

王晴,洪叶,柳振宇,等.甘草多糖的抗氧化及降血糖作用研究[J].食品工业科技,2023,44(1):398-404. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030175

WANG Qing, HONG Ye, LIU Zhenyu, et al. Study on the Antioxidant and Hypoglycemic Effects of *Glycyrrhiza* Polysaccharide[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(1): 398-404. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030175

· 营养与保健 ·

甘草多糖的抗氧化及降血糖作用研究

王 晴,洪 叶,柳振宇*,林长青*
(延边大学,医学院,吉林延吉 133000)

摘要:目的:研究甘草多糖的抗氧化作用及对 1 型糖尿病 (Type 1 diabetes mellitus, T1DM) 小鼠降血糖作用。方法:提取并纯化甘草多糖,苯酚硫酸法测定多糖含量,采用 DPPH·、ABTS⁺ 的清除率测定其抗氧化性。小鼠适应性喂养 7 d 后,对其进行腹腔注射 STZ (30 mg/kg·BW),建立 T1DM 模型,实验分为正常组、模型组、甘草多糖高剂量组 (400 mg/kg·BW)、甘草多糖低剂量组 (200 mg/kg·BW)、阳性组 (二甲双胍 200 mg/kg·BW),实验期间测定小鼠基础指标和小鼠脂代谢及氧化应激相关指标的变化。结果:甘草多糖含量为 690 mg/g,在 1000 μg/mL 质量浓度下其对 DPPH·、ABTS⁺ 的清除能力分别为 82.84%±0.80%, 85.52%±2.27%。在动物实验中,第 8 周时,甘草多糖高剂量组小鼠体重达到了 20.84±0.87 g,与阳性组无显著性差异 ($P>0.05$)。高剂量组中空腹血糖值 (Fasting blood glucose, FBG) 水平为 15.9 mmol/L,与阳性组无显著性差异 ($P>0.05$),且能显著提高葡萄糖耐量 (Oral Glucose Tolerance Test, OGTT) 水平 ($P<0.05$)。甘草多糖高剂量组小鼠的总胆固醇 (Total Cholesterol, TC)、甘油三酯 (Triglyceride, TG)、高密度脂蛋白 (High-density lipoprotein, HDL-C)、低密度脂蛋白 (Low-density lipoprotein, LDL-C) 分别为 2.79±0.36、0.98±0.12、1.28±0.23、1.67±0.29 mmol/L,与模型组有极显著性差异 ($P<0.01$),且能够极显著升高超氧化物歧化酶 (Super Oxide Dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT)、总谷胱甘肽 (Glutathione, GSH) 的含量,极显著降低丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量 ($P<0.01$)。结论:甘草多糖具有较好的抗氧化性,可以通过改善 T1DM 小鼠脂代谢水平和氧化应激水平从而起到降血糖作用。

关键词:甘草多糖,抗氧化,降血糖,脂代谢,氧化应激

中图分类号:TS218

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2023)01-0398-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030175



本文网刊:

Study on the Antioxidant and Hypoglycemic Effects of *Glycyrrhiza* Polysaccharide

WANG Qing, HONG Ye, LIU Zhenyu*, LIN Changqing*

(School of Medicine, Yanbian University, Yanji 133000, China)

Abstract: Objective: To investigate the antioxidant effect of *Glycyrrhiza* polysaccharide and its hypoglycemic effect on type 1 diabetes mellitus (T1DM) mice. Methods: *Glycyrrhiza* polysaccharides were extracted and purified, the polysaccharide content was determined by the phenol sulfuric acid method, and its antioxidant activity was determined by the clearance of DPPH· and ABTS⁺. After 7 days of adaptive feeding, mice were intraperitoneally injected with STZ (30 mg/kg·BW) to establish a T1DM model. The experiment was divided into normal group, model group, *Glycyrrhiza* polysaccharide high-dose group (400 mg/kg·BW), *Glycyrrhiza* polysaccharide low-dose group (200 mg/kg·BW), and positive group (metformin 200 mg/kg·BW). The changes of basic indexes and indexes related to lipid metabolism and oxidative stress in mice were measured during the experiment. Results: The content of *Glycyrrhiza* polysaccharide was 690 mg/g, and its scavenging abilities of DPPH· and ABTS⁺ were 82.84%±0.80%, 85.52%±2.27% at 1000 μg/mL mass concentration, respectively. In the animal experiments, the body weight of mice in the high-dose group of *Glycyrrhiza* polysaccharide reached 20.84±0.87 g at the 8th week, which was not significantly different from the positive group

收稿日期: 2022-03-15

基金项目: 吉林省重点科技攻关项目 (20170204023YY)。

作者简介: 王晴 (1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中西医结合防治糖尿病及其并发症, E-mail: wangqing0813@163.com。

* 通信作者: 柳振宇 (1977-), 男, 硕士, 讲师, 研究方向: 朝医临床及二型糖尿病并发症, E-mail: liuzy@ybu.edu.cn。

林长青 (1970-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 中西医结合防治糖尿病及其并发症, E-mail: lincq0608@163.com。

($P>0.05$)。In the high-dose group, the fasting blood glucose (FBG) level was 15.9 mmol/L, which was not significantly different from the positive group ($P>0.05$), and it significantly improved the glucose tolerance (OGTT) level ($P<0.05$). The total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein (HDL-C), and low-density lipoprotein (LDL-C) in the mice in the high-dose group of *Glycyrrhiza* polysaccharide were 2.79 ± 0.36 , 0.98 ± 0.12 , 1.28 ± 0.23 , 1.67 ± 0.29 mmol/L, respectively, which were highly significantly different from those of the model group ($P<0.05$), and the levels of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and total glutathione (GSH) were increased significantly ($P<0.01$), and significantly reduced the content of malondialdehyde (MDA). Conclusion: *Glycyrrhiza* polysaccharide has good antioxidant properties and it can hypoglycemic by improving lipid metabolism and oxidative stress in T1DM mice.

