

山楂、泽泻、决明子与红曲霉混合发酵产物对高血脂大鼠调脂作用研究

杨静云, 李宇兴, 赖永勤, 刘玉川, 黄新河, 李学如*

西南交通大学生命科学与工程学院, 四川 成都 610031

摘要: **目的** 探究山楂、泽泻、决明子与紫色红曲霉混合发酵产物(调脂中药红曲)对食源性高脂血症大鼠血脂水平的调节作用。**方法** 以高脂饲料连续饲喂SD大鼠4周建立高脂血症动物模型,将实验大鼠分为对照组、模型组、调脂中药红曲预防组、脂必泰胶囊阳性组、大米红曲组、调脂中药红曲治疗组。分别连续给药4周,测定各组大鼠血清中总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的水平变化。**结果** 调脂中药红曲预防组造模同时连续给药4周后,大鼠血清TC、TG、LDL-C水平显著降低($P < 0.001$),HDL-C水平显著升高($P < 0.05$)。造模4周后给药4周的治疗实验结果表明,与给药前组相比,大米红曲组大鼠血清TC、LDL-C水平显著降低($P < 0.01$),而TG、HDL-C水平变化不明显;调脂中药红曲组和脂必泰组大鼠血清TC、TG、LDL-C水平显著降低($P < 0.05, 0.01$),HDL-C水平显著升高($P < 0.05, 0.01$),且其对高脂血症大鼠血脂的调节作用优于大米红曲组。对比肝脏指数和脾脏指数发现调脂中药红曲具有较好的安全性。**结论** 调脂中药与红曲霉混合固态发酵所得产物可有效抑制食源性高脂血症的形成,对食源性高脂血症大鼠血清血脂水平有良好的调节作用,发酵产物中中药调脂成分与红曲调脂成分具有协同作用。

关键词: 山楂; 泽泻; 决明子; 固态发酵; 红曲霉; 洛伐他汀; 高脂血症

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)07-1369-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.07.018

Lipid regulating effect of mixture fermentation products of *Crataegi Fructus*, *Alismatis Rhizoma*, and *Cassiae Semen* with *Monascus purpureus* on hyperlipidemic rats

YANG Jing-yun, LI Yu-xing, LAI Yong-qin, LIU Yu-chuan, HUANG Xin-he, LI Xue-ru

School of Life Science, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China

Abstract: Objective To explore the lipid regulating effect of fermentation product of *Crataegi Fructus*, *Alismatis Rhizoma*, and *Cassiae Semen* on hyperlipidemic rats. **Methods** SD rats were fed with high fat diet and established as hyperlipidemia animal model, the subjects were divided into six groups: control group, model group, positive control group, fermentation product prevention group, red yeast rice group, and fermentation product treatment group. After four weeks continuous oral administration, the effect of different medicine samples on serum triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) of hyperlipidemic rats were observed to assess the regulation effect. **Results** Four weeks' continuous oral administration could regulate the TC, TG, LDL-C levels significantly lower ($P < 0.001$) and HDL-C level significantly increased ($P < 0.05$) in the prevention group compared with the model group. After modeling, continuous administration for four weeks, compared with the levels before giving medicines, TC, TG, LDL-C levels of positive control group and fermentation product treatment group were significantly regulated lower ($P < 0.05, 0.01$) and HDL-C level significantly increased ($P < 0.05, 0.01$). while the only TC and LDL-C levels in red yeast rice group showed significant effect. **Conclusion** Product of lipid-lowering traditional Chinese medicines (TCMs) treated by solid-state fermentation with *Monascus purpureus* could effectively inhibit the formation of foodborne hyperlipidemia, as well as control and regulate hyperlipidemia, and synergistic effect also appeared between ingredients from TCMs and lovastatin.

