

复方芳香植物提取物对营养型肥胖大鼠的减肥作用

王会宁, 李淑颖, 吴亚妮, 王贵荣, 姚雷*

(上海交通大学农业与生物学院芳香植物研发中心, 上海 200240)

[摘要] 目的:研究一种复方芳香植物提取物对营养型肥胖大鼠的减肥作用。方法:制备了复方芳香植物水提取物和营养型肥胖大鼠模型,用提取物连续 ig 给药 5 周,测量体重、体脂,计算肥胖指数和 Lee's 指数,ELISA 检测血清瘦素(LEP),制作石蜡切片观察脂肪组织形态变化,测定血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、总抗氧化能力(T-AOC),初步分析药物作用机制。结果:与营养型肥胖大鼠模型组比较,复方芳香植物提取物各剂量组(4 000, 2 000, 500 mg·kg⁻¹)大鼠体重和体脂均显著减轻($P < 0.05$),肥胖指数和 Lee's 指数也均有所降低,高剂量组肥胖指数显著降低($P < 0.05$);提取物各剂量组均显著降低大鼠血清 LEP 水平($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),呈现剂量依赖性;切片观察高剂量组脂肪细胞显著变小($P < 0.01$),单位视野细胞数目显著增加($P < 0.01$);各剂量组均显著增加大鼠血清 SOD 和 T-AOC 含量,降低 MDA 含量($P < 0.01$),呈现剂量依赖性。结论:本复方芳香植物提取物对营养型肥胖大鼠具有明显的减肥功效和良好的抗氧化作用。

[关键词] 芳香植物;提取物;肥胖模型;减肥;抗氧化

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0168-05

Antiobesity Effects of Water Extract from Compound Aromatic Plants on Diet-induced Obese Rats

WANG Hui-ning, LI Shu-ying, WU Ya-ni, WANG Gui-rong, YAO Lei*

(R&D Center of Aromatic Plants, School of Agriculture & Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antiobesity function of water extract from compound aromatic plants on

[收稿日期] 20110608(007)

[基金项目] 农业部行业计划项目(200903056)

[第一作者] 王会宁,硕士研究生,从事芳香植物提取物功效研究

[通讯作者] * 姚雷, Tel:021-34206606, E-mail:yaolei@sjtu.edu.cn

- [7] 张良,袁冬平,徐立,等. 丹酚酸 B 对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2008, 19 (6):467.
- [8] Prasad A, Stone G W, Holmes D R, et al. Reperfusion injury, microvascular dysfunction, and cardioprotection: the 'dark side' of reperfusion [J]. Circulation, 2009, 120 (21):2105.
- [9] Els-sser A, Suzuki K, Lorenz-Meyer S, et al. The role of apoptosis in myocardial ischemia: a critical appraisal [J]. Basic Res Cardiol, 2001, 96 (3):219.
- [10] Kehrer J P. Cause-effect of oxidative stress and apoptosis [J]. Teratology, 2000, 62 (4):235.
- [11] Zhao Z Q. Oxidative stress-elicited myocardial apoptosis during reperfusion [J]. Curr Opin Pharmacol, 2004, 4 (2):159.
- [12] Wattanapitayakul S K, Bauer J A. Oxidative pathways in cardiovascular disease: roles, mechanisms, and therapeutic implications [J]. Pharmacol Ther, 2001, 89 (2):187.
- [13] 郭小芙, 吴允孚, 曹一飞. 葛根素注射液治疗不稳定性心绞痛的疗效观察 [J]. 中国血液流变学杂志, 2007, 17(4):574.
- [14] Gilberto L P A, Mariela F B, Carlos C, et al. Protective effects of *Mangifera indica* L extract (Vimang), and its major component mangiferin, on iron-induced oxidative damage to rat serum and liver [J]. Pharmacol Res, 2008, 57 (1):79.

