

天麻乙醇提取物辅助降血脂保健功能评价*

孙 航, 代 蓉, 宁 珑, 何芳雁[△]

(云南中医药大学中药学院, 云南 昆明 650500)

摘要: **目的** 进行天麻提取物辅助降血脂的功能评价。**方法** 大鼠随机分为正常组、模型组、辛伐他汀组(4 mg/kg)、天麻乙醇提取物高(1 g/kg)、低(0.2 g/kg)剂量组,正常组普通饮食,其余各组通过高脂饮食复制大鼠高脂血症模型,连续给药 120 d。给药结束,测定大鼠的血脂(TG、TC、HDL-C、LDL-C)、肝功能(AST、ALT)并观察肝组织病理损伤情况。**结果** 与正常组比较,模型组 TC、LDL-C 明显升高($P<0.05$);与模型组比较,天麻提取物高剂量组能降低模型大鼠 TC、LDL-C 水平($P<0.05$),降低血清及肝组织中 AST 及肝组织 ALT 水平($P<0.05$)。天麻提取物低剂量组仅能降低大鼠血清中 LDL-C 及肝组织 AST、ALT 水平($P<0.05$),天麻提取物给药后能减轻肝组织损伤。**结论** 天麻提取物能降低血脂水平,减轻肝脏病变程度,说明天麻提取物具有辅助降血脂功能。

关键词: 天麻;高脂血症模型大鼠;降血脂

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2020)06-0006-06

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2020.06.002

Evaluation on the Health Function of Gastrodiae Rhizoma Extracts in Reducing Blood Lipid

SUN Hang, DAI Rong, NING Long, HE Fangyan

(School of Chinese materia medic, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: **Objective** To evaluate the function of extracts from Gastrodiae Rhizoma in reducing blood lipid. **Methods** Rats were randomly divided into normal group, model group, simvastatin group (4 mg/kg), Gastrodiae Rhizoma extracts high dose group (1 g/kg), low dose group (0.2 g/kg). The normal group was fed with normal diet, and the other groups were fed with high-fat diet, the treatment were lasted for 120 d. At the end of the treatment, lipid levels (TG, TC, HDL-C, LDL-C) and liver AST, ALT were measured, also liver histological changes were observed. **Results** Compared with the normal group, TC and LDL-C in the model group increased significantly ($P<0.05$). Compared with the model group, the high dose group of Gastrodiae Rhizoma extracts decreased the levels of TC and LDL-C ($P<0.05$). It was also reduced the levels of serum (AST), liver tissue AST and ALT ($P<0.05$). The low dose group of Gastrodiae Rhizoma extracts only decreased the LDL-C level in serum and the levels of AST, ALT in liver tissue ($P<0.05$). Both Gastrodiae Rhizoma extracts groups were able to improve liver tissue damage. **Conclusion** It is suggested that the Rhizoma Gastrodiae extracts could reduce the level of blood lipid and improve liver injury, have the function in reducing blood lipid.

KEY WORDS: Gastrodiae Rhizoma; hyperlipidemia model rats; reducing blood lipid

世界卫生组织 2017 年的数据显示,2015 年全球因心血管病死亡的人数约 1 770 万,占全球死亡人数的 31%,预计到 2030 年,因心血管病死亡的人数将

会达到 2 360 万^[1-2]。我国国家心血管病中心发布的《中国心血管病报告 2018》也指出,我国心血管病患病人达 2.9 亿,位于城乡居民致死性疾病的首位,

收稿日期: 2020-10-16

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81660677);云南省科技厅-云南中医学院中医联合重点项目[2018FF001(-007)、2017FF117(-004)];云南省科技厅-云南中医学院中医联合青年项目[2018FF001(-074)]

第一作者简介: 孙航(1997-),女,在读硕士研究生,研究方向:中药药理学。

[△]通信作者: 何芳雁, E-mail: 735137511@qq.com

其农村、城市死亡率分别为45.50%、43.16%,且呈逐年上升趋势^[3]。高脂血症是心血管病的主要诱因之一^[4-5],因此对高脂血症人群进行早期干预以预防心血管事件的发生具有重要意义。