Key words: *Crataegi Fructus*; *Alismatis Rhizoma*; *Cassiae Semen*; solid-state fermentation; *Monascus purpureus* Went.; lovastatin; hyperlipidemia

收稿日期: 2016-10-14

基金项目: 四川省科技支撑项目资助(2012FZ0048); 成都市科学技术局科技惠民技术研发项目(2015-HM01-00047-SF)

作者简介: 杨静云(1990—)男,四川资阳人,硕士研究生,生物化学与分子生物学专业。Tel: 15202827549 E-mail: qwy002@sina.com

*通信作者 李学如,教授,研究方向为微生物代谢产物。Tel: 13618010228 E-mail: xueruli@sina.com

高脂血症引发的心血管疾病是目前危害人类健康主要重大疾病之一^[1]。近年来,由于传统调脂中药具有多途径、多靶点、调脂效果好、药效温和、不良反应少等优点,得到极大的认可和青睐^[2]。以红曲霉菌发酵制备的功能性红曲因含有洛伐他汀、麦角固醇及 γ -氨基丁酸 (GABA) 等有效成分,具有调血脂、降血压等功能,引起了人们的极大关注^[3-4]。杨静云等^[5]前期的研究结果显示,以药食两用调脂中药山楂、泽泻、决明子等为培养基组分,以产洛伐他汀的红曲霉 *Monascus purpureus* Went. 为菌种,经固态发酵制备的调脂中药,除能显著提高调脂有效成分外,还能增加其他有效成分和提高中药有效成分的量。为了进一步探究调脂中药山楂、泽泻和决明子与红曲霉混合发酵产物对大鼠血脂水平的调节作用,本实验以高脂血症 SD 大鼠为实验动物模型,对自制的调脂中药红曲进行高脂血症抑制实验和高脂血症模型治疗实验研究,以期验证调脂中药红曲对高脂血症的预防和治疗作用,为其临床应用提供依据。

1 材料

1.1 实验动物

SD 大鼠,共 60 只,体质量 145~165 g,购自成都达硕生物科技有限公司,动物生产许可证号 SCXK (川) 2013-24。

1.2 药品与试剂

大米红曲、调脂中药红曲(山楂、泽泻、决明子与红曲霉混合发酵产物),自制^[5];阳性对照药物脂必泰胶囊(成都地奥九泓制药厂,批号 130206)。胆固醇 (Biosharp 公司);总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.3 主要仪器

D3024R 高速离心机 (Sci Logex 公司); VARIOSKAN FLASH 酶标仪 (Thermo Scientific 公司); AR124CN 分析天平 (Ohaus 公司)。

2 方法

2.1 动物分组

健康雄性 SD 大鼠 60 只,适应性喂养 5 d,分为对照组 (10 只)、调脂中药红曲预防组 (10 只)、高脂造模组 (40 只),造模后根据 TC 水平将高脂造模组 40 只大鼠随机分为模型组、调脂中药红曲组、大米红曲组、脂必泰胶囊阳性对照组,每组 10 只。

2.2 高脂血症动物模型制备

对照组饲喂普通饲料,模型组、调脂中药红曲组、大米红曲组、脂必泰胶囊组大鼠饲喂高脂饲料(胆固醇 2%、蛋黄粉 5%、猪油 5%、基础饲料粉料 88%)^[6]。每日补充饮水及饲料,保持实验动物生活环境干燥、清洁、通风。连续喂养 4 周,取血清,测定血清中 TC、TG、LDL-C 水平,3 者均显著升高则造模成功。

2.3 给药剂量和给药方法

根据脂必泰胶囊人体推荐用量确定脂必泰胶囊组大鼠给药剂量为 0.08 g/kg,根据药物中有效成分洛伐他汀的量(脂必泰胶囊 32.457 mg/g、调脂中药红曲 5.127 mg/g、大米红曲 3.667 mg/g)确定调脂中药红曲组和大米红曲组给药剂量分别为 0.5 g/kg、0.7 g/kg (3 个给药组剂量折算成洛伐他汀均为 2.56 mg/kg)。药物以 0.5% CMC-Na 配制成悬液,各组均 ig 给药。对照组和模型组 ig 给予 0.5% CMC-Na 溶液。每日 12:00 给药。