[责任编辑 聂淑琴]

diet-induced obese rats. **Method:** The model of diet-induced obese rats was prepared by feeding high-fat diet for five weeks, then three different doses(4 000, 2 000, 500 mg·kg⁻¹) of the extract were administered respectively by gavage for another five weeks. The body weight, body fat, obesity index and Lee's index were measured. The serum activities of leptin (LEP), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity(T-AOC) were assayed by reliable reagent kits. Adipose tissue paraffin sections were examined under a light microscope. The pharmacodynamic mechanism of the extract was substantially analyzed. **Result:** All doses (4 000, 2 000, 500 mg·kg⁻¹) of the extract could significantly decrease body weight and body fat of obese rats ($P < 0.05$), and the high dose performed best with obesity index remarkably decreased($P < 0.05$). All doses of the extract could significantly decrease the concentration of serum LEP($P < 0.05$), with a dose-dependent manner. The size of lipocytes of the high dose became smaller while the quantity of which in unit microscopic field gets larger markedly($P < 0.01$). All doses could significantly increase the serum activities of SOD and T-AOC, and decrease MDA levels ($P < 0.01$), with a dose-dependent manner. **Conclusion:** The water extract from the compound aromatic plants in this study functions well on weight control of diet-induced obese rats, and demonstrates distinctively anti-oxidation activity, which shows promising value of further application.

[**Key words**] aromatic plants; water extract; diet-induced obesity; antiobesity; anti-oxidation

肥胖是一种危害健康的慢性疾病,也是与高血压、冠心病、糖尿病等多种疾病密切相关的危险因素,已成为当今全球广泛关注的重大公共卫生问题^[1]。随着肥胖发病率的逐年上升,寻找安全高效的减肥药物已成为当今医学界的共同愿望。早在20世纪80年代初人们就开始关注中草药在降脂减肥方面的作用,目前的临床应用多是以复方的形式出现^[2]。常见的许多芳香植物也是药用植物,具有特定的药用价值^[3]。据国内外文献报道,柠檬草、迷迭香、香叶天竺葵、薄荷等芳香植物具有一定的降脂减肥功效^[4-9]。本中心在前期研究的基础上^[6],自主研发出以上述芳香植物为主的复方,经水蒸馏提取、旋蒸浓缩、真空干燥制成复方提取物粉剂,在营养型肥胖大鼠模型上通过药效试验探究了提取物的减肥功效,同时检测了其在大鼠机体的抗氧化作用,为进一步开发提供科学依据。

1 材料

1.1 复方芳香植物组成及提取物制备

1.1.1 植物材料及复方组成 柠檬草 *Cymbopogon citratus* 25%, 香叶天竺葵 *Pelargonium graveolens* 25%, 迷迭香 *Rosmarinus officinalis* 15%, 薄荷 *Mentha haplocalyx* 15%, 甜牛至 *Origanum majorana* 10% 叶片干材料以及玫瑰 *Rosa rugosa* 10% 干花蕾,由上海天美芳香植物科技有限公司提供,经上海交通大学芳香植物研发中心姚雷教授鉴定。

1.1.2 提取物制备 精确称取 300 g 上述复方植物材料置于小型常压蒸馏提取装置中,加蒸馏水 3 L 至完全浸没,冷浸 30 min,100 °C 蒸馏提取 60 min,

过滤收集滤液,55 ~ 60 °C 减压旋蒸浓缩, - 55 °C, 0.125 mbar 真空冻干,研磨得到提取物粉剂 36.3 g, 4 °C 保存备用。

1.2 动物及饲料 雄性 SD 大鼠 120 只,清洁级,体重(150 ± 10)g,购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司,许可证号 SCXK(沪)2007-0005;饲养于上海交通大学药学院动物实验中心,许可证号 SYXK(沪)2007-0025。基础饲料,购自上海仕林动物饲料有限公司;自制高脂饲料:基础饲料 79.5%,猪油 10%,蛋黄粉 10%,胆固醇 0.5%^[10]。

1.3 试剂 大鼠血清瘦素(LEP)ELISA 试剂盒、大鼠血清超氧化物歧化酶(SOD)ELISA 试剂盒、大鼠血清丙二醛(MDA)ELISA 试剂盒(上海江莱生物科技有限公司);大鼠血清总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒(南京建成生物工程研究所);盐酸西布曲明胶囊(太极集团重庆涪陵制药厂有限公司,国药准字 H20000364)。