《本草纲目》记载:天麻,性味甘平,入肝经,有息风、定惊、肢益气力、补五劳七伤通血脉的作用。天麻为云南道地药材,2018年国家卫生健康委员会将其纳入药食同源目录。现有文献报道,天麻细粉能有效调控糖脂代谢,具有显著的降血脂作用,提示天麻在降血脂方面具有作为保健品开发的潜在价值^[6-7]。由于天麻中含有大量淀粉,仅以天麻打粉后单用,或作为原料组成复方,可能会减弱天麻的药效^[8]。本实验采用70%的食用乙醇提取,制备天麻提取物,参照2003年版《保健食品检验与评价技术规范》^[9],通过高脂饮食诱导复制大鼠高脂血症模型,检测血脂4项及肝组织病理损伤情况,以评价天麻提取物辅助降血脂的功能。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SD大鼠300只,清洁级,体质量(200±20)g,雌雄各半。由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,批号43004700019312。适应性饲养3d,饲养环境要求温度18~24℃,相对湿度40%~60%。

1.2 药物与试剂 云南昭通彝良小草坝天麻,以70%食用乙醇提取的方法制备得到天麻提取物;辛伐他汀片(山东鲁抗医药集团赛特有限公司,批号:20141204);甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)检测试剂盒,均购于南京建成生物工程研究所(批号分别为:20170726、20170809、20170718、20170819、20171007、20171124);高脂饲料(77.8%基础饲料+2%胆固醇+10%猪油+10%蛋黄粉+0.2%胆盐)委托昆明市艾尼莫实验动物养殖中心制作,生产许可证为SCXK(滇)K2012-0003。

酶标仪(Infinite M2000 PRO);数显恒温水浴锅(HH-S24);分析天平(XS125A);低温高速离心机(cf16RXII)。

1.3 实验方法

1.3.1 给药剂量 参照2003年版《保健食品检验与评价技术规范》,做功能性筛选的动物实验剂量一般

不高于人体推荐量的2/3,不低于人体推荐量的1/3,且其中一个剂量应相当于人体推荐摄入量(折算为每公斤体重的剂量)的5倍(大鼠)或10倍(小鼠),且最高剂量不得超过人体推荐摄入量的30倍(特殊情况除外),受试样品的功能实验剂量必须在毒理学评价确定的安全剂量范围内。故本实验设置大鼠高剂量组为人体推荐量的25倍,即1.425g生药/kg(1g提取物/kg),低剂量组为人体推荐量的5倍,即0.285g生药/kg(0.2g提取物/kg)。

1.3.2 动物分组及给药 将大鼠随机分为5组,即正常组(等体积蒸馏水)、模型组(等体积蒸馏水)、阳性药(辛伐他汀,4mg/kg)、天麻提取物高剂量组(天麻提取物,1g/kg)、天麻低剂量组(天麻提取物,0.2g/kg),各组动物以1mL/100g灌胃体积连续灌胃120d,每天灌胃1次。除正常组外,其他各组均通过饲喂高脂饲料建立高脂血症模型,连续饲养120d,每隔30d通过眼底静脉丛取血1.5mL,4000r/min离心10min取血清,测定各组动物血脂4项(TG、TC、HDL-C、LDL-C)的含量,以评价高脂血症模型复制情况,直至模型复制成功1周后处死动物进行指标检测。

1.3.3 血脂4项及ALT、AST水平检测 给药前1d将大鼠禁食12h后,腹主动脉取血6mL,静置30min,4000r/min离心10min,取上清液分别测定动物血脂四项及血清ALT、AST水平。充分研磨新鲜肝左叶用于制备10%肝匀浆,4000r/min离心10min后,取上清液测肝匀浆中ALT、AST水平;肝右叶用于组织病理学观察。

