

诺丽酒降血脂功能研究

Study on the hypolipidemic function of Noni wine

李晓娟

LI Xiao-juan

(株洲千金药业股份有限公司, 湖南 株洲 412007)

(Qianjin Pharmaceutical Co., Ltd., Zhuzhou, Hunan 412007, China)

摘要:通过建立高血脂症肥胖小鼠模型,将雄性小鼠分为空白对照组、低脂肪组和高脂肪组,与诺丽酒低、中、高剂量组,灌胃小鼠90 d,测定宰脂率、肾脂率和体脂率以及小鼠血清中总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇含量和呼吸交换率。结果表明,中、高剂量诺丽酒组可有效降低肥胖小鼠体重或体增量,其宰脂率、肾脂率或体脂率降低,甘油三酯、胆固醇或低密度脂蛋白含量显著降低,高密度脂蛋白含量提高,且能促进小鼠对脂肪消化,提高产热量和活动量,表明诺丽酒具有辅助降血脂的作用。

关键词:诺丽酒;小鼠;脂肪;降血脂;呼吸交换率

Abstract: Established a mouse model of hyperlipidemia. The male mice were divided into blank control group, low fat group and high fat group, and the low dose, medium dose, high dose of Noni wine. Serum concentrations of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), respiratory exchange ratio (RER), were measured after 90 days of feeding. The results showed that medium dose and high dose can effectively reduce the body weight or body weight gain of the obese mice, and the testis fat rate, renal fat rate or body fat rate decreased. The serum TC content, TG content and LDL-C in hyperlipidemia mice were significantly reduced, and the HDL-C was increased. Noni wine can promote fat digestion, increase calorie production and activity of mice, which indicated that Noni wine had hypolipidemic effect.

Keywords: Noni wine; mice; fat; hypolipidemic; respiratory exchange ratio

诺丽(*Morinda citrifolia* Linn)是一种生长于热带、亚热带沿海地区的茜草科药用植物^[1],其叶、茎、根、花、

果实均能入药^[2],含有多酚、黄酮、多糖、环烯醚萜、生物碱、矿物质和维生素等营养活性成分^[3-5],具有清除自由基、抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、抗炎症等功效^[6],能显著调理高血脂、高血压、糖尿病等疾病^[7],促进高脂肪和高胆固醇饮食中的心脏保护作用^[8]。

目前,高血脂病具有胆固醇过高、甘油三酯过高等临床表现^[9-11],他汀类等化学药物可降低人体血清胆固醇,但伴有明显的副反应^[12]。因此,开辟新的生物降脂途径是当前医药研究者迫切需要解决的热点难题^[8]。诺丽酒是对纯诺丽果果汁进行自然发酵^[13]而得,而有关诺丽酒及诺丽降血脂功能的相关报道较少^[14]。研究拟通过动物试验对诺丽酒的降血脂功能进行评价,为诺丽在高血脂症患者饮食辅助治疗中的应用提供依据,对控制高血脂症的发病率和促进诺丽果资源精深加工具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

C57/6 小鼠:80只,4周龄,体重 (11.81 ± 0.36) g,上海斯莱克试验动物有限责任公司,江南大学实验动物中心饲喂;

诺丽酒:具体理化指标见表1,株洲千金药业股份有限公司;

盐酸、葡萄糖、次甲基蓝、五水硫酸铜、四合水酒石酸钾钠、氢氧化钠、福林酚试剂、碳酸钠、DNS显色剂、没食子酸:分析纯,阿拉丁试剂有限公司;

RPMI 1640 细胞培养基、高密度脂蛋白(HDL-C)试剂盒、低密度脂蛋白(LDL-C)试剂盒、甘油三酯(TG)试剂盒、胆固醇(TC)试剂盒:南京建成生物工程研究所。

1.1.2 主要仪器设备

全波长酶标仪:BioTek Epoch型,美国Biotek公司;

气相色谱仪:7890B型,安捷伦公司;

糖度仪:DZS706型,日本爱拓科学仪器有限公司;