1.4 仪器 5 000 mL 常压蒸馏提取装置(上海东名玻璃仪器有限公司),RE52-05 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器公司),ALPHA1-4 型真空冷冻干燥机(德国 Martin Christ Co., Ltd),DNM-9602G 型酶标仪(北京普朗新技术有限公司),RM2235 型轮转式切片机(德国 Leica Co., Ltd),Eclipse 50i 普通光学显微镜(日本 Nikon Co., Ltd),配科研级 CCD 数字摄像头(DS-FIL)。

2 方法

2.1 肥胖模型的制备 大鼠经适应性喂养后随机分为空白对照组($n = 10$)和肥胖造模组($n = 110$)。

空白对照组用基础饲料喂养,肥胖造模组用高脂饲料喂养,各组大鼠自由饮食饮水。造模 5 周后,以肥胖造模组体重高于空白对照组平均体重 10% ~ 20% 作为肥胖标准^[11],筛选出肥胖大鼠 50 只用于药效试验。

2.2 药效试验 将造模成功的肥胖大鼠随机分为 5 组:依据文献报道的单方最低有效剂量^[4-6]和复方配比,确定本提取物高、中、低剂量组分别为 4 000, 2 000, 500 mg·kg⁻¹;阳性对照组(盐酸西布曲明, 5 mg·kg⁻¹)^[12]及营养型肥胖模型对照组(以下简称“模型对照组”)。每组 10 只大鼠,继续高脂饲料喂养,自由饮食饮水。蒸馏水溶解本提取物和盐酸西布曲明胶囊内容物,按 10 mL·kg⁻¹体重分别 ig 高、中、低剂量组以及阳性对照组,模型对照组 ig 等量蒸馏水。空白对照组继续基础饲料喂养,不做任何处理。每天定时给药 1 次,每周定时称重 1 次,相应调整给药剂量,连续给药 5 周。

2.3 测定指标 末次给药后禁食 12 h 测量空腹体重,麻醉后测量体长;腹腔动脉采血 4 mL, 3 000 r·min⁻¹离心 10 min 分离血清;采集肾及生殖器周围脂肪组织称重,计算肥胖指数、Lee's 指数^[13];按照试剂盒说明方法测定血清 LEP;常规方法制作脂肪组织石蜡切片 HE 染色,普通光学显微镜观察脂肪组织形态变化,计量脂肪细胞大小和单位视野脂肪细胞数目;按照试剂盒说明方法测定血清 SOD, MDA, T-AOC 含量。

2.4 统计学处理 采用 Microsoft Excel 2007 和 SPSS 17.0 进行实验数据的统计学分析,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较采用成组 *t* 检验 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 提取物的制备 提取物粉剂得率 = 粉剂质量/复方材料质量 × 100% = 36.3 g/300 g × 100% = 12.1%

3.2 肥胖模型的制备 肥胖造模成功率 = 肥胖大鼠数量/造模大鼠总数 × 100% = 50 只/110 只 × 100% = 45.5%

3.3 对营养型肥胖大鼠的减肥作用

3.3.1 对大鼠体重的影响 给药结束后,和模型对照组相比,提取物高、中、低剂量组和阳性对照组大鼠体重均显著降低,其中高剂量组大鼠体重已降低到和空白对照组无显著差异,见表 1。

给药期间,模型对照组大鼠体重前 2 周略有波动,后期呈现大幅度持续增长;高剂量组大鼠体重第

表 1 复方芳香植物提取物对大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	体重/d		平均增重 /g
		给药前	给药后	
空白对照	-	327.20 ± 2.60	391.89 ± 8.97	64.69
模型对照	-	382.14 ± 9.24	479.87 ± 16.80 ²⁾	97.73
复方芳香植物提取物	4 000	381.14 ± 5.92	422.93 ± 8.58 ⁴⁾	41.79
	2 000	374.29 ± 6.13	437.65 ± 2.99 ^{2,3)}	63.36
	500	371.71 ± 7.44	431.80 ± 4.98 ^{1,4)}	60.09
西布曲明	5	389.57 ± 7.27	428.51 ± 2.93 ^{1,4)}	38.94

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型对照组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