Key words: *Glycyrrhiza* polysaccharide; antioxidant activity; hypoglycemic; lipid metabolism; oxidative stress

甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)又名国老、甜草,为豆科甘草属多年生草本植物^[1]。目前,已经从甘草中分离出大量的生物活性物质,如香豆素类、挥发油类、皂苷类、多糖类等^[2]。多糖是一类结构多样的大分子,由单糖残基通过糖苷键相互连接而成的聚合物^[3]。甘草多糖是一种酸性吡喃多糖,内部有小气泡状孔洞。研究发现,甘草多糖因其具有抗氧化^[4],调节免疫活性^[5],抗菌^[6],抑制肿瘤生长^[7],抗炎^[8],生物制药^[9]等特性而备受关注。另有研究指出,甘草多糖可以抑制 α -葡萄糖苷酶的活性,有助于缓解高血糖^[10]。

1 型糖尿病(T1DM)的发展受多重因素的影响,其中遗传和环境因素最为主要^[11],在世界范围内,患病人数激增,已引起越来越多学者的重视。T1DM的发病原因主要由于体内胰岛素分泌不足,不能将摄入的物质及时分解,使得机体内糖代谢失调,最终导致血糖升高,引发糖尿病。T1DM的发病机制复杂,不仅是单一的异常血糖代谢疾病,更是全身代谢紊乱疾病,它已严重影响人们的生活质量。近年来,随着T1DM患者数量的增加,治疗药物也越来越多。但目前市面上的降糖药物主要以西药为主,西药有很多的副作用,长期服用会造成内分泌失调,产生较强依赖性,甚至会诱发癌变等^[12],因此更加青睐对药食两用的中药资源在降血糖方面的开发。

但目前有关甘草多糖的报道多集中在甘草多糖的提取工艺以及纯化研究^[13-14],对于甘草多糖对降血糖的作用还鲜有报道。实验拟研究甘草多糖的抗氧化及降血糖作用,旨在开发出更多甘草产品,为临床治疗糖尿病提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

甘草 市售,产自甘肃,2020年9月收获,规格为二等甘草;6周龄 C57BL/6 小鼠 雄性,无特定病原体(SPF)级,50只,体重(25 ± 2)g,长春亿斯实验动物中心,合格证书:SCXK(吉)2018-0007。符合《延边大学实验动物伦理守则》,获得延边大学实验动物伦理委员会批准;DPPH·自由基(DPPH·)清除能力检测试剂盒、ABTS·自由基(ABTS·)清除能力检测试剂盒、总胆固醇(Total Cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、高密度脂蛋白(High-density lipoprotein, HDL-C)、低密度脂蛋白(Low-density

lipoprotein, LDL-C)试剂盒 北京索莱宝科技有限公司;链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ) 99.9%,美国 Sigma 公司;盐酸二甲双胍缓释片 北京太平洋药业有限公司;超氧化物歧化酶(Super Oxide Dismutase, SOD)活性检测试剂盒、过氧化氢酶(Catalase, CAT)检测试剂盒、总谷胱甘肽(Glutathione, GSH)检测试剂盒、脂质氧化(Malondialdehyde, MDA)检测试剂盒 上海碧云天生物技术有限公司。

HH-4 型四孔数显恒温水浴锅 江苏科析仪器有限公司;DHG-9070A 型立式鼓风干燥箱 上海一恒科学仪器有限公司;XL-10B 型扣压摇摆式粉碎机 杭州旭众机械设备有限公司;SuPerMax 3100 型多功能酶标仪 上海闪谱生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 甘草多糖提取及纯化 将甘草烘干,粉碎后过 40 目筛,参照张光辉等^[15]的方法并稍作改动,甘草:水比为 1:20(g/mL),提取时间 3 h,提取温度 80 °C,浸提两次,合并提取液,用 85% 乙醇醇沉 24 h,取沉淀,用氯仿-正丁醇除去提取物中蛋白,冻干成粉,4 °C 保存备用。取甘草多糖粗提物,用分子量为 3500 Da 的透析袋透析 24 h,过 DEAE-52 纤维素柱,分别用水、0.1 mol/L NaCl、0.2 mol/L NaCl 进行洗脱,速度为 1 mL/min,再过葡聚糖凝胶 G-200 柱子,用蒸馏水进行洗脱,速度为 1 mL/min,旋蒸浓缩,并冻干成为甘草多糖。