2.4 调脂中药红曲抑制大鼠高脂血症形成的药效评价

适应性喂养后,调脂中药红曲预防组以高脂饲料饲喂,同时 ig 给予调脂中药红曲 (0.5 g/kg),连续高脂喂饲并给药 4 周后,取血清,测定血清中 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C 水平。

2.5 调脂中药红曲对高脂血症大鼠的治疗作用药效评价

造模成功后,进行高脂血症治疗实验,同时分别给药,同时给予高脂饲料。分别于给药 2 周和 4 周后取血清,测定血清中 TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平。给药 4 周后,同“2.4”项方法处理,处死大鼠,称体质量,解剖后取肝脏和脾脏,并称质量,计算脏器指数(脏器指数=脏器质量/体质量×100)。

2.6 统计学处理

数据采用 SPSS 21.0 软件进行分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。以 t 检验对模型组和对照组的血清 TC、TG、LDL-C 水平进行检验,检验高脂血症模型是否成功建立;并对各受试样品组与模型组的血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平进行方差分析,并以 Graph Pad Prism 5.0 对数据进行分析作图。

3 结果

3.1 SD 大鼠高脂模型造模结果

造模过程中大鼠活动正常,食欲正常,大小便

正常,毛色鲜亮,无死亡情况出现。连续 4 周后检测大鼠血清中各指标,结果见图 1,模型组大鼠血清 TC、TG、LDL-C 均显著高于对照组($P<0.01$ 、 0.001),表明高脂模型造模成功,模型动物可用于后续实验。

3.2 各组大鼠体质量变化及脏器指数比较

造模和给药过程中各组大鼠体质量变化见表 1。造模前各组大鼠体质量保持一致;造模后,模型组大鼠体质量高于对照组,但无显著差异($P>0.05$);治疗实验中各给药组体质量增加量均小于模型组,但无显著差异($P>0.05$)。统计调脂中药红曲抑制组大鼠体质量发现,给药 4 周后,预防组大鼠体质量(321.3 ± 18.6) g 较模型组大鼠体质量(361.0 ± 21.3) g 显著降低($P<0.05$),说明调脂中药红曲能有效抑制喂食高脂饲料大鼠体质量增加。

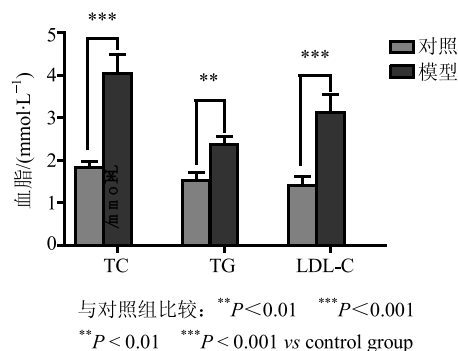


图 1 模型组与对照组大鼠血脂水平比较 ($\bar{x}\pm s, n=10$)
Fig. 1 Comparison on blood lipid levels in serum of rats in control and model group ($\bar{x}\pm s, n=10$)

各组肝脏指数和脾脏指数结果见表 2。模型组肝脏指数较对照组有所增加,各给药组大鼠的脏器

表 1 各组大鼠体质量变化 ($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 1 Weight changes of rats in each group ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	体质量/g			
		造模前	给药前	给药 4 周后	增加量
对照	—	154.0±3.6	343.8±10.5	431.1±29.3	277.8± 8.5
模型	—	152.5±4.1	361.0±21.3	474.1±51.4	322.0±12.4
脂必泰	0.08	153.2±6.4	363.2±19.4	441.0±34.4	287.6±11.6
大米红曲	0.7	153.5±7.3	362.4±15.2	445.8±42.3	291.6±16.2
调脂中药红曲	0.5	152.0±2.5	362.7±20.2	442.5±47.3	288.0±14.2

