80 乳浊液(大鼠的等效剂量相当于人类正常给药剂量的 6.3 倍^[11]);F 组灌胃给予同质量的吐温-80 乳浊液.

给药处置前进行眼眶采血,测血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)的质量浓度;然后,每日给药 1 次,连续 4 周,并进行眼眶采血测其 TC,TG,LDL-C,HDL-C 的质量浓度;最后,处死动物,称其体质量,并取其肝、心、肾周脂肪及附睾脂肪称量,计算脏器/体质量比值,即脏体系数.

1.2.4 统计学方法 实验数据以 ($\bar{x}\pm s$)表示,采用 SPSS 16.0 软件进行单因素方差分析,各组均数之间比较使用 *t* 检验.

2 结果与分析

2.1 楮实子油中的脂肪酸 GC-MS 分析结果

通过 GC-MS 法测定出楮实子油中脂肪酸成分,如表 1 所示. 表 1 中:*t* 为保留时间;*w* 为质量分数. 由表 1 可知:楮实子油中共有 11 种化合物,主要成分分别为亚油酸(67.03%),棕榈酸(30.53%)和亚麻酸(1.45%),即饱和脂肪酸占比 30.57%,多不饱和脂肪酸占比 68.48%,多不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比值(P/S 值)为 2.24.

由表 1 还可知:FBO 中还被测出含有质量分数为 0.54%的 δ -生育酚,以及少量的植物醇及烯醛类成分.

表 1 楮实子油中脂肪酸成分
Tab. 1 Chemical constituents and contents of fructus broussonetiae oil

化合物名称	英文名	CAS 号	<i>t</i> /min	<i>w</i> /%
正己酸	n-caproic acid	142-62-1	4.274	0.01
反式-4-壬烯醛	trans-4-noneral	2277-16-9	5.508	0.02
正辛酸	n-caprylic acid	124-07-2	6.115	0.03
反式-2,4-癸二烯醛	(E,E)-2,4-decadienal	25152-84-5	7.175	0.01
叶绿醇	phytol	102608-53-7	10.570	0.01
棕榈酸	palmitic acid	1957-10-3	11.290	30.53
棕榈酸乙酯	palmitic acid ethyl ester	628-97-7	11.350	0.33
亚油酸	linoleic acid	60-33-3	12.211	67.03
亚油酸乙酯	linoleic acid ethyl ester	7619-08-1	12.278	0.04
亚麻酸	linoleinic acid	463-40-1	13.598	1.45
δ -生育酚	δ -tocopherol	119-13-1	16.320	0.54

2.2 楮实子油对大鼠体质量、脏器及脏体系数的影响

楮实子油对大鼠体质量、脏器及脏体系数的影响(*n*=8),如表 2 所示. 由表 2 可知:通过对各实验组与空白组的比较,除阳性药对照组动物体质量增长不明显外(*P*>0.05),其余各组动物体质量均显著增长(*P*<0.05);与高脂模型组比较,动物体质量增长均显著低于模型组(*P*<0.05),这说明楮实子油对高脂血症动物模型大鼠的体质量增加有明显抑制作用. 各剂量组对动物体质量的影响并未呈现剂量依赖关系,其中,25.0 g·L⁻¹实验组动物体质量表现出比其他剂量组略有升高. 该现象是否与饮食中的脂肪酸的配比有关,有待进一步研究.

实验结束时,阳性药对照组和楮实子油各剂量组与高脂模型组比较,可明显降低受试动物的肝脏、肾周脂肪和附睾脂肪的质量(*P*≤0.05,或 *P*≤0.01);除 12.5 g·L⁻¹的 FBO 实验组对肝脏系数无明显影响外,FBO 各剂量组对肝脏系数、肾周脂肪系数与附睾脂肪系数均有明显降低,表明 FBO 对高脂血症动物模型大鼠的脂肪聚集有抑制作用(*P*≤0.05,或 *P*≤0.01).

表 2 楮实子油对大鼠体质量、脏器及脏体系数的影响
Tab. 2 Effects of fructus broussonetiae oil on body mass, organ and viscera in rats