1.2.2 甘草多糖的多糖含量测定 采用苯酚硫酸法^[16]测定多糖含量,称取标准葡聚糖 10 mg 于 250 mL 容量瓶中,加水至刻度,分别吸取 0、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9 mL,各以蒸馏水补至 1.0 mL,加入 1 mL 6% 苯酚,5.0 mL 浓硫酸,30 °C 水浴 30 min,486 nm 测吸光度,以葡聚糖浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线。称取样品 1 mg,溶于 1 mL 水中,按上述方法进行测定,并根据标准曲线计算多糖含量。

1.2.3 甘草多糖的抗氧化性测定

1.2.3.1 DPPH·清除率的测定 根据王秋丹等^[17]方法并稍作改动,称取 5 mg 甘草多糖,溶于 5 mL 蒸馏水中,原液浓度为 1000 $\mu\text{g/mL}$,将原液按梯度稀释为 800、400、200、100、50 $\mu\text{g/mL}$,以 V_c 作为对照组,样品组:取不同浓度样品液 1 mL 于 5 mL 离心管

中,并加入 3 mL DPPH 溶液,样品对照组:样品液加 3 mL 甲醇溶液吸光度为 A_j ,空白对照组:1 mL 甲醇溶液加 3 mL DPPH 溶液吸光度为 A_0 。3500 r/min 离心 20 min,在 517 nm 处测吸光度,按公式(1)进行计算。

$$\text{DPPH}\cdot\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: A_i : 样品组吸光度; A_j : 样品对照组吸光度; A_0 : 空白对照组吸光度。

1.2.3.2 ABTS $^+$ 清除率的测定 准确称取干燥至恒重的 ABTS 标准品 180 mg,加入 50 mL 蒸馏水,加入 33 mg 过硫酸钾,室温避光放置 12~24 h 备用。用蒸馏水稀释并调节至 405 nm 照射吸光度 OD 值调节在 0.70±0.02 范围内。

样品溶液的制备:用蒸馏水配制 1000、800、400、200、100、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的甘草多糖提取液、 V_C 溶液作对照,取不同浓度样液 30 μL 加入配好的 ABTS 溶液 270 μL ,酶标仪于 405 nm 处测定吸光度值 A_i ,等体积蒸馏水代替 ABTS 溶液做空白对照组 A_j ,蒸馏水替代样品作为对照组 A_0 。每个样品浓度平行三次实验,取平均值。ABTS $^+$ 清除率按公式(2)进行计算。

$$\text{ABTS}^+\cdot\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(2)}$$

式中: A_i 为 30 μL 甘草多糖溶液加入 270 μL ABTS 溶液于 405 nm 处的吸光度; A_j 为 30 μL 甘草多糖溶液加入 270 μL 蒸馏水于 405 nm 处的吸光度; A_0 为 30 μL 蒸馏水加入 270 μL ABTS 溶液于 405 nm 处的吸光度。

1.2.4 甘草多糖的降血糖作用研究

1.2.4.1 动物分组及给药 50 只 C57BL/6 小鼠,分为 5 组,每组 10 只,正常组(灌胃蒸馏水 200 mg/kg·BW),模型组(灌胃蒸馏水 200 mg/kg·BW),甘草多糖低剂量组(甘草多糖 200 mg/kg·BW),甘草多糖高剂量组(甘草多糖 400 mg/kg·BW),阳性组(二甲双胍 200 mg/kg·BW),剂量设定通过前期预实验而定。动物适应性喂养 1 周,除正常组外,其他组别连续 5 d 腹腔注射 STZ(30 mg/kg·BW)建立 T1DM 模型,每天上午 9:00 进行灌胃,连续灌胃 8 周,实验期间对所有小鼠的体重进行记录,造模成功后每两周对小鼠进行隔夜禁食,禁食不禁水,次日采用尾尖取血测定空腹血糖值(FBG)并记录。

1.2.4.2 小鼠口服糖耐量测定 参照王秋丹等^[17]的方法进行口服糖耐量(OGTT)实验,在实验最后一天灌胃 1 g/kg·BW 葡萄糖溶液,分别于灌胃 0、30、60、90 min 使用尾尖取血测定小鼠血糖值。

1.2.5 小鼠 TC、TG、HDL-C、LDL-C 测定 实验结束后,眼球取血,室温静置 2 h,3000 r/min 离心 10 min,将离心后的上清液吸至 1.5 mL 离心管中,即为血清,

按试剂盒要求取上血清行各项指标的测定。

1.2.6 小鼠 SOD、GSH、CAT、MDA 测定 小鼠解剖后,将肝脏取出并称重,按肝脏:生理盐水为 1:3 的比例制备成组织匀浆,并按试剂盒说明书依次加入反应液,测定肝脏组织中 SOD、GSH、CAT、MDA 活性及含量。

1.3 数据处理

使用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计学分析和显著性差异分析,结果以均值±标准偏差表示, $P<0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 甘草多糖的含量

多糖的标准曲线方程为 $y=10.1741x+0.0237$ ($R^2=0.9901$),计算出多糖含量为 690 mg/g。

2.2 甘草多糖对 DPPH \cdot 、ABTS $^+$ 的清除能力

图 1 为甘草多糖在不同浓度下对 DPPH \cdot 、ABTS $^+$ 的清除能力,在 50~1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内,甘草多糖对 DPPH \cdot 、ABTS $^+$ 的清除能力呈现剂量依赖性升高,且在 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下达到最高,对二者的清除能力分别为 82.84%±0.80%,85.52%±2.27%,但均与 V_C 有极显著性差异($P<0.01$)。甘草多糖清除 DPPH \cdot 和 ABTS $^+$ 的 IC_{50} 值为 162.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 74.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$,可见甘草多糖有着良好的抗氧化性。