基金项目:湖南省科技创新平台与人才专项(编号:2017TP2025)
作者简介:李晓娟(1989—),女,株洲千金药业股份有限公司工程师,硕士。E-mail:jaunlee@163.com
收稿日期:2020-03-23

表 1 诺丽酒的理化指标

Table 1 Analysis of physical and chemical indicators of Noni wine

酒精度/ %vol	总糖/ (g · L ⁻¹)	总酸/ (g · L ⁻¹)	挥发酸/ (g · L ⁻¹)	pH 值	可溶固 形物/%	杂醇油/ (mg · L ⁻¹)	黄酮/ (mg · L ⁻¹)	总酚/ (mg · L ⁻¹)
9.0±0.5	4.1±0.01	8.2±0.05	0.45±0.01	3.30±0.05	6.9±0.15	356.56±5.82	553.60±0.82	230.56±1.68

流式细胞仪:FACSCalibur 型,美国 BD 公司;
pH 计:PAL-1 型,上海仪电科学仪器股份有限公司;
离心机:5804R 型,德国 Eppendorf 公司;
电子天平:AL204 型,梅特勒—托利多仪器有限公司;
细胞培养箱:BBD6220 型,美国 Thermo Fisher 公司;
高通量快速实时荧光定量 PCR 仪:7900 型,美国

ABI 公司。

1.2 方法

1.2.1 试验动物分组 80 只 C57/6 小鼠随机按每 10 只为一组进行分组。① 正常组(低脂对照组,LFD),饲喂低脂日粮(10%能量来源于脂肪);② 低脂+低/中/高剂量诺丽酒组(LFD+LN/MN/HN),饲喂低脂日粮和添加低/中/高剂量诺丽酒的饮用水;③ 高脂组(HFD),饲喂高脂日粮(45%能量来源于脂肪);④ 高脂+低/中/高剂量诺丽酒组(HFD+LN/MN/HN),饲喂高脂日粮和添加低/中/高剂量诺丽酒的饮用水。其中低剂量诺丽酒组(10 mL/kg · 体重)、中剂量诺丽酒组(20 mL/kg · 体重)、高剂量诺丽酒组(40 mL/kg · 体重)。低脂日粮与高脂日粮为 AIN93 小鼠日粮加以改进,详细配方见表 2,所有试验组饮用水均调至与原产品酒基相同的 9%乙醇含量,试验周期为 90 d,所有动物自由进食、饮水并记录采食量和饮水量。第 84 天每组小鼠进行试验动物代谢系统(CLAMS)监测,处死采样。

1.2.2 指标测定

- (1) 酒精度:参照 GB/T 15038—2006 中的气相色谱法。
(2) 总糖:参照 GB/T 15038—2006 中的斐林试剂滴定法。

(3) 总酸及挥发酸含量:参照 GB/T 15038—2006 中的指示剂法。

(4) pH 值:pH 计法。

(5) 可溶固形物含量:折光仪法。

(6) 杂醇油含量:参照 GB/T 5009.48—2003 中的气相色谱法。

(7) 黄酮:紫外分光光度法^[15]。

(8) 总酚:福林酚法^[16]。

(9) 降血脂功能:采用全自动生化分析仪测定血清中的总胆固醇(TC)、甘油三脂(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)。

(10) 呼吸交换率(RER):CPET 测定系统。

1.2.3 小鼠体质量及脏器指数 末次用药后禁食 12 h,称量体重后颈部脱臼处死、解剖,快速去除脾脏、胸腺并称重。按式(1)、(2)分别计算脏器指数和脂重指数。

$$c_1 = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%, \tag{1}$$

式中:

c_1 ——脏器指数,%;

m_1 ——脏器质量,g;

m_2 ——体质量,g。

$$c_2 = \frac{m_3}{m_4} \times 100\%, \tag{2}$$

式中:

c_2 ——脂重指数,%;

m_3 ——脂肪质量,g;

m_4 ——体重,g。

1.2.4 数据处理 采用 SPSS Statistics 23 软件进行数据处理,结果以平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 饲喂剂量对小鼠体重、采食量、饮水量的影响

