

南瓜、山药、葛根和桑叶提取物复方对四氧嘧啶模型小鼠的降血糖作用

赵磊¹, 王鑫¹, 姜飞¹, 王成涛^{1*}, 徐宝财¹, 王文侠²

(1.北京工商大学 食品营养与人类健康北京高精尖创新中心, 北京市食品添加剂工程技术研究中心, 北京 100048;

2.齐齐哈尔瑞盛食品制造有限公司, 黑龙江 齐齐哈尔 161000)

摘要:目的: 研究南瓜、山药、葛根和桑叶提取物复方对四氧嘧啶糖尿病模型小鼠的降血糖作用。方法: 以四氧嘧啶诱导建立糖尿病小鼠模型, 实验保留10只小鼠作为正常对照组, 并将建模成功的小鼠随机分为模型组、阳性组(阿卡波糖, 200 mg/kg m_b)、植物提取物复方低、高剂量组(12、36 g/kg m_b , 以原料干质量计)。连续灌胃给药4周, 研究植物提取物复方对糖尿病小鼠体重及饮食饮水量、空腹血糖浓度、肝糖原含量、糖化血清蛋白(glucosylated serum protein, GSP)浓度、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, GHb)相对含量和抗氧化指标的影响。结果: 植物提取物复方中的主要有效成分为南瓜多糖、山药多糖和葛根素, 含量分别为(0.93±0.04)、(1.01±0.06)、(0.28±0.01) g/100 g(以原料干质量计)。干预4周后, 与模型组相比, 植物提取物复方组小鼠体重、肝糖原含量显著增加, 饮食饮水量、空腹血糖浓度、GSP浓度和GHb相对含量明显降低, 胰岛素敏感性增强, 且高剂量效果优于低剂量。植物提取物复方组较模型组总抗氧化能力和超氧化物歧化酶活力明显升高, 丙二醛含量显著降低, 表现出改善小鼠氧化应激的作用。结论: 南瓜、山药、葛根和桑叶提取物复方能够显著降低四氧嘧啶性糖尿病模型小鼠血糖浓度, 有效改善氧化应激状态。

关键词: 降血糖; 提取物复方; 四氧嘧啶; 氧化应激

Hypoglycemic Effect of Combined Extract of Pumpkin, Yam, Kudzu Root, and Mulberry Leaves on Alloxan-Induced Diabetic Mice

ZHAO Lei¹, WANG Xin¹, JIANG Fei¹, WANG Chengtao^{1*}, XU Baocai¹, WANG Wenxia²

(1. Beijing Engineering and Technology Research Center of Food Additives, Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;

2. Qiqihar Ruisheng Food Manufacturing Co. Ltd., Qiqihar 161000, China)

Abstract: Objective: The objective of this research was to study the hypoglycemic effect of the combined extract of pumpkin, yam, kudzu root and mulberry leaves on alloxan-induced diabetic mice. Methods: A diabetic mouse model was induced by alloxan. Another 10 mice served as a normal group. The model diabetic mice were randomly divided into model group, positive group (acarbose, 200 mg/kg m_b) and low and high dose treatment groups (12 and 36 g dry raw material/kg m_b). After intragastric administration for 4 weeks, we studied the effect of the combined extract on the body weight, food and water intake, fasting blood glucose level, glycogen, serum insulin, glycosylated serum protein (GSP), glycosylated hemoglobin (GHb) and antioxidant status of diabetic mice. Results: The major bioactive components of the combined extract were pumpkin polysaccharide, yam polysaccharide, and puerarin at levels of (0.93±0.04), (1.01±0.06), and (0.28±0.01) g/100 g dry raw material, respectively. Compared with the model group, the body weight and glycogen content of mice in the intervention group were significantly improved, while the food and water intake, fasting blood glucose, GSP and GHb were decreased significantly. The insulin sensitivity was also improved. The hypoglycemic effect of the high dose group was better than that of the low dose group. Meanwhile, compared with the model group, the total antioxidant capacity (T-AOC)

收稿日期: 2016-09-22

基金项目: 科技创新服务能力建设-科技成果转化-提升计划项目(PXM2016-014213-000034);

北京市科技计划项目(Z171100002217019); 国家自然科学基金面上项目(31571801)

第一作者简介: 赵磊(1982—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为功能性食品。E-mail: zhaolei.cau@gmail.com

*通信作者简介: 王成涛(1969—), 男, 教授, 博士, 研究方向为功能性食品 and 食品生物技术。E-mail: wct5566@163.com

and superoxide dismutase (SOD) activity in the liver of mice administered with the combined extract were increased, while the content of malondialdehyde (MDA) was decreased. Thus, it was suggested that oxidative stress in diabetic mice was improved by administration of the combined extract. Conclusion: The combined extract of pumpkin, yam, kudzu vine root and mulberry leaves can effectively reduce the blood glucose level of alloxan-induced diabetic mice and improve oxidative stress.