体脂 相关指标	空白组	高脂饲料组	辛伐他汀组	FBO 剂量组/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$		
				50.0	25.0	12.5
体质量/g	205.40±16.60	230.90±30.10 ^a	209.40±14.60 ^b	217.80±14.80 ^b	218.00±26.90 ^{a,b}	211.50±19.30 ^{a,b}
肝脏质量/g	7.83±0.65	10.56±1.57 ^a	7.99±1.33 ^b	8.02±0.04 ^b	8.14±0.91 ^b	8.71±0.91 ^b
肝脏系数	3.81±0.28	4.57±0.14 ^a	3.82±0.33 ^b	3.68±0.09 ^b	3.74±0.47 ^b	4.12±0.29
心脏/g	0.85±0.11	0.89±0.09	0.82±0.13	0.82±0.11	0.88±0.18	0.86±0.14
心脏系数	0.41±0.05	0.38±0.03	0.39±0.07	0.38±0.02	0.40±0.09	0.42±0.08
肾周脂肪/g	2.20±0.41	3.96±0.30 ^c	2.14±0.13 ^d	2.09±0.03 ^d	2.21±0.28 ^d	2.38±0.04 ^d
肾周脂肪系数	1.07±0.01	1.71±0.03 ^d	1.02±0.06 ^d	0.97±0.01 ^d	1.01±0.03 ^d	1.12±0.02 ^b
附睾脂肪/g	2.24±0.37	3.34±0.15 ^a	2.10±0.22 ^b	1.98±0.05 ^d	2.01±0.36 ^b	2.03±0.07 ^b
附睾脂肪系数	1.09±0.17	1.45±0.06 ^a	1.01±0.13 ^b	0.91±0.09 ^b	0.92±0.21 ^b	0.96±0.10 ^c

a) 与空白组比较, $P \leq 0.05$; b) 与高脂组比较, $P \leq 0.05$; c) 与空白组比较, $P \leq 0.01$; d) 与高脂组比较, $P \leq 0.01$.

2.3 楮实子油对大鼠血脂生化指标的影响

楮实子油对大鼠血脂生化指标的影响,如表 3 所示.由表 3 可知:与空白组比较,高脂模型组大鼠血清的 TG 和 TC 的质量分数均显著升高,HDL-C 则显著降低($P \leq 0.05$,或 $P \leq 0.01$);与高脂模型组比较,辛伐他汀组及 FBO 高、中、低剂量组的大鼠血清 TG 和 TC 的质量分数均显著降低,而 HDL-C 则显著升高($P \leq 0.05$,或 $P \leq 0.01$);与阳性对照药辛伐他汀比较,FBO 质量分数为 25.0,50.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的两个剂量组在降低大鼠血清 TG 效果方面无明显差异.说明,FBO 对高脂血症动物模型大鼠有一定的降血脂作用.

表 3 楮实子油对大鼠血脂生化指标的影响
Tab. 3 Effects of fructus broussonetiae oil on blood lipid biochemical indexes in rats

组别	$\rho_{\text{TG}}/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\rho_{\text{TC}}/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\rho_{\text{HDL-C}}/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\rho_{\text{LDL-C}}/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$
空白组	0.76±0.11	1.18±0.19	1.18±0.02	0.58±0.06
高脂饲料组	1.23±0.22 ^a	2.26±0.09 ^b	1.04±0.03 ^b	0.67±0.04
辛伐他汀组	0.75±0.31 ^c	1.29±0.03 ^d	1.75±0.08 ^d	0.47±0.02 ^c
12.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ FBO 组	0.94±0.02 ^{c,e}	1.68±0.08 ^{d,f}	1.25±0.07 ^{c,f}	0.61±0.10
25.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ FBO 组	0.88±0.17 ^d	1.64±0.06 ^{d,e}	1.39±0.02 ^{c,f}	0.57±0.03
50.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ FBO 组	0.79±0.34 ^d	1.51±0.03 ^{d,e}	1.42±0.02 ^{c,e}	0.58±0.03

a) 与空白组比较, $P \leq 0.01$; b) 与空白组比较, $P \leq 0.05$; c) 与高脂组比较, $P \leq 0.05$; d) 与高脂组比较, $P \leq 0.01$;
e) 与辛伐他汀组比较, $P \leq 0.05$; f) 与辛伐他汀组比较, $P \leq 0.01$.

3 讨论

楮实子作为补益中药使用已有上千年的历史,文中实验证实其含有大量脂肪酸,质量分数约占 30%,其中,68%以上为亚油酸和亚麻酸,均为多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids,PUFA).文中测定到 FBO 的 11 个成分,与文献[7]的报道基本一致,亚油酸和亚麻酸这两个主成分也大致相同,但远不及文献[6]报道的成分多.这可能与后者的超临界 CO₂ 流体萃取率较高有关.

实验中发现 FBO 具有调节血脂及抑制脂肪聚集作用是与富含 PUFA 有密切联系的. PUFA 是指含有两个及以上双键的长链脂肪酸,在机体内具有广泛的生理功能和生物学效应.具有维护生物膜的结构和功能、治疗心血管疾病、抗炎、抗癌,以及促进大脑发育、减肥等功能^[12].据报道,日本粮食中添加 PUFA 能抑制动物生脂酶基因的表达和增加脂肪分解相关酶基因的表达,从而调节体脂代谢^[13].研究证实,PUFA 可能是通过增加肝的 AMPK 和 PPAR- γ mRNA 表达而发挥减轻体质量及抑制体脂聚集的降脂效果^[14].本实验中 FBO 含有质量分数 68%的 PUFA,并可明显降低受试动物的肝脏、肾周脂肪和附睾脂肪的聚集.