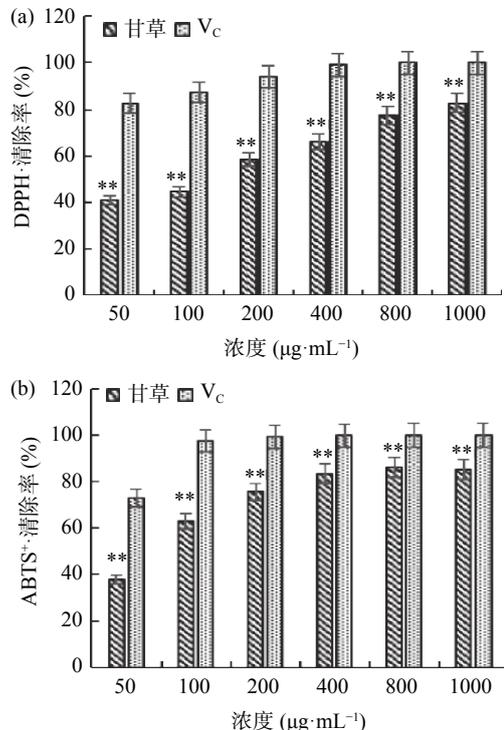


图 1 甘草多糖对 DPPH \cdot 、ABTS $^+$ 的清除能力

Fig.1 The scavenging capacity of *Glycyrrhiza* polysaccharide on DPPH \cdot , ABTS $^+$

注: **与 V_C 相比差异极显著($P<0.01$)。

2.3 甘草多糖对小鼠体重、FBG 的影响

体重减轻以及 FBG 升高是糖尿病的典型特征^[18]。表 1 为 T1DM 小鼠体重,在实验结束时,与正

常组相比, 模型组小鼠的体重显著降低($P<0.05$), 但经高、低剂量的甘草多糖灌胃后的 T1DM 小鼠体重下降得到缓解, 且高剂量组与低剂量组间无显著性差异($P>0.05$), 高剂量组与阳性组间无显著性差异($P>0.05$)。表 2 为 T1DM 小鼠 FBG, 经 8 周的灌胃后, 各小鼠的 FBG 差异显著($P<0.05$)。与模型组相比, 灌胃了甘草多糖的 T1DM 小鼠的 FBG 显著下降($P<0.05$), 在第 8 周时, 甘草多糖高剂量组与低剂量组和阳性组间均无显著性差异($P>0.05$)。这表明, 甘草多糖能够缓解 T1DM 小鼠体重的下降, 并控制其 FBG 的升高, 具有一定的治疗糖尿病的潜力。

表 1 T1DM 小鼠体重(g)
Table 1 Body weight of T1DM rats (g)

| 时间(周) | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
|----------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 正常组 | 24.14±0.63 ^a | 24.75±0.82 ^a | 25.38±0.46 ^a | 25.86±1.07 ^a | 26.09±0.74 ^a |
| 模型组 | 25.42±0.68 ^a | 22.37±0.39 ^b | 21.15±0.26 ^c | 19.92±0.62 ^d | 18.88±0.54 ^c |
| 甘草多糖低剂量组 | 24.63±0.85 ^a | 22.86±0.64 ^b | 21.03±0.76 ^c | 20.28±0.83 ^c | 19.95±0.48 ^c |
| 甘草多糖高剂量组 | 26.28±0.38 ^a | 25.23±0.74 ^a | 22.17±0.26 ^{bc} | 21.06±0.67 ^{bc} | 20.84±0.87 ^{bc} |
| 阳性组 | 25.53±0.78 ^a | 24.96±0.46 ^a | 23.24±1.02 ^b | 22.63±0.67 ^b | 21.96±1.14 ^b |

注: 同一列中不同字母表示差异显著($P<0.05$), 表 2 同。

表 2 T1DM 小鼠空腹血糖值(mmol/L)
Table 2 Fasting blood glucose of T1DM rats (mmol/L)

| 组别(周) | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
|----------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
| 正常组 | 6.2±0.7 ^a | 6.5±0.5 ^a | 7.0±0.6 ^a | 6.8±0.9 ^a | 7.3±0.7 ^a |
| 模型组 | 22.5±0.4 ^b | 24.7±0.8 ^d | 25.4±0.7 ^d | 24.1±0.5 ^c | 25.1±0.9 ^c |
| 甘草多糖低剂量组 | 22.9±0.5 ^b | 20.8±0.6 ^c | 20.1±0.4 ^c | 18.5±0.8 ^{bc} | 17.5±0.6 ^b |
| 甘草多糖高剂量组 | 21.5±0.5 ^b | 18.4±0.6 ^b | 17.5±0.4 ^b | 16.2±0.8 ^b | 15.9±0.6 ^b |
| 阳性组 | 23.4±0.4 ^b | 21.0±0.6 ^c | 19.0±0.5 ^{bc} | 17.9±0.8 ^{bc} | 16.1±0.2 ^b |