Keywords: hypoglycemic; combined plant extract; alloxan; oxidative stress

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201801023

中图分类号: TS201.4; R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2018) 01-0149-07

引文格式:

赵磊, 王鑫, 姜飞, 等. 南瓜、山药、葛根和桑叶提取物复方对四氧嘧啶模型小鼠的降血糖作用[J]. 食品科学, 2018, 39(1): 149-155. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201801023. <http://www.spkx.net.cn>

ZHAO Lei, WANG Xin, JIANG Fei, et al. Hypoglycemic effect of combined extract of pumpkin, yam, kudzu vine root, and mulberry leaves on alloxan-induced diabetic mice[J]. Food Science, 2018, 39(1): 149-155. (in Chinese with English abstract)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201801023. <http://www.spkx.net.cn>

近年来, 全球糖尿病发病率增长迅速, 已经成为继肿瘤、心血管病之后第三大严重威胁人类健康的慢性疾病^[1]。糖尿病是一类以高血糖及慢性血糖水平升高为特征的代谢性疾病^[2], 它会对人体的眼、肾、神经及心血管造成长期损害, 导致功能不全和衰竭^[3]。目前治疗糖尿病常采用胰岛素、双胍类、磺脲类和 α -糖苷酶抑制剂等降血糖药物^[4], 此类药物长期使用存在许多副作用, 且价格昂贵, 因此研究和开发具有良好疗效天然降血糖产品具有广阔的发展前景^[5]。

南瓜、山药、葛根和桑叶是公认的药食同源植物, 具有降血糖、降血脂等多种生物活性。现代研究表明, 南瓜多糖能够修复受损的胰岛细胞, 增加胰岛素的释放^[6], 辅助治疗糖尿病, 对于增强机体免疫系统有积极作用^[7]。山药原粉、皂苷和黄酮能显著降低糖尿病小鼠的饮水量、血糖水平和恢复小鼠体重, 其中原粉最明显, 且3种成分存在协同效应^[8-9]。山药黄酮能有效提高糖尿病小鼠体内超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性、降低丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量。山药多糖、山药皂苷有助于增加胰岛素受体数目或提高其亲和力, 促进周围组织及靶器官对糖的利用^[10-11]。葛根素能有效降低血糖浓度, 减少血清胆固醇含量, 明显对抗肾上腺素的升血糖作用^[12], 葛根黄酮可有效抑制 α -葡萄糖苷酶活性, 改善机体糖调节^[13]。桑叶黄酮可以抑制 α -葡萄糖苷酶活性^[14], 具有降血糖的功能^[15]。然而, 国内能够辅助降血糖的保健食品大多仅含一种或两种降糖功能因子。因此, 借鉴传统中草药理论研究和实践, 开发含有多种降糖功能因子且能发挥协同增效作用的产品配方具有重要意义^[16]。

本研究将南瓜、山药、葛根和桑叶提取物制备成复方, 通过测定比较各组小鼠体重及饮食饮水量、空腹血糖浓度、肝糖原含量、血清中血糖浓度、糖化血清蛋白(glycosylated serum protein, GSP)浓度、糖化血红蛋白

(glycosylated hemoglobin, GHb)相对含量和抗氧化指标, 探讨植物提取物复方对四氧嘧啶型糖尿病小鼠的降血糖作用, 同时对植物提取物复方中的主要功效成分含量进行测定, 以期能为植物提取物复方降血糖功能性食品的开发提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物、材料与试剂

SPF级雄性ICR小鼠(22~24 g)(合格证号: SCXK(京)2012-0001)购自北京维通利华实验动物技术有限公司。

南瓜、山药 北京美廉美超市; 葛根、桑叶 北京同仁堂药店; 小鼠饲料(含碳水化合物64%、蛋白质21%、脂肪4%、纤维5%) 北京维通利华实验动物技术有限公司。

阿卡波糖 德国拜耳医药保健有限公司; 四氧嘧啶 美国Sigma公司; 血糖试纸 美国强生公司; 血清胰岛素 国药集团化学试剂有限公司; 肝糖原、GSP、GHb、总抗氧化能力(total antioxidant capability, T-AOC)、SOD、MDA及胰岛素测定试剂盒 南京建成科技有限公司; 葛根素、槲皮素 成都曼思特生物科技有限公司; 其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