1.3.4 肝组织病理损伤情况 迅速剥离大鼠肝脏,在冰生理盐水中冲洗后,滤纸上拭干水分,对其进行拍照,观察各组大鼠肝脏外观变化。分取右叶肝组织,将大鼠肝右叶置于4%多聚甲醛溶液中,4℃冰箱中固定过夜。次日取厚度不大于5mm的组织块放入镂空铝盒中,以流动水浸泡2h以上。依次梯度乙醇脱水、二甲苯透明、浸泡石蜡。石蜡包埋固定,3h后做连续切片,切片厚度为5μm。将切片置于59~62℃烤箱内烘烤20min,进行切片,常规脱蜡复水。复水后的组织经苏木染色5min,流动水冲洗15min,盐酸酒精分化后,流动水冲洗10min,伊红染色10s,经梯度酒精脱水,中性树胶封片,在显微

镜下观察拍照。

1.3.5 大鼠心肌及肾功能指标检测 给药前 1 d 将大鼠禁食 12 h 后,腹主动脉取血 6 mL,静置 30 min,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液分别测定肌酐(Cr)含量和肌酸激酶(CK)水平。

1.4 统计学分析 数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,若数据符合正态分布,进行方差齐性检验,方差齐采用单因素方差分析(one-way ANOVA),先进行 Dunnett 分析,如组间需比较再进行 Tukey 分析;方差不齐使用 Tamhane's 检验;若数据不符合正态分布,则

采用非参数检验。

2 结果

2.1 天麻提取物对高脂血症模型大鼠血脂 4 项的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清中 TC、LDL-C 水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,辛伐他汀组可降低大鼠血清中 TC、LDL-C 水平,差异有统计学意义($P<0.05$);天麻提取物高剂量组能降低大鼠血清中 TC、LDL-C 水平,差异有统计学意义($P<0.05$);天麻提取物低剂量组仅降低大鼠血清中 LDL-C 水平,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 天麻提取物对高脂血症模型大鼠血脂 4 项的影响($\bar{x}\pm s, n=15, \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	TC	TG	LDL-C	HDL-C
正常组	—	2.94 $\pm$ 1.04	1.02 $\pm$ 0.30	1.32 $\pm$ 0.37	2.01 $\pm$ 0.54
模型组	—	4.95 $\pm$ 2.90 [▲]	1.31 $\pm$ 0.58	2.95 $\pm$ 0.94 [▲]	1.80 $\pm$ 0.56
辛伐他汀组	0.004	3.99 $\pm$ 1.48 [*]	1.02 $\pm$ 0.48	1.58 $\pm$ 0.87 [*]	1.24 $\pm$ 0.45
高剂量组	1	3.62 $\pm$ 1.39 [*]	1.30 $\pm$ 0.89	1.24 $\pm$ 0.53 [*]	1.55 $\pm$ 0.43
低剂量组	0.2	5.21 $\pm$ 2.64	1.31 $\pm$ 0.82	1.76 $\pm$ 0.68 [*]	1.29 $\pm$ 0.46

注:与正常组比较,[▲] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$ 。

2.2 天麻提取物对高脂血症模型大鼠肝功能的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清及肝脏 ALT、AST 水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$),结合表 1 血脂四项结果,表明大鼠高脂血症模型复制成功。与模型组比

较,辛伐他汀组能降低大鼠血清中 TC、LDL-C 水平以及肝组织 ALT、AST 水平,差异有统计学意义($P<0.05$);天麻组均能降低肝组织中 ALT、AST 水平($P<0.05$)。天麻高剂量组能降低血清 AST 水平($P<0.05$),见表 2。

表 2 天麻提取物对高脂血症模型大鼠肝功能的影响($\bar{x}\pm s, n=15, \text{U}\cdot\text{L}^{-1}$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肝脏 ALT	肝脏 AST	血清 ALT	血清 AST
正常组	—	42.93 $\pm$ 33.75	21.88 $\pm$ 6.36	4.53 $\pm$ 3.22	10.55 $\pm$ 3.07
模型组	—	161.90 $\pm$ 42.10 [▲]	44.44 $\pm$ 23.48 [▲]	9.27 $\pm$ 6.95 [▲]	21.42 $\pm$ 11.32 [▲]
辛伐他汀组	0.004	68.32 $\pm$ 35.28 [*]	37.55 $\pm$ 20.49 [*]	9.55 $\pm$ 7.81	18.10 $\pm$ 9.88
高剂量组	1	53.93 $\pm$ 36.92 [*]	23.54 $\pm$ 7.09 [*]	6.58 $\pm$ 3.88	11.35 $\pm$ 3.42 [*]
低剂量组	0.2	50.73 $\pm$ 27.11 [*]	39.61 $\pm$ 24.11 [*]	10.02 $\pm$ 5.32	16.36 $\pm$ 7.07