1 周下降明显,推测给药初期大鼠对提取物高剂量不适应,至第 2 周逐渐适应后体重略有增加,之后 2 周体重增长加快,至给药结束前 1 周体重再次小幅回落;提取物中、低剂量组体重整体变化趋势与空白对照组基本一致。给药期间各处理组大鼠体重变化曲线见图 1。

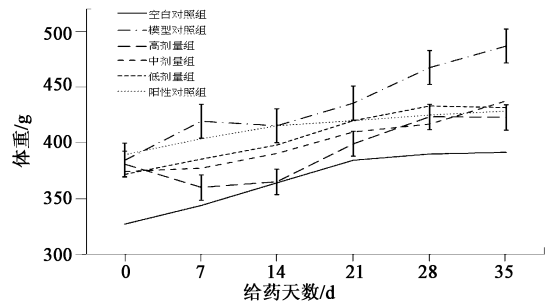


图 1 复方芳香植物提取物对大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

提取物高剂量组和模型对照组的重复测量方差分析(过程未列出)表明,不同处理阶段之间大鼠体重存在显著差别($P < 0.01$);不同处理阶段与处理方法之间不存在交互作用,即与模型对照组相比,高剂量组的减重效果在整个给药期间一致且有效。

3.3.2 对大鼠体脂、肥胖指数、Lee's 指数的影响

和模型对照组相比,提取物高剂量组和阳性对照组大鼠体脂、肥胖指数均显著降低;中、低剂量组体脂显著降低,肥胖指数略有降低;各组大鼠 Lee's 指数均有所降低但无显著差异。高剂量组作用效果和阳性对照组相近,大鼠体脂、肥胖指数和 Lee's 指数均已降低到和空白对照组无显著差异。提取物对大鼠体脂、肥胖指数、Lee's 指数的影响见表 2。

3.3.3 对大鼠血清瘦素含量的影响

和空白对照组相比,模型对照组血清瘦素含量显著升高;和模型对照组相比,提取物高、中、低剂量组和阳性对照组血清瘦素含量均显著降低,其中高剂量组降低到与空白对照组无显著差异。随着提取物剂量水平的上升,血清瘦素含量呈现明显的梯度降低趋势。提取物对大鼠血清瘦素含量的影响见表 2。

表2 复方芳香植物提取物对大鼠体脂、肥胖指数、Lee's 指数和血清 LEP 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	体脂 /g	肥胖指数 /%	Lee's 指数	LEP /μg·L ⁻¹
空白对照	-	15.89 ± 0.65	4.12 ± 0.23	283.87 ± 2.13	3.46 ± 0.09
模型对照	-	22.23 ± 1.31 ²⁾	4.62 ± 0.18 ¹⁾	292.65 ± 2.45	4.87 ± 0.08 ²⁾
复方芳香植物提取物	4 000	16.42 ± 0.35 ⁴⁾	3.89 ± 0.14 ³⁾	286.03 ± 3.15	3.38 ± 0.10 ⁴⁾
	2 000	19.12 ± 0.36 ^{1,3)}	4.37 ± 0.07	288.20 ± 0.59	4.03 ± 0.08 ^{2,4)}
	500	19.22 ± 1.06 ^{1,3)}	4.45 ± 0.24	292.35 ± 2.83	4.54 ± 0.09 ^{2,3)}
西布曲明	5	15.31 ± 0.64 ⁴⁾	3.57 ± 0.13 ³⁾	287.43 ± 0.82	4.05 ± 0.10 ^{2,4)}

3.3.4 对大鼠脂肪组织的影响 模型对照组大鼠脂肪细胞中脂肪充盈,细胞膨大 [$\Phi = (77.38 \pm 3.22) \mu\text{m}$],单位视野细胞数目较少 ($n = 8.20 \pm 0.49$),细胞间质被脂肪挤压变薄。提取物高剂量组大鼠脂肪细胞排列均匀,结构完整,细胞间隙小动脉清晰可见;和模型对照组相比,细胞体积显著变小 [$\Phi = (56.09 \pm 3.38) \mu\text{m}, P < 0.01$],单位视野细胞数目显著增多 ($n = 13.00 \pm 0.73, P < 0.01$)。阳性对照西布曲明组和肥胖模型组相比,脂肪细胞明显变小 [$\Phi = (56.49 \pm 1.98) \mu\text{m}, P < 0.01$],单位视野细胞数目明显增多 ($n = 14.3 \pm 0.79, P < 0.01$)。复方芳香植物提取物高剂量组和阳性对照组比较,脂肪细胞大小和单位视野脂肪细胞数目均无显著差异。见图2。