KQ-300DE数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司; SpectraMax13连续波长多功能酶标仪 美国Molecular Devices公司; 3K15台式离心机 德国Sigma公司; 旋转蒸发仪 德国IKA公司; 血糖仪 美国强生公司; 鼓风干燥箱 上海智城分析仪器制造有限公司。

1.3 方法

1.3.1 植物提取物复方的制备

南瓜提取物的制备: 南瓜→去皮、籽、瓢→切片→

烘干→磨粉(100目)。称取20 g南瓜粉,按料液比1:25 (m/V)加入蒸馏水,预浸10 min, 60℃超声提取20 min后过滤,滤液旋转蒸发浓缩备用。

山药提取物的制备:山药→去皮切片→烘干→磨粉(100目)。称取25 g山药粉,料液比1:80 (m/V), 60℃超声提取50 min后过滤,滤液旋转蒸发浓缩备用。

葛根提取物的制备:葛根研磨成粉(100目),称取10 g葛根粉,料液比1:12 (m/V), 75%乙醇预浸10 min, 50℃超声提取20 min过滤,滤液旋转蒸发浓缩备用。

桑叶提取物的制备:桑叶研磨成粉(100目),称取15 g桑叶粉,料液比为1:15 (m/V), 70%乙醇预浸提30 min, 60℃超声提取40 min过滤,滤液旋转蒸发浓缩备用。

根据《中华人民共和国药典》^[17]结合中医推荐饮用量,南瓜、山药、葛根、桑叶提取物以原料干质量计,按照20、25、10、15 g/d摄入量混合组成提取物复方。成人标准体质量以60 kg计,采用体表面积法折算成等效剂量用于动物实验。

1.3.2 植物提取物中有效成分含量的测定

1.3.2.1 多糖含量的测定

采用Sevag法^[18]脱去样品中的蛋白质。将样品溶液-氯仿-正丁醇(15:4:1, V/V)振荡混匀, 8 000 r/min离心分离,反复多次,直至无白色沉淀。上清液浓缩后缓慢加入无水乙醇,使乙醇终体积分数为75%, 4℃放置24 h, 8 000 r/min离心30 min,收集沉淀得到粗多糖。以葡萄糖为标准品,采用苯酚-硫酸比色法^[19]绘制标准曲线,测定样品中多糖的含量。

1.3.2.2 总黄酮含量的测定

总黄酮含量的测定采用硝酸铝显色法^[20]。10 mL容量瓶中依次加入5 mL去离子水、1 mL样品溶液、5%亚硝酸钠溶液0.3 mL,摇匀,保持5 min;再加入10%氯化铝溶液0.6 mL,摇匀,保持6 min;再加入1 mol/L氢氧化钠溶液2 mL,定容至10 mL,在500 nm波长处测吸光度。分别以葛根素和槲皮素为标准品绘制标准曲线,测定样品中的总黄酮含量。

1.3.2.3 葛根素含量的测定

采用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)测定葛根素含量,色谱条件为:MC-Triart C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(25:75, V/V),流速1.0 mL/min,检测波长250 nm。采用葛根素为标准品,按上述色谱条件进行测定,以葛根素的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制HPLC标准曲线,并测定葛根提取物中葛根素的含量^[21]。

1.3.3 植物提取物复方降血糖作用研究

1.3.3.1 小鼠饲养条件

小鼠饲养于北京市食品添加剂工程技术研究中心,室内通风条件良好,正常昼夜变化(9:00 a.m.~9:00 p.m.),相对湿度为(40±5)%,室温为(21±2)℃。

1.3.3.2 糖尿病小鼠模型的制备

50只雄性ICR小鼠,适应环境饲养5 d,喂食普通饲料,自由饮水、觅食。适应期后,随机分出10只为空白组,其余小鼠禁食24 h后,腹腔注射四氧嘧啶(100 mg/kg m_b),连续注射2 d,空白组腹腔注射等容积生理盐水,60 h后再禁食12 h,割尾静脉取血,血糖仪测定空腹血糖浓度,选择空腹血糖浓度不小于11.1 mmol/L为成功模型用于后期实验^[22]。

1.3.3.3 分组与给药

保留空白组10只小鼠为正常对照组,另选择1.3.3.2节中符合糖尿病模型标准的造模组小鼠40只,随机等分为模型组、阳性组(灌胃200 mg/kg m_b 阿卡波糖)、低、高剂量组(分别灌胃12、36 g/kg m_b 植物提取物复方,以原料干质量计)。每天灌胃1次,连续4周。