注:与正常组比较,[▲] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$ 。

2.3 天麻提取物对高脂血症模型大鼠肝组织病理损伤的影响

2.3.1 天麻提取物对高脂血症模型大鼠肝组织病变程度的影响 正常组大鼠肝脏大小正常,颜色暗红,边缘锐利,质地光滑柔软;而模型组大鼠可见肝脏明显肿大,颜色发黄,边缘较钝,表面饱满光滑,切面有油腻感。天麻提取物高、低剂量组肝组织病变程度均

较模型组有不同程度的改善,见图 1。

2.3.2 天麻提取物对高脂血症模型大鼠肝组织病理学变化的影响 正常组:肝组织结构整齐且完整,中央静脉大小均一,中央静脉周围的肝细胞呈放射状排列,细胞质丰富、均匀,细胞核中央排列。

模型组:肝组织结构呈不规则形状,中央静脉异常扩大,中央静脉周围存在脂肪空泡,细胞核偏向一

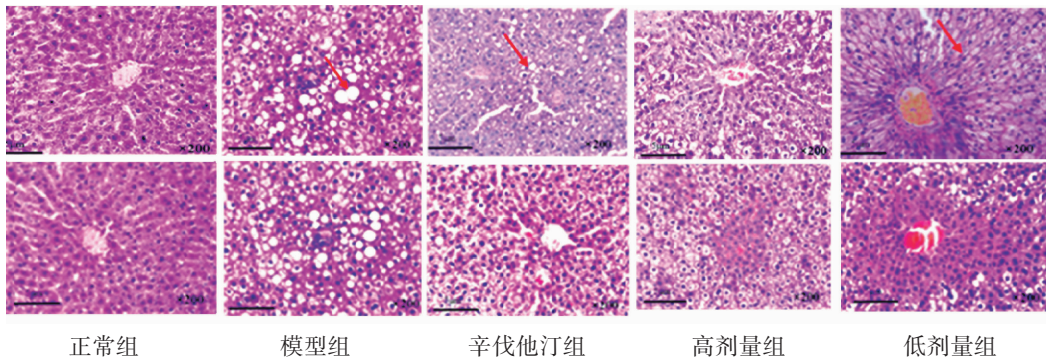


图 1 天麻提取物对高脂血症模型大鼠肝组织病变程度的影响

侧。这表明高脂饲料喂养已成功建立 SD 大鼠高脂血症模型。

辛伐他汀组：肝组织结构基本整齐且完整，大多数中央静脉大小均一，中央静脉周围的肝细胞呈放射状排列，细胞质丰富、均匀，细胞核基本中央排列。

天麻提取物组：天麻提取物高剂量组肝组织结构呈不规则形状，中央静脉略微扩大，中央静脉周围存在少量脂肪空泡细胞，少量细胞核偏向一侧；天麻提取物低剂量组肝组织结构呈不规则形状，中央静脉基本大小均一，中央静脉周围存在明显脂肪空泡细胞，少量细胞核偏向一侧，见图 2。



注：上排为各组的雄鼠，下排为各组的雌鼠。箭头表示脂肪空泡。

图 2 天麻提取物对高脂血症模型大鼠肝组织病理变化的影响(×200)

2.3.3 天麻提取物对高脂血症模型大鼠肝组织病理切片 NAS 积分评价 与正常组比较，模型组 NAS 积分升高，差异有统计学意义($P<0.05$)。与模

型组比较，辛伐他汀组和天麻提取物高剂量组 NAS 积分均降低，差异有统计学意义($P<0.05$)，见表 3。

表 3 天麻提取物对高脂血症模型大鼠肝组织病理切片 NAS 积分的比较($\bar{x} \pm s, n=15$, 分)