由图 1 和表 3 可知,3 个剂量诺丽酒饲喂正常日粮小鼠,除高剂量组饮水量显著提高外,各组的体重、体增重和采食量均无显著性差异($P>0.05$)。高脂日粮饲喂小鼠 5~13 周,其体重均显著高于正常(低脂)日粮小鼠($P<0.05$),表明试验成功建立了肥胖动物模型。添加低、中、高剂量诺丽酒可有效减低肥胖小鼠体重或体增重,其中高剂量组效果最为显著,体重由 30.09 g 降至 25.92 g,体增量由 12.96 g 降至 9.02 g,分别下降了 13.96%,30.40%,即从饲喂的第 3~15 周均可显著降低肥胖小鼠体重($P<0.05$)。此外,与 HFD 组相比,HFD+

表 2 低脂日粮和高脂日粮配方

Table 2 Dietary formula of low fat group and high fat group

组分	低脂日粮	高脂日粮	组分	低脂日粮	高脂日粮
赖氨酸	0.28	0.28	维生素	0.02	0.02
蛋氨酸	0.20	0.20	蔗糖	0.10	0.10
玉米淀粉	48.38	30.30	矿物质	0.06	0.06
小麦粉	9.00	9.00	磷酸氢钙	1.20	1.20
麦麸	9.00	9.00	碳酸钙	1.60	1.60
豆粕	24.52	24.52	氯化胆碱	0.10	0.10
豆油	2.80	2.80	氯化钠	0.20	0.20
猪油	2.54	20.62			

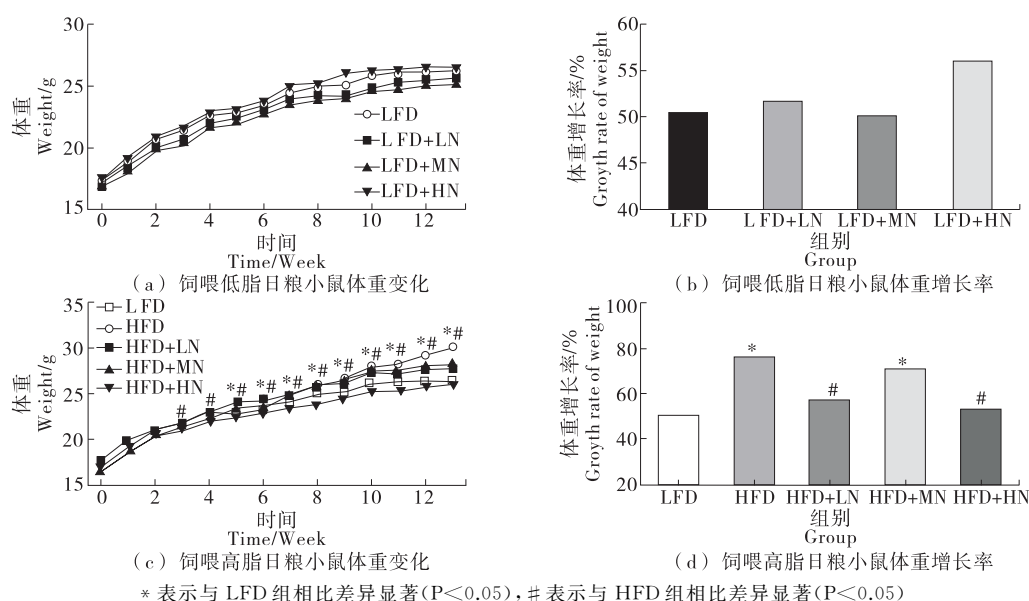


图 1 诺丽酒对小鼠体重的影响

Figure 1 The effects of Noni wine on mouse body weight

表 3 诺丽酒对小鼠终体重、体增重、采食量、饮水量的影响[†]

Table 3 The effects of Noni wine on final body weight, body weight gain, feed intake and water intake