1.3.3.4 相关指标测定

小鼠每7 d称体质量1次,随体质量调整给药量。实验期4周,每天称量小鼠饮水量和饮食量;实验期间每周末,各组小鼠禁食不禁水10 h,测定各组小鼠空腹血糖浓度;第4周小鼠禁食不禁水4 h,注射血清胰岛素测定小鼠胰岛素耐量。4周实验结束,各组小鼠摘眼球取血,常规制备血清,测定血清中血糖、GSP和GHb水平。解剖取肝脏,测定肝脏中肝糖原含量及T-AOC、SOD和MDA水平。检测方法均按试剂盒说明书进行。

1.4 数据统计分析

数据均用SPSS 20.0统计软件进行处理,用单因素方差分析及多重比较(最小显著性差异法)进行差异显著性分析,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 植物提取物复方中有效成分的含量

由定量分析可知,植物提取物复方中含有丰富的多糖和黄酮类成分,其中南瓜多糖、山药多糖、葛根总黄酮、葛根素和桑叶总黄酮的含量分别为(0.93±0.04)、(1.01±0.06)、(1.29±0.07)、(0.28±0.01) g/100 g和(0.51±0.03) g/100 g(以原料干质量计)。这些成分具有多种生物活性,如抗氧化、抗衰老、降血糖、降血脂、免疫调节等^[23-24],符合功能性食品和保健品的要求。

对植物提取物复方中的有效成分含量进行测定,可为其功能性食品的进一步开发提供依据。

2.2 植物提取物复方对糖尿病小鼠体质量的影响

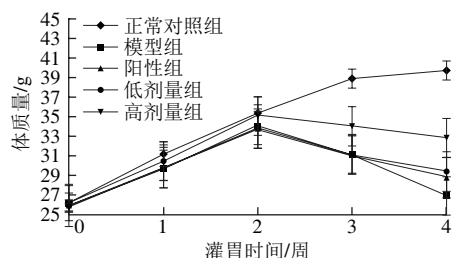


图1 植物提取物复方对糖尿病小鼠体质量的影响 ($n=10$)

Fig. 1 Effect of the combined plant extract on body weight of diabetic mice ($n=10$)

由图1可知,正常对照组小鼠体质量随着灌胃时间延长一直呈增加趋势,第4周时正常对照组小鼠体质量较实验初期增加51.4% ($P<0.01$);其余4组小鼠在第2周达到体质量最大值,之后随着糖尿病症状的加剧,小鼠体质量开始大幅度下降。4周实验结束时,模型组小鼠体质量极显著低于正常对照组,仅为正常对照组的67.8% ($P<0.01$)。阳性组和植物提取物复方低、高剂量组均能不同程度缓解糖尿病小鼠体质量的降低,其中植物提取物复方高剂量组效果最为显著,第4周时体质量为正常对照组的83.0% ($P<0.05$)。结果表明,植物提取物复方能够有效缓解糖尿病小鼠消瘦症状。

2.3 植物提取物复方对糖尿病小鼠饮食饮水量的影响

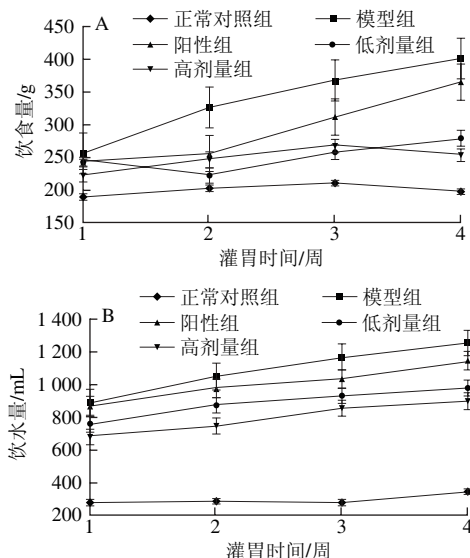


图2 植物提取物复方对糖尿病小鼠饮食(A)、饮水量(B)的影响 ($n=10$)

Fig. 2 Effect of the combined plant extract on food (A) and water (B) intake of diabetic mice ($n=10$)

由图2可知,从治疗初期到实验结束,各组小鼠饮食量整体呈上升趋势,正常对照组、植物提取物复方组小

鼠饮食量增长缓慢,模型组、阳性组小鼠饮食量迅速上升(图2A)。从第4周饮水量分析看,模型组小鼠饮水量是正常对照组的3.65倍,阳性组、植物提取物复方低剂量组和高剂量组饮水量较模型组分别减少8.6%、22.2% ($P<0.05$)和28.4% ($P<0.01$) (图2B)。从小鼠饮水饮食量分析知,相比于模型组,植物提取物复方可以显著降低糖尿病小鼠的饮水饮水量 ($P<0.05$),缓解小鼠糖尿病症状。