3.4 对大鼠机体抗氧化作用的影响 和空白对照组相比,模型对照组大鼠血清 SOD 显著降低,血清

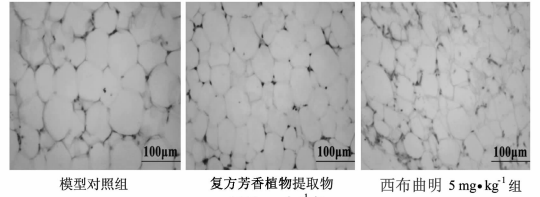


图2 复方芳香植物提取物对大鼠脂肪组织的影响(HE染色×200)

MDA 含量显著升高。与模型对照组相比,复方芳香植物提取物各剂量组大鼠血清 SOD 含量和 T-AOC 含量均显著升高,血清 MDA 含量均显著降低;其中高剂量组大鼠血清 MDA 含量基本恢复到空白对照组水平。随着提取物剂量水平的上升,大鼠血清 SOD, T-AOC 含量呈现梯度升高趋势,MDA 含量则表现为梯度降低。见表3。

表3 复方芳香植物提取物对大鼠抗氧化作用的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	SOD /U·mL ⁻¹	MDA /nmol·mL ⁻¹	T-AOC /U·mL ⁻¹
空白对照	-	112.09 ± 2.55	1.91 ± 0.04	6.56 ± 0.70
模型对照	-	82.94 ± 1.66 ²⁾	4.01 ± 0.04 ²⁾	3.85 ± 0.65
复方芳香植物提取物	4 000	187.00 ± 2.30 ^{2,4)}	1.95 ± 0.05 ⁴⁾	11.68 ± 0.45 ^{2,4)}
	2 000	155.41 ± 3.04 ^{2,4)}	2.23 ± 0.03 ^{2,4)}	12.31 ± 1.75 ^{2,4)}
	500	129.75 ± 2.28 ^{2,4)}	2.68 ± 0.03 ^{2,4)}	10.03 ± 0.96 ⁴⁾
西布曲明	5	134.77 ± 2.29 ^{2,4)}	2.24 ± 0.05 ^{2,4)}	5.37 ± 0.48

4 讨论

用高脂饲料连续喂养的方法制备营养型肥胖大鼠模型,按照一定肥胖标准通常只有部分大鼠可诱导造模成功,约有一半大鼠存在食物抵抗,不能诱导成肥胖^[11,14]。本试验前期成功制备了营养型肥胖大鼠模型,肥胖造模成功率 45.5%,与文献报道^[11,14]相符合。

本试验结果表明,提取物各剂量组均可显著降低营养型肥胖大鼠的体重和体脂,降低肥胖指数和

Lee's 指数,对营养型肥胖大鼠具有明显的减肥作用。提取物剂量水平由低剂量(500 mg·kg⁻¹)上升到中剂量(2 000 mg·kg⁻¹)时,减肥效果略有增强,当剂量水平增至高剂量(4 000 mg·kg⁻¹)时,减肥效果明显增强。本试验中高剂量组大鼠体重、体脂、肥胖指数均已降低到与空白对照组无显著差异,证明提取物剂量达到4 000 mg·kg⁻¹时具有最理想的减肥效果。