组别	终体重/g	体增重/g	采食量/(g · d ⁻¹)	饮水/(g · d ⁻¹)
LFD	26.13 ± 1.10	8.75 ± 1.06	3.02 ± 0.22	4.27 ± 0.11
LFD+LN	25.69 ± 1.05	8.74 ± 0.88	3.04 ± 0.24	4.04 ± 0.16
LFD+MN	25.27 ± 1.29	8.41 ± 1.36	3.07 ± 0.27	4.33 ± 0.52
LFD+HN	26.16 ± 1.58	9.38 ± 1.06	2.98 ± 0.28	6.18 ± 0.55 *
HFD	30.09 ± 2.49 *	12.96 ± 2.75 *	3.37 ± 0.30 *	3.89 ± 0.19
HFD+LN	27.84 ± 1.37 * #	10.17 ± 0.99 #	3.56 ± 0.28 *	3.91 ± 0.28
HFD+MN	28.40 ± 1.01 * #	11.76 ± 0.80 *	3.52 ± 0.29 *	4.78 ± 0.40 * #
HFD+HN	25.92 ± 1.82 #	9.02 ± 1.59 #	3.35 ± 0.35 *	4.76 ± 0.69 * #

[†] * 表示与 LFD 组相比差异显著 ($P < 0.05$); # 表示与 HFD 组相比差异显著 ($P < 0.05$)。

MN 组和 HFD+HN 组饮水量分别升至 4.79, 4.76 g/d, 饮水量显著提高 ($P < 0.05$), 采食量则无显著性差异。

2.2 饲喂剂量对小鼠睾脂率、肾脂率、体脂率的影响

由表 4 可知, 中、高剂量诺丽酒饲喂正常日粮小鼠可显著降低睾脂率或肾脂率 ($P < 0.05$), 但对体脂率无显著性影响 ($P > 0.05$)。3 个剂量诺丽酒饲喂肥胖小鼠睾脂率由 3.64% 降至 2.13%, 肾脂率由 1.59% 降至 0.74%, 体脂率由 21.75% 降至 12.52%, 可显著降低睾脂率、肾脂率或体脂率 ($P < 0.05$), 其中以高剂量组降脂效果最为显著, 其腹部脂肪沉积可降低至正常水平, 说明诺丽酒能有效修复高脂物质对肾脏细胞所造成的损伤, 使其恢复至正常水平, 并随着诺丽酒浓度的增加, 腹部脂肪逐渐降低。

2.3 饲喂剂量对小鼠血脂的影响

由表 5 可知, 3 个剂量诺丽酒饲喂正常小鼠的血脂生化指标均无显著性差异 ($P > 0.05$)。肥胖小鼠饲喂中、高剂量诺丽酒, 其甘油三酯、胆固醇、低密度脂蛋白含量分

别下降了 28.90%, 13.97%, 60.34%, 说明诺丽酒可显著降低血浆中甘油三酯、胆固醇或低密度脂蛋白水平 ($P <$

表 4 诺丽酒对小鼠脂肪比率的影响[†]

Table 4 The effects of Noni wine on the fat ratio of mice

组别	睾脂率	肾脂率	体脂率
LFD	1.86 ± 0.35	0.69 ± 0.14	10.32 ± 0.56
LFD+LN	1.95 ± 0.32	0.68 ± 0.12	12.90 ± 0.71
LFD+MN	1.55 ± 0.17 *	0.50 ± 0.04 *	10.10 ± 1.96
LFD+HN	1.80 ± 0.30	0.56 ± 0.12 *	11.35 ± 2.57
HFD	3.64 ± 1.08 *	1.59 ± 0.43 *	21.75 ± 2.15 *
HFD+LN	2.58 ± 0.50 * #	0.98 ± 0.24 * #	14.81 ± 2.60 * #
HFD+MN	2.78 ± 0.67 * #	1.00 ± 0.26 * #	17.90 ± 1.90 *
HFD+HN	2.13 ± 0.51 #	0.74 ± 0.18 #	12.52 ± 2.09 #