表 2 各组大鼠脏器指数比较 ($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 2 Comparison on organ index of rats in each group ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肝质量/g	肝脏指数	脾质量/g	脾脏指数
对照	—	14.965±0.840	3.489±0.445	0.701±0.078	0.162±0.005
模型	—	17.350±0.773	3.872±0.131	0.762±0.081	0.182±0.007
脂必泰	0.08	15.733±0.240	3.541±0.161	0.773±0.047	0.173±0.004
大米红曲	0.7	15.332±1.414	3.630±0.095	0.725±0.070	0.174±0.006
调脂中药红曲	0.5	15.732±1.048	3.520±0.068	0.761±0.080	0.170±0.005

指数均较模型组有所降低,与对照组比较,差异均不显著($P>0.05$),说明调脂中药红曲对大鼠脏器指数影响较小。调脂中药红曲预防组大鼠的肝脏指数和脾脏指数分别为 3.511 ± 0.254 、 0.170 ± 0.002 。

3.3 调脂中药红曲抑制大鼠高脂血症的形成

调脂中药红曲预防组大鼠喂食高脂饲料的同时给药 4 周后,血清中各血脂指标见图 2。与模型组相比,调脂中药红曲预防组大鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平显著降低($P<0.05$ 、 0.001),HDL-C 水平显著升高($P<0.05$)。调脂中药红曲能有效抑制喂食高脂饲料大鼠的高脂血症形成,对于预防大鼠食源性高脂血症具有良好药效。

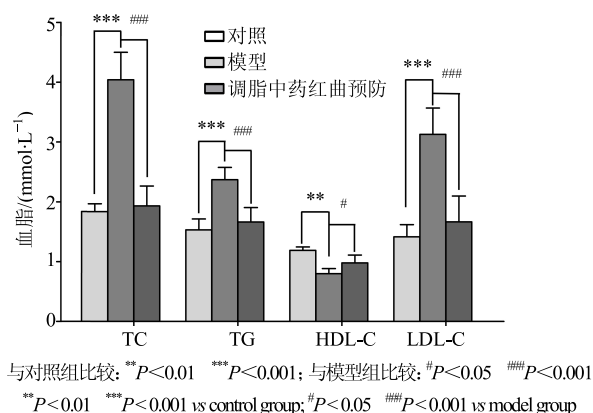


图 2 调脂中药红曲对大鼠高脂血症形成抑制作用 ($\bar{x}\pm s, n=10$)
Fig. 2 Inhibition of fermentation product of lipid-lowering TCMs on serum lipid levels of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

3.4 调脂中药红曲对高脂血症大鼠的治疗药效

在给药过程中, 各组大鼠活动正常, 食欲正常, 毛色正常, 无耸毛现象; 调脂中药红曲组和大米红曲组大鼠饮水量和排尿量较其他组增多。造模成功后连续给药4周, 各组大鼠血清中 TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平结果见图3和4。

结果表明, 与给药前比较, 脂必泰胶囊组大鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平显著降低 ($P<0.01$), HDL-C 水平显著升高 ($P<0.01$); 大米红曲具有降

低 TC 和 LDL-C 升高的作用 ($P<0.05$), 但对 HDL-C 和 TG 水平的改变效果不明显 ($P>0.05$); 调脂中药红曲组大鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01), HDL-C 水平显著升高 ($P<0.05$); 在相同洛伐他汀给药剂量下, 调脂中药红曲的调脂药效明显优于大米红曲, 说明在调脂中药红曲中, 中药调脂有效成分与红曲次级代谢产生的调脂有效成分具有协同作用, 可以获得更好的调脂效果。