通过实验可知,本实验楮实子油中含有 0.54%的 δ -生育酚.生育酚,又称维生素 E,是存在于细胞系统内较强的抗氧化剂,具有降低肝细胞膜脂质过氧化损伤作用^[15].VE 主要分布于线粒体,可改善线

粒体功能,促进氧化磷酸化,加速脂肪氧化,有降低血浆胆固醇和甘油三酯含量的作用,是维持体内血脂稳定的一个重要因素.研究表明,核桃油复合 VE 能显著降低雄性高脂血症大鼠血中的 TC 和 LDL-C,而高剂量核桃油复合 VE 还能升高其血浆 HDL-C 值,提高动物的抗动脉粥样硬化指数^[16].因此,楮实子油随着剂量的增大,表现出较好的对高血脂模型大鼠降低 TC,TG,LDL-C 值,以及升高 HDL-C 值的作用,具有非常全面的调节血脂的功效,以此来达到预防血栓形成、降低血管动脉粥样硬化发病率.

楮实子原植物构树在全国分布广泛,野生资源丰富,果实含油高,得油率也很高.综上可知,FBO 在保健食品和药品领域具有较好的应用价值和前景,有待进一步开发应用研究.

参考文献:

[1] 陶弘景. 名医别录[M]. 北京:人民卫生出版社,1986:414.

[2] 张尊祥,戴新民,杨然,等. 楮实对老年痴呆血液 LPO、SOD 和脂蛋白的影响[J]. 解放军药学报,1999,15(4):5-7. DOI:10.3969/j.issn.1008-9926.1999.04.002.

[3] PANG Suqiu,WANG Guoquan,HUANG Baokang,*et al.* Isoquinoline alkaloids from *Broussonetia papyrifera* fruits [J]. Chemistry of Natural Compounds,2007,43(1):100-102. DOI:10.1007/s10600-007-0042-0.

[4] PANG Suqiu,WANG Guoquan,LIN Junsheng,*et al.* Cytotoxic activity of the alkaloids from *Broussonetia papyrifera* fruits[J]. Pharmaceutical Biology,2014,52(10):1315-1319. DOI:10.3109/13880209.2014.891139.

[5] LI Yinghong,HU Li,WU Zhengzhi,*et al.* Fructus broussonetae extract improves cognitive function and endoplasmic reticulum stress in Alzheimer's disease models[J]. Neural Regeneration Research,2011,6(30):2325-2331. DOI:10.3969/j.issn.1673-5374.2011.30.001.

[6] 袁晓,袁萍. 超临界二氧化碳萃取楮实子油化学成分的研究[J]. 中草药,2005,36(8):1136-1138. DOI:10.3321/j.issn:0253-2670.2005.08.006.

[7] ZHAO Hongfang,HUANG Linzhang,QIN Luping,*et al.* Antioxidative and anti-inflammatory properties of Chushizi oil from fructus broussonetiae[J]. Journal of Medicinal Plants Research,2011,5(28):6407-6412. DOI:10.5897/JM-PR11.447.

[8] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:315.

[9] 谭亚芳. 紫苏子油中脂肪酸组成的分析[J]. 中国药学杂志,1998,33(7):400-402. DOI:10.3321/j.issn:1001-2494.1998.07.005.

[10] 徐伟东,陈钢,李丽珍. 气相色谱法测定大豆油中脂肪酸组分的方法改进[J]. 中国药学杂志,2003,38(5):379-381. DOI:10.3321/j.issn:1001-2494.2003.05.022.

[11] 徐叔云,卞如廉,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:203.

[12] 蔡双莲,李敏. 多不饱和脂肪酸的研究进展[J]. 生命科学研究,2003,7(4):289-292. DOI:10.3969/j.issn.1007-7847.2003.04.002.

[13] 赵华,王康宁. 多不饱和脂肪酸对动物体脂沉积及其基因表达的影响[J]. 动物营养学报,2004,16(1):1-5. DOI:10.3969/j.issn.1006-267X.2004.01.001.

[14] 贾曼雪,薛楠,曹子鹏,等. 多不饱和脂肪酸不同配比对大鼠血脂影响[J]. 中国公共卫生,2009,25(3):348-350. DOI:10.3321/j.issn:1001-0580.2009.03.026.

[15] 陈建斌,饶邦复. 抗氧化剂的研究进展[J]. 心血管病学进展,1995,16(3):153-155.

[16] 杨栓平,常学锋,王志平,等. 核桃油和核桃油复合维生素 E 对大鼠血浆脂质的影响[J]. 营养学报,2001,23(3):267-270. DOI:10.3321/j.issn:0512-7955.2001.03.020.

(责任编辑:黄仲一 英文审校:刘源岗)