2.4 植物提取物复方对糖尿病小鼠空腹血糖浓度的影响

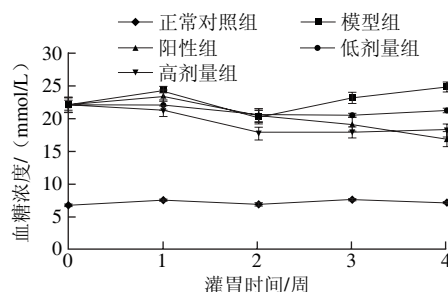


图3 植物提取物复方对糖尿病小鼠空腹血糖浓度的影响 ($n=10$)

Fig. 3 Effect of the combined plant extract on blood glucose level of diabetic mice ($n=10$)

从图3可知,正常对照组起始血糖浓度平均值为6.7 mmol/L,其余4组小鼠在四氧嘧啶造模结束后,小鼠血糖浓度平均值为22.1 mmol/L。与正常对照组比较,模型组血糖浓度总体呈逐渐升高趋势。与模型组比较,阳性组、植物提取物复方低剂量组和高剂量组血糖浓度总体呈逐渐降低趋势。4周实验结束时,正常对照组小鼠血糖浓度维持在(6.9 ± 0.2) mmol/L;模型组小鼠血糖浓度达到最高,为24.8 mmol/L,较实验初期增加12.2%。阳性组和植物提取物复方高剂量组小鼠血糖降低效果最显著,分别较实验初期降低23.2% ($P<0.01$)和18.4% ($P<0.05$)。结果表明,四氧嘧啶模型糖尿病小鼠在不接受治疗情况下糖尿病症状加剧,血糖浓度持续升高。阿卡波糖可以通过抑制 α -葡萄糖苷酶活性有效降低血糖浓度^[25-26]。植物提取物复方整个实验过程对小鼠血糖有显著的辅助治疗作用,植物提取物复方低剂量时可保证小鼠血糖浓度不继续升高,高剂量时可以显著降低糖尿病小鼠血糖浓度。

2.5 植物提取物复方对糖尿病小鼠胰岛素耐量的影响

由图4可知,小鼠注射胰岛素后,0~60 min内,各组小鼠血糖浓度持续降低,60 min达到最低值。随后60~120 min,各组小鼠血糖浓度升高,分析120 min与0 min血糖浓度的比值,正常对照组、模型组、阳性组、植物提取物复方低、高剂量组分别为79.0%、88.8%、85.3%、83.7%、75.1%。结果表明,模型组小鼠对胰岛素的敏感性大大降低,其血糖降到最低值后升高速率快,表现为对胰岛素抗性较高。阿卡波

糖和低剂量植物提取物复方不能显著提高小鼠胰岛素敏感性,其血糖恢复速率与模型组无显著差异($P>0.05$)。高剂量植物提取物复方可显著增强小鼠对胰岛素的敏感性($P<0.05$)。

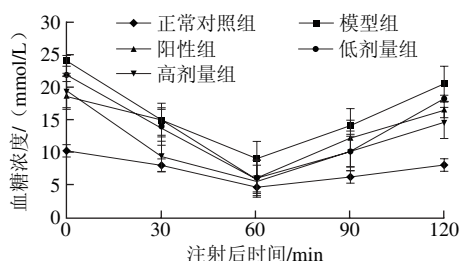
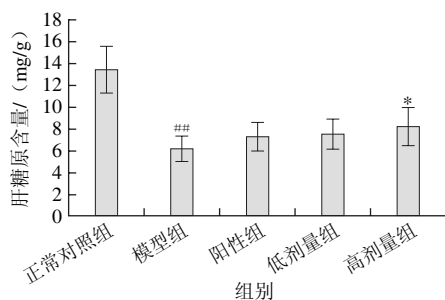


图4 植物提取物复方对糖尿病小鼠胰岛素耐量的影响 ($n=10$)

Fig. 4 Effect of the combined plant extract on insulin resistance in diabetic mice ($n=10$)

2.6 植物提取物复方对糖尿病小鼠肝糖原含量的影响



##.与正常对照组相比有极显著差异 ($P<0.01$) ;

*.与模型组相比有显著差异 ($P<0.05$)。下同。

图5 植物提取物复方对糖尿病小鼠肝糖原含量的影响 ($n=10$)

Fig. 5 Effect of the combined plant extract on glycogen content of diabetic mice ($n=10$)