组别	脂肪变(0~3)				小叶内炎症(0~3)				气球样变(0~2)			NAS 积分
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	
正常组	7	0	0	0	5	2	0	0	6	0	1	0.71±0.76
模型组	0	0	1	5	3	0	2	1	0	2	4	5.67±1.6 [▲]
辛伐他汀组	2	0	2	3	6	1	0	0	6	0	1	3.86±1.21 [*]
高剂量组	0	4	1	2	5	2	0	0	0	1	6	3.86±0.90 [*]
低剂量组	0	1	1	4	5	1	0	0	0	1	5	4.50±0.84

注：与正常组比，[▲] $P<0.05$ ；与模型组比，^{*} $P<0.05$ 。

3 讨论

高脂血症是指血液中 TG、TC、LDL-C 的含量过高, HDL-C 含量过低的一种全身性脂代谢异常疾病^[10]。高脂饮食可导致脂肪在肝细胞内堆积, 使肝脏产生脂肪泡, 形成脂肪肝, 影响肝脏的脂质代谢, 进而引起血脂水平升高^[11-12]。天麻含有天麻素、天麻苷元、天麻多糖、生物碱等多种复杂成分, 具有镇痛、镇静、降压、免疫调节等多种药理作用^[13]。已有研究发现天麻细粉、天麻素及天麻酸性多糖可改善糖脂代谢紊乱, 发挥降脂作用^[14-17]。但天麻中含大量淀粉, 仅靠打粉很难使其有效成分溶出, 且成分单一, 疗效有限^[8]。课题组前期参照 2015 版《中国药典》“第三部通则 0512 技术要求”, 对云南昭通 3 个产地(彝良小草坝、镇雄盐源、威信水田)的天麻, 按药典要求的质控成分进行含量测定。结果表明, 彝良小草坝天麻的醇提率最高, 且其药典质控成分含量最高; 另有文献报道, 采用 70%乙醇进行提取, 天麻提取物的得率最高, 且天麻素提取更完全^[18]。因此, 本实验采用 70%的食用乙醇提取, 制备彝良小草坝天麻提取物, 符合保健品要求。

本研究通过喂养高脂饲料诱导 SD 大鼠建立高脂血症模型, 建模成功后在 2003 年版《保健食品检验与评价技术规范》“辅助降血脂功能功效学评价实验的要求”的指导下, 除检查血脂四项及肝组织病变情况常用指标外, 增加检测血清、肝脏 ALT、AST 水平。ALT、AST 主要存在于肝细胞中, 是肝细胞损伤的敏感标志。当肝细胞受损时, 肝细胞膜通透性增高, 肝细胞内的 ALT、AST 释放入血, 血清 ALT、AST 水平急剧升高^[19-21], 故检测血中 ALT、AST 的含量或水平可快速判断出肝功能是否正常。实验结果显示, 天麻提取物高剂量组可显著降低血清中 TC、LDL-C 及血清 AST、肝脏 ALT、AST 的水平, 并能显著减轻肝损伤。根据以上指标综合分析, 天麻提取物具有辅助降血脂功能。

课题组前期开展了天麻药材粉的毒理学评价(包括急性毒性实验、遗传毒性实验、传统致畸实验、短期喂养实验)均未发现受试物产生相关毒性, 提示长期常规剂量下使用天麻提取物是安全的。

虽然模型组指标有明显的变化, 但部分指标不具有统计学意义。例如模型组大鼠血清中 TG、HDL-C

虽分别有升高及降低的趋势, 但无统计学意义。分析原因可能为本实验周期较长, 大鼠易产生厌食, 导致模型组动物个体产生较大差异。其次, 大鼠肝脏内 LDL 受体途径对饮食中的固醇类具有抵抗力, 可能导致其对高胆固醇食物不敏感^[22]。大鼠还可通过减少自身肝脏合成胆固醇、增加胆汁酸生成等途径来保持血浆脂蛋白稳定^[22]。针对“厌食”情况已有文献报道, 可以采用高脂-普通饮食交替饲养的方法, 但目前本课题组暂未进行具体结果的验证, 未来将对合理有效的建立高脂血症模型进行深入研究。