2.4 甘草多糖对 T1DM 小鼠 OGTT 的影响

OGTT 能够反映机体对葡萄糖的耐受能力。由图 2 所示, 在灌胃葡萄糖后, 小鼠血糖含量在 30 min 内急剧升高, 在 30 min 时血糖均达到了最高值, 随后

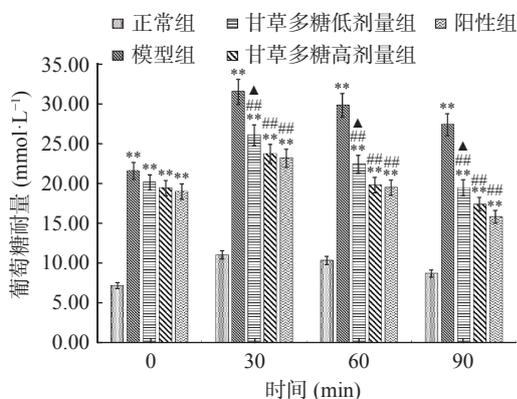


图 2 甘草多糖对 T1DM 小鼠 OGTT 的影响

Fig.2 Effect of *Glycyrrhiza* polysaccharide on OGTT of T1DM rats

注: 与正常组比较, *表示 $P<0.05$, **表示 $P<0.01$; 与模型组比较, #表示 $P<0.05$, ##表示 $P<0.01$; 与阳性组比较, ▲表示 $P<0.05$, ▲▲表示 $P<0.01$; 图 3、图 4 同。

呈现下降趋势, 且高剂量组的糖耐量极显著优于模型组($P<0.01$)。经甘草多糖灌胃后, 可能调节了 T1DM 小鼠体内对葡萄糖的摄取及利用, 从而降低了其 FBG 水平, 提高了机体的 OGTT 水平。可见, 甘草多糖能够提高 T1DM 小鼠对葡萄糖的耐受能力。

2.5 甘草多糖对小鼠 TC、TG、HDL-C、LDL-C 的影响

机体中 TC、TG、HDL-C、LDL-C 能够反映机体对脂代谢的调控能力。图 3 为甘草多糖对 T1DM 小鼠血脂水平的影响, 与正常组相比, 模型组中 TC、TG、LDL-C 水平极显著升高($P<0.01$), HDL-C 水平极显著降低($P<0.01$), 甘草多糖高剂量组 TC、TG、HDL-C、LDL-C 分别为 $2.79±0.36$ 、 $0.98±0.12$ 、 $1.28±0.23$ 、 $1.67±0.29$ mmol/L, 可见经其治疗后能够极显著降低 TC、TG、LDL-C 的水平($P<0.01$), 极显著提高 HDL-C 的水平($P<0.01$)。这可能由于甘草多糖在体内水解吸收后, 参与了 T1DM 小鼠的脂代谢反应, 从而改善了异常血脂水平。由此能够说明甘草多糖具有调节脂代谢的作用。

2.6 甘草多糖对 T1DM 小鼠氧化指标的影响

在上述实验中已证明甘草多糖在体外具有良好的抗氧化性, 实验进一步在体内实验中测定其是否具有调节相关氧化酶的作用。SOD 是生物体系中抗氧化酶系的重要组成成员, GSH 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶, CAT 促使过氧化氢分解为分子氧和水, 使细胞免于遭受 H_2O_2 的毒害, MDA 是一种由脂质过氧化反应的产物^[19]。图 4 为甘草多糖对 T1DM 小鼠 SOD、GSH、CAT、MDA 水平的影响, 结果显示, 模型组中 SOD、GSH、CAT、MDA 水平分别为 224.3 U/mg、 121.5 μ mol/g、 50.2 U/mg、 16.4 nmol/mgprot, 与正常组相比均有极显著性差异($P<0.01$), 经甘草多糖高剂量组治疗后, SOD、GSH、CAT、MDA 水平为 $425.4±16.37$ U·mg⁻¹、 $169.3±13.28$ μ mol·g⁻¹、 $61.6±3.16$ U·mg⁻¹、 $7.5±0.83$ nmol/mg prot, 与模型组相比有极显著性差异($P<0.01$), 且趋于阳性组。这是由于 T1DM 小鼠体内不能分泌足够的胰岛素, 间接导致体内氧化应激相关酶水平发生显著变化, 经甘草多糖治疗后可有效改善这些指标的水平。由此证明, 甘草多糖不仅在体外具有抗氧化作用, 在体内也具有调节抗氧化酶的作用。由此推测, 甘草多糖可能是通过改善 T1DM 小鼠机体内的氧化应激水平从而起到降血糖作用。

3 讨论与结论

正常情况下, 机体氧化还原系统处于动态平衡, 当机体处于应激、病理状态时, 会产生·OH、DPPH·等强氧化自由基^[20]。植物多糖可通过直接或间接清除自由基, 或是提高抗氧化酶活性或降低氧化酶活性起到抗氧化作用。本实验中, 显示在甘草多糖清除 DPPH·和 ABTS⁺的 IC_{50} 值分别为 162.8 和 74.3 μ g/mL。可见, 甘草多糖在体外具有良好的抗氧化性。