从图5可知,模型组小鼠肝糖原含量极显著低于正常对照组小鼠,较正常对照组减少53.7% ($P<0.01$)。阳性组和植物提取物复方低剂量组肝糖原含量与模型组相比无显著性差异 ($P>0.05$),植物提取物复方高剂量组肝糖原含量较模型组增加32.5% ($P<0.05$)。结果表明,四氧嘧啶诱导小鼠糖尿病后,小鼠肝脏肝糖原合成能力严重受损,植物提取物复方高剂量可以显著改善小鼠肝糖原合成能力,但仍未恢复到正常水平,短期内无法达到治愈的程度。

2.7 植物提取物复方对糖尿病小鼠GSP浓度的影响

葡萄糖与白蛋白等蛋白分子N末端发生非酶促糖化反应,形成GSP,血清中白蛋白的半衰期约21 d, GSP浓度可有效反映患者过去1~2周内平均血糖水平,而且不受当时血糖浓度的影响,可以作为糖尿病短期内控制的一个灵敏指标。

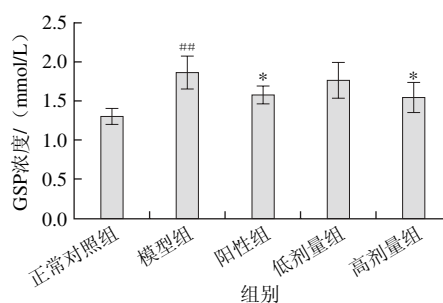
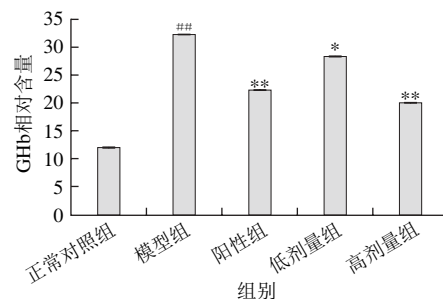


图6 植物提取物复方对糖尿病小鼠GSP浓度的影响 ($n=10$)

Fig. 6 Effect of the combined plant extract on GSP content of diabetic mice ($n=10$)

图6为各组小鼠血清GSP浓度,正常对照组小鼠GSP浓度为1.30 mmol/L,模型组小鼠GSP浓度为1.87 mmol/L,较正常对照组显著升高了43.8% ($P<0.01$),这表明模型组小鼠近两周内血糖浓度很高,小鼠糖尿病症状严重。阳性组小鼠GSP浓度为1.58 mmol/L,较模型组降低15.5% ($P<0.05$),阿卡波糖短期内控制糖尿病小鼠血糖有一定的辅助作用。植物提取物复方低剂量组GSP浓度与模型组相比无显著性差异 ($P>0.05$);植物提取物复方高剂量组GSP浓度较模型组显著降低了17.6% ($P<0.05$)。结果表明,植物提取物复方可通过降低小鼠血清GSP浓度有效控制糖尿病小鼠血糖,显著降低小鼠血糖浓度,并在短期内对小鼠糖尿病有显著性改善。

2.8 植物提取物复方对糖尿病小鼠GHb相对含量的影响



**.与模型组相比有极显著差异 ($P<0.01$)。

图7 植物提取物复方对糖尿病小鼠GHb相对含量的影响 ($n=10$)

Fig. 7 Effect of the combined plant extract on GHb content of diabetic mice ($n=10$)

GHb是血液中红细胞中的血红蛋白与血糖结合的产物,该结合过程生成GHb是不可逆反应, GHb含量与血糖浓度成正比,而且可以保持120 d左右,可以检测到近期较长时间内的血糖情况。图7为各组小鼠实验结束后血清中GHb相对含量。模型组小鼠在实验期内, GHb相对含量是正常对照组的2.67倍,模型组小鼠糖尿病症状严重,血糖浓度居高不下,小鼠糖代谢严重受损,血清中高含量的GHb改变红细胞对氧的亲合力,使组织与细胞缺氧,容易引起小鼠心脑血管疾病等并发症。

阳性组小鼠血清中GHb相对含量相比于模型组显著降低了30.9% ($P<0.01$), 表明阿卡波糖在近一个月的实验期内可以有效地通过控制小鼠GHb相对含量降低小鼠血糖浓度, 起到了一定的治疗作用。植物提取物复方低、高剂量组小鼠GHb相对含量比模型组分别降低了12.2% ($P<0.05$) 和37.8% ($P<0.01$)。结果表明, 植物提取物复方对四氧嘧啶诱导的不可逆小鼠糖尿病有一定的辅助治疗作用, 可以使糖尿病小鼠症状减轻, 血糖浓度和GHb相对含量降低, 且高剂量效果优于低剂量。