[†] * 表示与 LFD 组相比差异显著 ($P < 0.05$); # 表示与 HFD 组相比差异显著 ($P < 0.05$)。

0.05);高剂量诺丽酒饲喂小鼠的高密度脂蛋白含量由120.46 mmol/L升至133.03 mmol/L,显著提高了10.43% ($P<0.05$)。诺丽中的多酚、黄酮等活性成分能有效防止自由基损害,抗氧化剂是脂质过氧化物酶的重要抑制剂^[17],应对高胆固醇引起的氧化应激反应,抑制脂质的吸收和分泌;且诺丽酒中富含黄酮和多酚等物质会抑制脂质的生物合成,降低脂肪酶活力,减少脂质吸收^[18-20],能有效抑制高脂肪或高胆固醇的吸收,保护组织细胞^[21]。综上所述,诺丽酒对肥胖小鼠具有显著降血脂、降血清甘油三酯和降血清总胆固醇的功能。

2.4 饲养剂量对小鼠呼吸交换率、能量消耗和自主活动的影响

呼吸交换率(RER)是一定时间内机体呼出CO₂和吸入O₂的比值。加大运动量,呼出更多CO₂,RER值增大,其作为运动强度的一个指标^[22]。休息时,RER为

0.7~1.0,RER值接近1.0,表明机体以糖代谢为主要供能方式,RER值接近0.7,则以脂代谢为主要供能方式^[23]。由图2可知,与HFD组相比,HFD+HN组的RER值降低,更接近0.7,表明诺丽酒可在一定程度上促进小鼠对脂肪的消耗。此外,HFD+HN组产热量和活动量显著提高($P<0.05$),表明诺丽酒主要是通过提高脂肪利用、增加产热和活动量实现其降脂减肥功能的。

3 结论

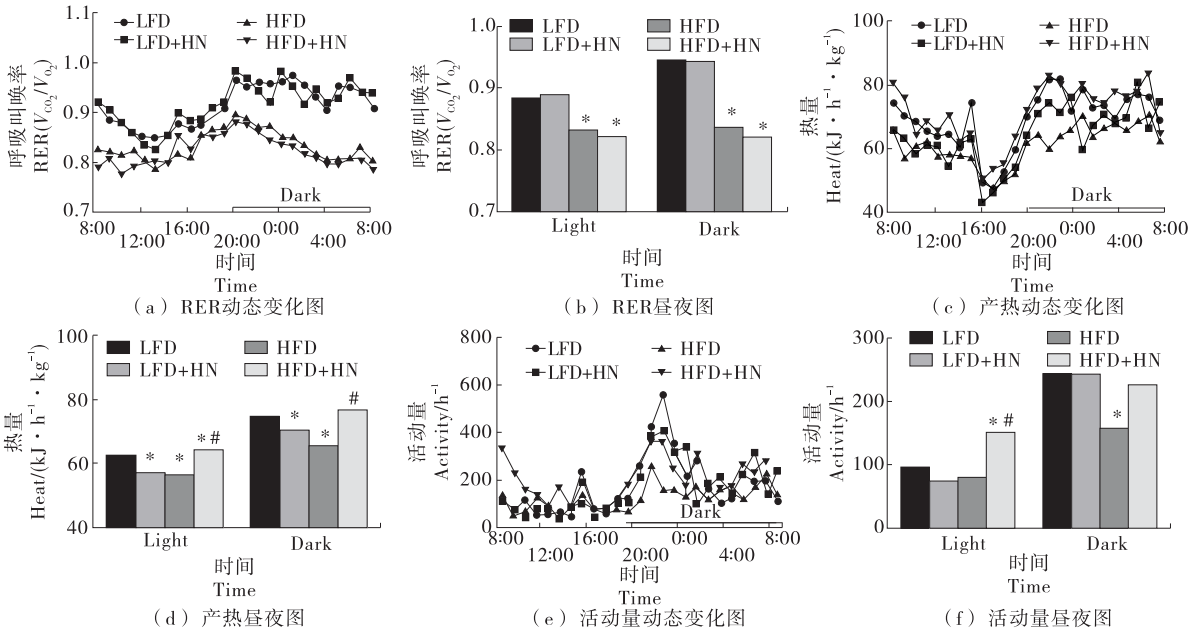
以中、低、高剂量的诺丽酒灌胃小鼠90 d。结果表明,诺丽酒对正常日粮小鼠体重、体增重和采食量无显著性影响($P>0.05$);中、高剂量诺丽酒组可有效降低肥胖小鼠体重或体增量,宰脂率、肾脂率或体脂率的下降均显著高于空白对照组与酒基对照组,且血浆中甘油三酯、胆固醇或低密度脂蛋白含量也显著低于空白对照组与酒基