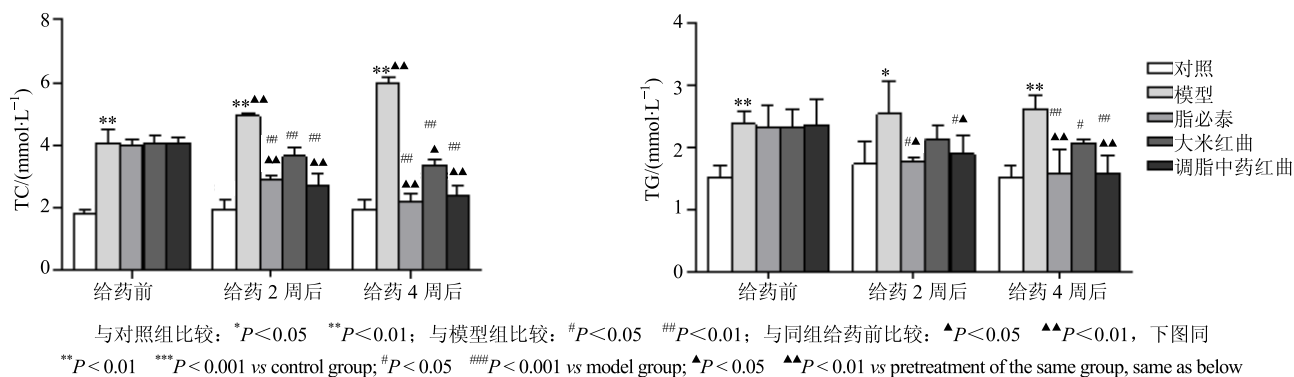


图3 调脂中药红曲对高脂血症大鼠血清 TC 和 TG 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 3 Effect of fermentation product of lipid-lowering TCMs on TC and TG in serum of hyperlipidemic rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

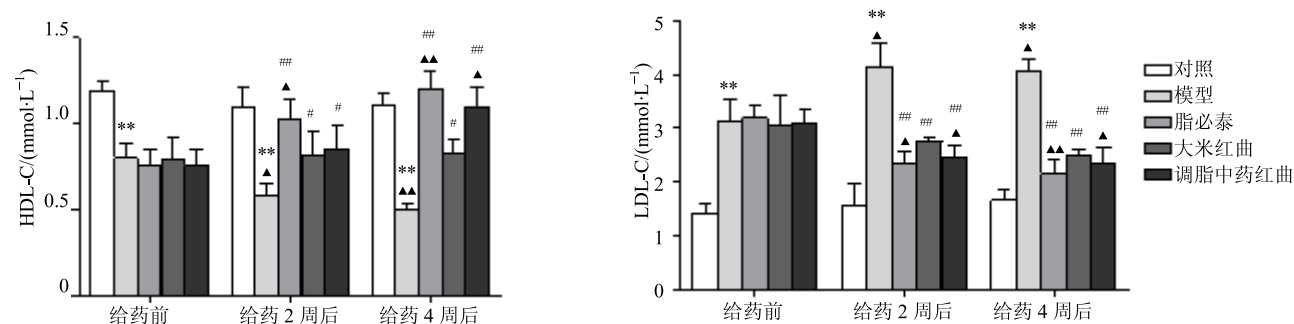


图4 调脂中药红曲对高脂血症大鼠血清 HDL-C 和 LDL-C 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 4 Effect of fermentation product of lipid-lowering TCMs on HDL-C and LDL-C in serum of hyperlipidemic rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

4 讨论

本实验以高脂饲料饲喂 SD 大鼠建立食源性高脂血症大鼠模型, 并将之用于对山楂、泽泻、决明子与红曲霉混合发酵制备的调脂中药红曲的调脂药效评价, 发现调脂中药山楂、泽泻、决明子经红曲霉发酵后发酵产物对高脂血症大鼠血脂水平具有良好的调节作用, 且相同洛伐他汀剂量下, 调脂中药红曲调脂药效优于大米红曲, 调脂中药红曲发酵产物中中药调脂成分与洛伐他汀具有协同调脂作用。有研究表明^[7-10]大米红曲与花青素、黄连素、植物甾醇等有效成分联合使用, 能更好调节高血