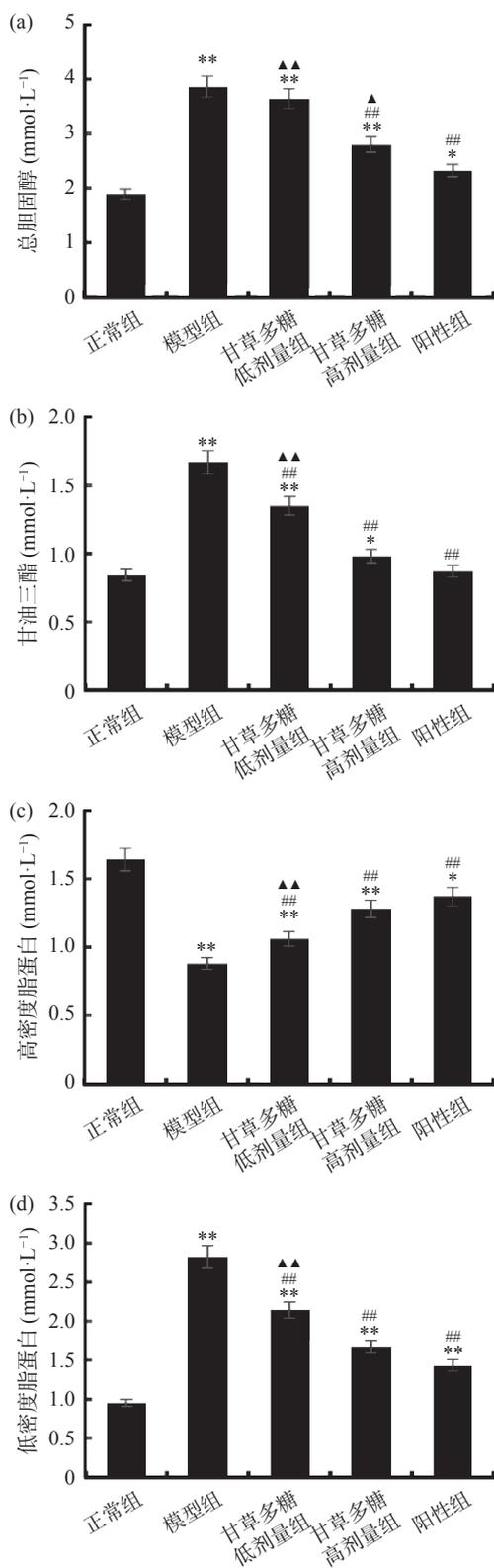


图3 甘草多糖对T1DM小鼠TC、TG、HDL-C、LDL-C的影响

Fig.3 The effect of *Glycyrrhiza* polysaccharide on TC, TG, HDL-C, LDL-C in T1DM mice

本实验又进一步研究了其对T1DM小鼠的降血糖作用以及体内抗氧化性。糖尿病的典型症状为“三多一少”，对葡萄糖的耐受能力减弱，因此选取体重、FBG以及OGTT作为基础测定指标，结果显示，经甘草多糖治疗后的T1DM小鼠体重下降缓慢，

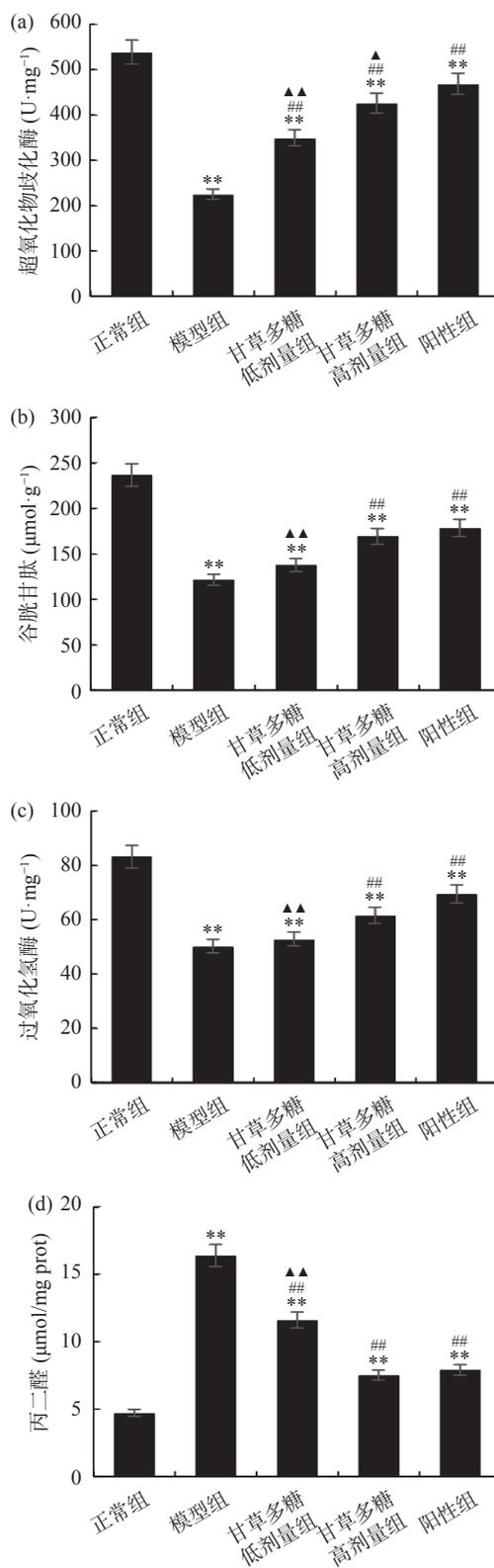


图4 甘草多糖对T1DM小鼠SOD、GSH、CAT、MDA的影响

Fig.4 The effect of *Glycyrrhiza* polysaccharide on SOD, GSH, CAT, MDA in T1DM mice