表5 血脂生化指标[†]

Table 5 The biochemical indicators of blood lipids

组别	甘油三酯/(mmol·L ⁻¹)	胆固醇/(mmol·L ⁻¹)	高密度脂蛋白/(mg·dL ⁻¹)	低密度脂蛋白/(mg·dL ⁻¹)
LFD	1.43±0.34	1.73±0.25	105.83±12.38	5.74±1.45
LFD+LN	1.29±0.21	1.82±0.16	108.34±7.73	6.49±1.59
LFD+MN	1.07±0.26 [*]	1.94±0.12	105.14±22.03	5.93±0.82
LFD+HN	1.30±0.45	1.94±0.35	104.91±12.02	5.42±1.10
HFD	1.73±0.50 [*]	2.72±0.20 [*]	120.46±16.42	10.72±1.54 [*]
HFD+LN	1.66±0.30	2.79±0.32 [*]	108.80±7.98	7.94±1.87 ^{*#}
HFD+MN	1.12±0.31 [#]	2.72±0.46 [*]	108.11±17.79	5.93±0.90 [#]
HFD+HN	1.23±0.46 [#]	2.34±0.13 ^{*#}	133.03±12.16 ^{*#}	4.22±1.62 [#]

[†] *表示与LFD组相比差异显著($P<0.05$);#表示与HFD组相比差异显著($P<0.05$)。



*表示与LFD组相比差异显著($P<0.05$),#表示与HFD组相比差异显著($P<0.05$)

图2 小鼠的呼吸交换率、产热和活动量

Figure 2 The respiratory exchange rate, heat production and activity of mouse

对照组,但血浆中高密度脂蛋白高于对照组,说明中、高剂量的诺丽酒可使肥胖小鼠具有显著降血脂、降血清甘油三酯和降血清总胆固醇的功能。此外,诺丽酒可在一定程度上促进小鼠对脂肪的消耗,提高小鼠的产热量和活动量,实现其降脂减肥功能。但诺丽酒降血脂的药理机制未完全清晰,后续可针对诺丽酒中的生物活性成分和生理功能展开更深入的研究。