脂。红曲还经常与其他中药配伍治疗高脂血症。调脂药物脂必泰胶囊以红曲、泽泻、山楂、白术4味药材配伍, 经提取浓缩制成药物, 对高脂血症有很好的疗效, 与他汀类药物阿托伐他汀相比具有更好的药效表现^[11-12]。

本实验室自制的调脂中药红曲将他汀类调脂药物和传统调脂中药融为一体, 结合传统中药和现代发酵技术得以实现。以传统药食两用调血脂中药山楂、泽泻、决明子为固态发酵培养基组分, 以实验室分离纯化的符合食药管理局规定的紫色红曲霉为菌种进行固态发酵, 得到一种天然调脂产物,

药效学评价证实了该发酵产物对食源性高脂血症大鼠具有良好的调脂作用,且具有良好的安全性。该产品原料为价格低廉的天然药食材,结合固态发酵对设备要求低、能耗低、水消耗量少、无污染、无废物产生等优点,产物无需复杂的提取分离过程,可全部直接利用,且从原料及生产过程保证了产品安全性,具有较大的实际应用价值。以食用菌对天然中药进行生物转化,产生安全的调脂产品,对未来调脂产品开发和应用具有指导意义。

参考文献

- [1] James S, John J P, Vera B, *et al.* Effect of intensive lipid lowering with atorvastatin on renal function in patient with coronary heart disease: the treating to new drugs (TNT) study [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2007, 2(2): 1131-1139.
- [2] 罗千古. 中药对高脂血症的作用机制 [J]. 中国医药导报, 2010, 7(1): 85-86.
- [3] 卓林霞. 红曲的研究概况及其产品的前景展望 [J]. 轻工科技, 2012(2): 8-9.
- [4] 葛 锋, 王 艳, 王剑平, 等. 红曲中主要活性成分的研究 [J]. 昆明理工大学学报: 自然科学版, 2012, 37(2): 61-64.
- [5] 杨静云, 赖永勤, 李宇兴. 山楂、泽泻、决明子与红曲霉混合发酵制备调血脂中药工艺研究 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2100-2107.
- [6] 薛 慧, 谭志鑫, 朱祖成. 运动强度对高脂饮食大鼠脂代谢和瘦素的影响 [J]. 湖北民族学院学报: 医学版, 2005, 22(2): 9-11.
- [7] 江 璐, 李素君, 刘宗林, 等. M 红曲与葡萄籽原花青素混合剂对动脉粥样硬化大鼠血脂的影响 [J]. 食品科学, 2008, 29(7): 420-423.
- [8] Affuso F, Ruvolo A, Micillo F, *et al.* Effects of a nutraceutical combination (berberrine, red yeast rice and policosanols) on lipid levels and endothelial function randomized, double-blind, placebo-controlled study [J]. *Nutr Metabol Cardiovasc Dis*, 2010, 20(9): 656-661.
- [9] Volpe R, Gavita R, Grassi M C, *et al.* Two better than one: Plant sterols plus red yeast rice to achieves superior efficacy in patients with moderate hypercholesterolemia [J]. *Nutr Metabol Cardiovasc Dis*, 2008, 18(S1): 35-65.
- [10] Feuerstein J, Bjerke W. Powdered red yeast rice and plant stanols and sterols to lower cholesterol [J]. *BMC Compl Altern Med*, 2012, 12(Suppl 1): 144.
- [11] 贾圣英, 黄全跃, 周祁娜. 脂必泰与阿托伐他汀的调脂疗效及对血管内皮功能影响 [J]. 临床心血管病杂志, 2010, 26(12): 909-911.
- [12] 田景平, 温泽淮, 郭新峰. 脂必泰与阿托伐他汀比较治疗高脂血症疗效及安全性的系统评价 [J]. 中国循证医学杂志 2013, 13(9): 1116-1122.