FBG也明显下降，OGTT有所提高。胰岛素代谢失调会引发血脂异常，体内胰岛素的缺乏导致摄入的脂肪等不能被利用，使得机体内脂肪加速分解，脂肪分解所产生的游离脂肪酸(FFA)进入肝脏生成TG和酮体，会间接导致TC、HDL-C、LDL-C发生变化，最

终导致体内血脂异常^[21-22]。T1DM 会导致机体内异常脂代谢情况的发生^[23], 其中甘油三酯水平显著升高为 1 型糖尿病最为突出的脂代谢紊乱表现^[24]。结果显示, 甘草多糖能够改善 T1DM 小鼠的异常脂代谢情况。其原因可能是 T1DM 小鼠对葡萄糖利用失调, 脂肪分解增加, 从而产生了大量的游离脂肪酸, 组织吸收脂肪酸的能力降低, FFA 大量释放到血液和肝脏中^[25], 导致 TC、TG、LDL-C 的含量增多。糖尿病患者机体内氧自由基含量增多, 过多的氧自由基与脂质相互作用产生过氧化反应生成 MDA。GSH 在体内既是重要的抗氧化剂又是自由基清除剂, 能够与体内过多的自由基结合, 从而将过多的有害物质清除, 排泄出体外^[26]。CAT 与 SOD 在机体中具有较强的抗氧化能力, 在体内能够抑制氧自由基的生成, 能够减少氧自由基对细胞造成的伤害, 并且能够降低 MDA 的生成量^[27]。在本试验中, 与正常对照组相比, T1DM 小鼠血清的 MDA 浓度极显著增加($P<0.01$), 而 SOD、GSH、CAT 浓度极显著降低($P<0.01$), 表明 T1DM 小鼠出现了氧化应激反应。与正常对照组小鼠相比, 甘草多糖治疗后能够显著抑制这些标志物的变化。

本文结果说明甘草多糖具有良好的抗氧化活性以及降血糖作用, 认为其对 1 型糖尿病的降血糖作用可能是通过改善异常脂代谢以及机体氧化应激从而发挥作用, 该研究可为甘草多糖在 1 型糖尿病的治疗方面提供新的思路, 后续可对甘草多糖的降血糖机制以及在细胞层面进行深入研究。

参考文献

- [1] LIU D, GAO L, ZHANG J, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of licorice flavonoids on ulcerative colitis in mouse model[J]. *Chinese Herbal Medicines*, 2017, 9(4): 358-368.
- [2] ZHANG Z, YANG L, HOU J, et al. Molecular mechanisms underlying the anticancer activities of licorice flavonoids[J]. *Ethnopharmacol*, 2021; 267.
- [3] SHI L. Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review[J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 92: 37-48.
- [4] ROZI P, ABUDUWAILI A, MA S, et al. Isolations, characterizations and bioactivities of polysaccharides from the seeds of three species *Glycyrrhiza*[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 145: 364-371.
- [5] AYEKA P A, BIAN Y H, GITHAIGA P M, et al. The immunomodulatory activities of licorice polysaccharides (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) in CT 26 tumor-bearing mice[J]. *Bmc Complementary & Alternative Medicine*, 2017, 17(1): 536.
- [6] REN H, WANG L, BAO H, et al. Improving the antibacterial property of chitosan hydrogel wound dressing with licorice polysaccharide[J]. *Journal of Renewable Materials*, 2020, 8(10): 1343-1355.
- [7] ZHANG X, ZHAO S, SONG X, et al. Inhibition effect of glycyrrhiza polysaccharide (GCP) on tumor growth through regulation of the gut microbiota composition[J]. *Journal of Pharmacological*

Sciences, 2018, 137(4): 324-332.