参考文献

- [1] YAN Yong-qiu, TONG Ying-peng, LU Yu, et al. Research progress on chemical constituents of *Morinda citrifolia* and their pharmacological activities[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2017, 48(9): 1 888-1 905.
- [2] ASSI R A, DARWIS Y, ABDULBAQI I M, et al. *Morinda citrifolia* (Noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials [J]. Arabian Journal of Chemistry, 2017, 10(5): 691-707.
- [3] LIU Guang-ming, BODE Ann, MA Wei-ya, et al. Two novel glycosides from the fruits of *Morinda citrifolia* (noni) inhibit AP-1 transactivation and cell transformation in the mouse epidermal JB6 cell line[J]. Cancer Research, 2001, 61(15): 5 749-5 756.
- [4] SU Bao-ning, PAWLUS Alison D, JUNG Hyun-Ah, et al. Chemical constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (noni) and their antioxidant activity[J]. Journal of Natural Products, 2005, 68(4): 592-595.
- [5] FURUSAWA E, HIRAZUMI A, STORY S, et al. Antitumour potential of a polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) on sarcoma 180 ascites tumour in mice[J]. Phytotherapy Research, 2003, 17(10): 1 158-1 164.
- [6] PRATAP U P, HIMA L, PRIYANKA H P, et al. Noni (*Morinda citrifolia* L.) fruit juice reverses age-related decline in neural-immune interactions in the spleens of old F344 rats[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2017, 298(23): 363-371.
- [7] 张洪财, 王文娟, 刘树民. 诺丽果化学成分的研究进展[J]. 哈尔滨医药, 2011, 31(3): 213-214, 216.
- [8] JING Hui-juan, LI Juan, ZHANG Jian-jun, et al. The antioxidative and anti-aging effects of acidic and alkaline-extractable mycelium polysaccharides by *Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 106: 1 270-1 278.
- [9] HUANG Wen-ching, CHEN Yi-ming, KAN Nai-wen, et al. Hypolipidemic effects and safety of *Lactobacillus Reuteri* 263 in a hamster model of hyperlipidemia[J]. Nutrients, 2015, 7(5): 3 767-3 782.
- [10] KONG Xue-jun, GAO Yan-ling, GENG Xiu-li, et al. Effect of lipid lowering tablet on blood lipid in hyperlipidemia model rats[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2018, 25(4): 715-718.
- [11] SMITH J S C, ALLEN J B, STEVEN N, et al. AHA/ACC guidelines for secondary prevention for patients with coronary and other atherosclerotic vascular disease: 2006 update endorsed by the national heart lung and blood institute[J]. Journal of the American College of Cardiology, 2006, 47(10): 2 130-2 139.
- [12] LAIRON D, PLAY B, JOURDHEUIL R. Digestible and indigestible carbohydrates: Interactions with postprandial lipid metabolism[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2007, 18(4): 217.
- [13] CHANG Yuan-yen, LIN Yi-ling, YANG Deng-jye, et al. Hepatoprotection of Noni juice against chronic alcohol consumption: Lipid homeostasis, antioxidation, alcohol clearance, and anti-inflammation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(46): 11 016-11 024.
- [14] 李婷婷. 海巴戟发酵工艺优化及调节Ⅱ型糖尿病小鼠血糖血脂研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2018: 2-5.
- [15] 郑媛媛, 李辰, 封士兰, 等. 油橄榄叶中总黄酮含量测定方法探讨[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(2): 547-550.
- [16] LI Xi-can, WU Xiao-ting, HUANG Ling. Correlation between antioxidant activities and phenolic of radix *Angelicae sinensis* (Danggui)[J]. Molecules, 2009, 14(12): 5 349-5 361.
- [17] ZIN Z M, ABDUL-HAMID A, OSMAN A. Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit and leaf [J]. Food Chemistry, 2002, 78: 227-231.
- [18] GLABER G, GRAEFE E U, STRUCK F, et al. Comparison of antioxidative capacities and inhibitory effects on cholesterol biosynthesis of quercetin and potential metabolites[J]. Phytomedicine, 2002, 9(1): 33-40.
- [19] MANDUKHAIL S R, AZIZ N, GILANI A H. Studies on antidiabetic effects of *Morinda citrifolia* (Noni) fruit, leaves and root extracts [J]. Lipids in Health and Disease, 2010, 9(1): 88.
- [20] SUGIYAMA H, AKAZOME Y, SHOJI T, et al. Oligomeric procyanidins in apple polyphenol are main active components for inhibition of pancreatic lipase and triglyceride absorption[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55: 4 604-4 609.
- [21] LIN Yi-ling, CHOU Chung-hsi, YANG Deng-jye, et al. Hypolipidemic and antioxidative effects of Noni (*Morinda citrifolia* L.) juice on high-fat/cholesterol-dietary hamsters[J]. Plant Foods Hum Nutr, 2012, 67: 294-302.
- [22] BALADY G J, ARENA R, SIETSEMA K, et al. Clinician's guide to cardiopulmonary exercise testing in adults: A scientific statement from the American heart association[J]. Circulation, 2010, 122(2): 191-225.
- [23] 费家玥, 孙兴国, 于辉, 等. 功率功率递增速率影响正常人心肺运动试验峰值呼吸交换率的初步观察研究[J]. 中国全科医学, 2018, 21(30): 3 687-3 692.