参考文献:

- [1] 刘园. 饮用海水淡化水居民心血管疾病发病风险研究[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2018.
- [2] 王敏. 益气复脉颗粒的制备工艺及质量标准研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [3] 胡盛寿, 高润霖, 刘力生, 等. 《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(3): 209-220.
- [4] 包丹丹, 宋宗良, 赵峰, 等. 中成药联合他汀类治疗高脂血症的 Meta 分析 [J]. 世界中医药, 2020, 15 (13): 1946-1952.
- [5] RASHEED M A, CHAWLA G K. Hyperlipidemia: A Public Health Implication[J]. Academicia An International Multidisciplinary Research Journal, 2017, 7(6): 84-94.
- [6] 王灿, 于滨, 孔维佳. 天麻和天麻素改善糖脂代谢紊乱的药理学研究进展[J]. 中国医药导报, 2016, 13(27): 51-54.
- [7] 娜日苏. 中药天麻养肝降脂汤治疗原发性高血压的效果研究[J]. 中国医药指南, 2019, 17(33): 228-229.
- [8] 陈亭亭. 不同粒径天麻粉的药效学研究[D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2019.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 35-37.
- [10] NELSON R H. Hyperlipidemia as a risk factor for cardiovascular disease[J]. Primary care, 2013, 40(1): 195-211.
- [11] 邱烈峰. 高脂饮食诱导肥胖大鼠脂代谢相关指标的变化 [J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(10): 2815-2818.
- [12] FRIEDMAN S L, NEUSCHWANDER TETRI B A, RINELLA M, et al. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies[J]. Nat Med, 2018, 24(7): 908-922.
- [13] 李燕, 谢森, 邵明莎, 等. 近 10 年来天麻的药理作用及

- 化学成分研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(12): 2987-2993.
- [14] QU L L, YU B, LI Z, et al. Gastrodin ameliorates oxidative stress and proinflammatory response in nonalcoholic fatty liver disease through the AMPK/Nrf2 pathway [J]. *Phytother Res*, 2016, 30(3): 402-411.
- [15] 于滨, 李永利, 左增艳, 等. 天麻细粉片在高血脂大鼠模型中的降血脂实验研究[J]. 中国医药导报, 2012, 9(36): 5-6.
- [16] 于滨, 左增艳, 蒋建东. 天麻细粉和天麻素降血脂作用的实验研究[J]. 中国医药生物技术, 2010, 5(6): 415-418.
- [17] LEE O H, KIM K I, HAN C K, et al. Effects of acidic polysaccharides from gastrodia rhizome on systolic blood pressure and serum lipid concentrations in spontaneously hypertensive rats fed a high-fat diet [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(1): 698-709.
- [18] 洪燕龙, 徐德生, 冯怡, 等. 天麻提取物的提取、纯化工艺研究[J]. 中成药, 2008(2): 204-207.
- [19] ZHAO S, LI N, ZHEN Y, et al. Protective effect of gastrodin on bile duct ligation-induced hepatic fibrosis in rats[J]. *Food Chem Toxicol*, 2015, 86: 202-207.
- [20] RAMAKRISHNA R, KUMAR D, BHATERIA M, et al. 16-Dehydropregnenolone lowers serum cholesterol by up-regulation of CYP7A1 in hyperlipidemic male hamsters[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2017, 168: 110-117.
- [21] 李淑丽, 陆善词, 王军, 等. 血清谷胱甘肽还原酶活性水平评估乙型肝炎肝损伤患者的临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(15): 1844-1848.
- [22] SPADY D K, CUTHBERT J A. Regulation of hepatic sterol metabolism in the rat. Parallel regulation of activity and mRNA for 7 α -hydroxylase but not 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase or low density lipoprotein receptor[J]. *J Biol Chem*, 1992, 267(8): 5584-5591.

《云南中医学院学报》欢迎网上投稿

网址: <http://www.xb.ynutcm.edu.cn>