血清瘦素(LEP)是肥胖基因 *ob* 编码、脂肪细胞

分泌的一种蛋白质激素,它可经血液到达下丘脑食物中枢,抑制摄食,增加能耗;肥胖个体由于肥胖基因在脂肪组织中表达过量,形成 LEP 抵抗;LEP 的内源性抵抗是肥胖形成的基础,血清 LEP 在血液中的含量与体脂量呈正相关^[14-16]。血清 LEP 检测结果表明,提取物各剂量组均可显著降低大鼠血清 LEP 含量,并且呈现出明显的剂量依赖性,其中高剂量组大鼠血清 LEP 水平已降低到与空白对照组无显著差异,证明提取物对改善肥胖大鼠内源性 LEP 抵抗,促进 LEP 在大鼠机体发挥正常生理功能起到重要作用。脂肪组织切片观察结果表明,提取物高剂量组可显著减小脂肪细胞体积、增加单位视野中脂肪细胞数目,其作用机制可能是通过加速大鼠体内脂肪动员,减少了脂肪细胞中的脂肪含量,降低体脂从而达到减肥效果。

抗氧化各项指标测定结果表明,与空白对照组相比,肥胖模型组大鼠机体抗氧化能力明显减弱;提取物各剂量组大鼠机体抗氧化能力明显增强,并且随着提取物剂量水平的升高,大鼠机体抗氧化能力呈现出明显的剂量依赖性。国内外已有大量文献报道了迷迭香、柠檬草、香叶天竺葵、薄荷、甜牛至、玫瑰等芳香植物提取物在体外具有良好的清除自由基的能力,本研究证明以上述材料为主的复方芳香植物提取物可以显著提高机体抗氧化能力。本复方芳香植物提取物可以明显改善营养型肥胖,同时对机体保健发挥积极作用,具有良好的开发应用潜力。对本复方提取物有效成分的分离和鉴定将成为下一步研究工作的重点。

[参考文献]

[1] Serent L, Micn C C, Mabel D Y. Review on epidemic of obesity [J]. Ann Acad Med Singapore, 2009, 38 (1): 57.
[2] 岳嘉, 郑天珍. 中药的有效化学成分降脂减肥的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18 (7): 1565.
[3] 张卫明, 肖正春. 中国辛香料植物资源开发与药用 [M]. 南京: 东南大学出版社, 2007: 4.

[4] Agbafor K N, Akubugwo E I. Hypcholesterolaemic effect of ethanolic extract of fresh leaves of *Cymbopogon citratus* (lemongrass) [J]. Afr J Biotechnol, 2007, 6 (5): 596.
[5] Adejuwon A A, Esther O A. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of fresh leaf aqueous extract of *Cymbopogon citratus* Stapf in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2007, 112 (3): 440.
[6] 左安连. 迷迭香精油周年变化及迷迭香降血脂作用的研究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2007.
[7] Mohd N S, Irine R, Paul D R. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation and up-regulation of low-density lipoprotein receptor in HepG2 cells by tropical plant extracts [J]. Agric Food Chem, 2002, 50 (13): 3693.
[8] 榎林佳津美著. JAA 日本アロマコーデイネーター協会編. アルマセラピーケアガイド [M]. ブラス出版, 平成 13 年: 182.
[9] 日本薬学会編. 山本芳邦著. 香りの薬効とその秘密 [M]. 丸善出版, 平成 15 年: 99.
[10] 韩超, 范小兵, 王少康, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯对肥胖模型大鼠减肥作用的实验研究 [J]. 现代医学, 2008, 36 (3): 197.
[11] 申瑞玲, 马婧. 四种肥胖动物造模方法的比较 [J]. 动物医学进展, 2007, 28 (3): 105.
[12] Leblance M, Thibault L. Effect of sibutramine on macronutrient selection in male and female rats [J]. Physiol Behav, 2003, 80: 243.
[13] Adejuwon A A, Olufunmilayo O A, Esther O A. Anti-obesity and antihyperlipidaemic effect of *Hunteria umbellata* seed extract in experimental hyperlipidaemia [J]. J Ethnopharmacol, 2010, 130 (2): 307.
[14] 王辉. 肥胖抵抗与肥胖大鼠代谢差异研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 中国医学科学院, 2010.
[15] Hiroyuki S, Shinsuke O, Shuichi O. Leptin resistance and obesity [J]. Endocrine J, 2007, 54 (1): 17.
[16] Martin G M, Michael A C, Heike M. Mechanisms of leptin action and leptin resistance [J]. Annu Rev Physiol, 2008, 70: 537.

[责任编辑 聂淑琴]