- [8] HAO B, WANG X, MA X, et al. Preparation of complex microcapsules of soluble polysaccharide from *Glycyrrhiza uralensis* and its application in wound repair and scar inhibition[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 156: 906-917.
- [9] SUN L, YOU G, ZHENG F, et al. *In vitro* and *in vivo* evaluation of the influences of polysaccharides derived from *Glycyrrhiza uralensis* on three alkaloids and potential interaction mechanisms[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 157: 452-460.
- [10] PAN L C, ZHU Y M, ZHU Z Y, et al. Chemical structure and effects of antioxidation and against alpha-glucosidase of natural polysaccharide from *Glycyrrhiza inflata* Batalin[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 155: 560-571.
- [11] TUOMI T, SANTORO N, CAPRIO S, et al. The many faces of diabetes: A disease with increasing heterogeneity[J]. *Lancet*, 2014, 383: 1084-1094.
- [12] 李书丰. 对西药副作用的探究[J]. *求医问药*, 2012, 10(5): 169. [LI Shufeng. Research on the side effects of western medicine[J]. *Seeking Medicine and Asking for Medicine*, 2012, 10(5): 169.]
- [13] 于霖森. 甘草多糖提取动力学、理化特性及生物活性研究[D]. 兰州: 兰州理工大学, 2021. [YU Linmiao. Extraction kinetics, physicochemical properties and biological activity of licorice polysaccharides[D]. Lanzhou: Lanzhou University of Technology, 2021.]
- [14] 刘永岭, 王艳艳. 正交设计优选甘草多糖的提取工艺[J]. *价值工程*, 2018, 37(26): 249-251. [LIU Yongling, WANG Yanyan. Orthogonal design optimization of extraction process of licorice polysaccharide[J]. *Value Engineering*, 2018, 37(26): 249-251.]
- [15] 张光辉, 靳如意, 张拴, 等. 响应面法优化不同产地甘草多糖提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. *化学与生物工程*, 2020, 37(9): 27-32. [ZHANG Guanghui, JIN Ruyi, ZHANG Shuan, et al. Response surface methodology to optimize the extraction process and antioxidant activity of *Glycyrrhiza* polysaccharides from different origins[J]. *Chemical and Biological Engineering*, 2020, 37(9): 27-32.]
- [16] 池源, 王丽波. 苯酚-硫酸法测定南瓜籽多糖含量的条件优化[J]. *食品与机械*, 2014, 30(1): 89-92. [CHI Yuan, WANG Libo. Optimization of conditions for determination of polysaccharide content in pumpkin seeds by phenol-sulfuric acid method[J]. *Food and Machinery*, 2014, 30(1): 89-92.]
- [17] 王秋丹, 赵凯迪, 林长青. 葛根多糖抗氧化性及其降血糖作用研究[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(5): 381-388. [WANG Qiudan, ZHAO Kaidi, LIN Changqing. Antioxidative activity and hypoglycemic effect of *Pueraria* polysaccharides[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2022, 43(5): 381-388.]
- [18] ZHANG L, QI X, LU X T, et al. Study on hypoglycemic effects of irradiated ginseng adventitious roots[J]. *Food Chemistry: X*, 2022, 13: 100234.
- [19] 方芳. 白芍总苷对糖尿病大鼠肾组织氧化应激的影响[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2008. [FANG Fang. Effects of total glucosides of paeony on oxidative stress in renal tissue of diabetic rats[D]. Hefei: Anhui Medical University, 2008.]
- [20] MUHAMMAD M A. Recent trends in chemical modification and antioxidant activities of plants-based polysaccharides[J].

- Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, 2021, 2: 100045.
- [21] GUO W, ZHU S Q, LI S Y, et al. Microalgae polysaccharides ameliorates obesity in association with modulation of lipid metabolism and gut microbiota in high-fat-diet fed C57BL/6 mice [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 182: 1371–1383.
- [22] 曾山容, 邓小敏, 易倍吉, 等. 中医药治疗 2 型糖尿病血脂异常的研究进展 [J]. *大众科技*, 2021, 23(4): 73–75. [ZENG Shanrong, DENG Xiaomin, YI Beiji, et al. Research progress of TCM treatment of dyslipidemia in type 2 diabetes [J]. *Popular Science and Technology*, 2021, 23(4): 73–75.]
- [23] 李秋云, 王彩宁, 史丽萍, 等. 2 型糖尿病及前期患者胰岛素抵抗与脂代谢紊乱的关系 [J]. *中国全科医学*, 2011(24): 2716–2719. [LI Qiuyun, WANG Caining, SHI Liping, et al. The relationship between insulin resistance and lipid metabolism disorders in patients with type 2 diabetes and pre-diabetes [J]. *Chinese General Practice*, 2011(24): 2716–2719.]
- [24] 房丹, 周志焱. 中医药治疗 2 型糖尿病脂代谢异常的研究进展 [J]. *光明中医*, 2019, 34(24): 3852–3854. [FANG Dan, ZHOU Zhihuan. Research progress of TCM treatment of abnormal lipid metabolism in type 2 diabetes [J]. *Guangming Traditional Chinese Medicine*, 2019, 34(24): 3852–3854.]
- [25] 常艳秋. 辐照红景天乙醇提取物降血糖作用的研究 [D]. 延边: 延边大学, 2019. [CHANG Yanqiu. Hypoglycemic effect of irradiated *Rhodiola rosea* ethanolic extract [D]. Yanbian: Yanbian University, 2019.]
- [26] SAMAHA M M, SAID E, SALEM H A. A comparative study of the role of crocin and sitagliptin in attenuation of STZ-induced diabetes mellitus and the associated inflammatory and apoptotic changes in pancreatic β -islets [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2019, 72: 103238.1–103238.11.
- [27] 杨鑫, 刘明辉, 马越娇, 等. 复方中药组分抗胰岛素抵抗糖尿病大鼠糖的过氧化作用 [J]. *中国当代医药*, 2018, 25(33): 33–36. [YANG Xin, LIU Minghui, MA Yuejiao, et al. Anti-glucose peroxidation of the components of compound Chinese medicine against insulin resistance in diabetic rats [J]. *China Contemporary Medicine*, 2018, 25(33): 33–36.]