2.9 植物提取物复方对糖尿病小鼠肝脏氧化应激指标的影响

表1 植物提取物复方对糖尿病小鼠肝脏氧化应激指标的影响 ($n=10$)
Table 1 Effect of the combined plant extract on oxidative stress in the liver of diabetic mice ($n=10$)

组别	T-AOC/ (U/mg pro)	SOD活力/ (U/mg pro)	MDA含量/ (nmol/mg pro)
正常对照组	20.12±4.55	220.5±30.2	10.23±2.21
模型组	12.34±2.43 ^{##}	160.7±18.7 ^{##}	18.22±1.98 ^{##}
阳性组	13.05±3.72	170.7±23.1	17.54±1.97
低剂量组	14.14±2.61	187.4±21.4*	16.56±2.35*
高剂量组	18.53±3.65*	217.3±27.5**	14.47±2.65**

注: ##, 较正常对照组有极显著差异 ($P<0.01$); *, 较模型组有显著差异 ($P<0.05$); **, 较模型组有极显著差异 ($P<0.01$)。

给药4周后, 各组小鼠肝脏中抗氧化指标如表1所示。与正常对照组相比, 模型组小鼠T-AOC和SOD活力大幅度降低, 分别较正常对照组降低38.7% ($P<0.01$) 和27.1% ($P<0.01$)。模型组小鼠MDA含量极显著升高 ($P<0.01$), 较正常对照组增加78.1%。结果表明, 模型组小鼠抗氧化能力受损, 机体清除自由基和坏死细胞能力减弱, 产生的有害成分增多。与模型组相比, 阳性组小鼠T-AOC、SOD活力和MDA含量无显著性差异; 植物提取物复方能够使模型组小鼠机体的T-AOC和SOD活力升高, MDA含量降低, 明显改善小鼠的氧化应激状态, 其中植物提取物复方高剂量组优于低剂量组。植物提取物复方高剂量组T-AOC、SOD含量分别较模型组显著增加50.2% ($P<0.05$)、35.2% ($P<0.01$), MDA含量降低了20.6% ($P<0.01$)。因此, 植物提取物复方有助于糖尿病小鼠清除体内自由基和坏死细胞, 增强机体免疫系统。

3 讨论

四氧嘧啶对胰岛β细胞有特异性毒性作用, 可选择性地损伤多种动物的胰岛细胞而引起实验糖尿病。它可以产生超氧自由基, 从而破坏β细胞, 造成细胞内DNA损伤。同时, 它可以激活多聚ADP核糖体合成酶的活性, 从而使辅酶I含量下降、mRNA功能受损, 最终导致胰岛素缺乏。因此, 该模型是研究糖尿病治疗药物疗效的常用

模型^[27-28]。造模前, 小鼠体质量及饮食饮水量正常, 无异常情况; 造模后, 小鼠出现精神萎靡、形体消瘦、多食多饮等症状, 与文献报道症状相似^[29], 即造模成功。

给药后, 南瓜、山药、葛根、桑叶提取物复方能够有效地缓解糖尿病小鼠多饮多食、肌体消瘦的状况, 降低糖尿病小鼠血糖浓度、GSP浓度和GHb相对含量, 有效提高T-AOC和SOD活力, 并降低MDA含量, 从而对小鼠糖尿病症状有一定改善作用; 因此, 南瓜、山药、葛根和桑叶提取物具有明显的降血糖作用。代荣等^[30]报道, 多糖类物质可以促进肝糖原合成代谢, 促进糖降解, 起到了类似于胰岛素的功能而降低血糖, 同时可以改善胰岛素抵抗, 增加胰岛素的敏感性, 从而使血糖降低。谭楫新等^[31]报道黄酮类物质可以通过提高机体的抗氧化性, 清除体内多余自由基, 对受自由基侵害的胰岛β细胞起到一定的保护作用, 使胰岛素分泌趋于正常, 从而使血糖浓度降低。其中, 葛根素可通过增加抗氧化酶的活性, 改善胰岛素抵抗来发挥降血糖作用^[32]。推测该植物提取物复方中的多糖、黄酮类物质可以通过促进肝糖原合成, 促进糖降解或者提高机体抗氧化性, 清除多余自由基而使血糖浓度降低。本实验采用的植物提取物复方对糖尿病模型小鼠有明显的降血糖作用, 为辅助降血糖功能性食品的开发提供了依据, 但其具体作用机理还有待深入研究。

参考文献:

- [1] 刘美玉, 任发政. 降血糖功能因子的研究进展[J]. 食品科学, 2006, 27(10): 636-640. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2006.10.163.
- [2] INZUCCHI S E, BERGENSTAL R M, BUSE J B, et al. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach. Position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD)[J]. Diabetologia, 2012, 55(6): 1577-1596. DOI:10.2337/dc13-er02.
- [3] LOOKER A C, EBERHARDT M S, SAYDAH S H. Diabetes and fracture risk in older US adults[J]. Bone, 2016, 82: 9-15. DOI:10.1016/j.bone.2014.12.008.
- [4] 贺星, 田红, 徐颂, 等. 糖尿病治疗药物的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2009, 24(3): 129-133.
- [5] 王涛, 任顺成, 李翠翠. 降血糖功能因子及其食物来源[J]. 中国食物与营养, 2010, 16(10): 28-31. DOI:10.3969/j.issn.1006-9577.2010.10.008.
- [6] LI Q H, FU C L, RUI Y K, et al. Effects of protein-bound polysaccharide isolated from pumpkin on insulin in diabetic rats[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2005, 60(1): 13-16. DOI:10.1007/s11130-005-2536-x.
- [7] SONG Y, NI Y Y, HU X S, et al. Effect of phosphorylation on antioxidant activities of pumpkin (*Cucurbita pepo*, Lady godiva) polysaccharide[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 81: 41-48. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2015.07.055.
- [8] 杨蕊, 韩涛, 王富贵, 等. 山药糖蛋白对α-葡萄糖苷酶的体外抑制作用研究[J]. 中国食品学报, 2012, 12(2): 30-34. DOI:10.16429/j.1009-7848.2012.02.012.
- [9] 何凤玲. 山药中活性成分的提取及降糖活性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2011: 28-29.

- [10] OMORUYI F O. Jamaican bitter yam sapogenin: potential mechanisms of action in diabetes[J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2008, 63(3): 135-140. DOI:10.1007/s11130-008-0082-z.
- [11] GUO X X, SHA X H, LIU J, et al. Chinese purple yam (*Dioscorea alata* L.) extracts inhibit diabetes-related enzymes and protect HepG2 cells against oxidative stress and insulin resistance induced by FFA[J]. *Food Science & Technology Research*, 2015, 21(5): 677-683. DOI:10.3136/fstr.21.677.
- [12] 张再超, 叶希韵, 徐敏华, 等. 葛根黄酮降血糖防治糖尿病并发症的实验研究[J]. *华东师范大学学报(自然科学版)*, 2010(2): 77-81; 126.
- [13] 马锦锦, 林娟娜, 魏崧丞, 等. 葛根异黄酮类化合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用及构效分析[J]. *中成药*, 2015, 37(4): 858-862.
- [14] 刘英华, 滕俊英, 郑子新, 等. 桑叶提取物对餐后血糖及 α -葡萄糖苷酶活性的影响[J]. *中国临床康复*, 2004, 8(27): 5896-5897.
- [15] 孟庆海, 殷秋忆, 郭静, 等. 4种不同桑叶提取物降血糖作用的筛选[J]. *中成药*, 2014, 36(6): 1288-1291.
- [16] 张培旗, 娄纓. 天然降血糖功能因子研究进展[J]. *食品工程*, 2011(3): 14-15.
- [17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 1-285.
- [18] 刘咏. 桑叶多糖的提取及纯化实验研究[J]. *食品科技*, 2005, 30(1): 16-18. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2005.01.006.
- [19] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1997: 11-12.
- [20] WOLFE K L, LIU R H. Apple peels as a value-added food ingredient[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(6): 1676-1683.
- [21] 李雅君. 葛根有效成分提取及分离纯化工艺研究[D]. 太原: 山西大学, 2014: 11-13.
- [22] 姚星辰, 陈湘宏, 段雅彬, 等. 芜菁正丁醇提取物对四氧嘧啶型糖尿病小鼠血糖的影响[J]. *天然产物研究与开发*, 2015, 27(4): 706-709; 731. DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.04.029.
- [23] 王慧. 黄酮类化合物生物活性的研究进展[J]. *食品与药品*, 2010, 12(9): 347-350.
- [24] 谢明勇, 聂少平. 天然产物活性多糖结构与功能研究进展[J]. *中国食品学报*, 2010, 10(2): 1-11.
- [25] 季芳, 肖国春, 董莉, 等. 药用植物来源的 α -葡萄糖苷酶抑制剂研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(12): 1633-1640.
- [26] 李玉萍, 白冰, 叶军, 等. α -葡萄糖苷酶抑制剂的制备和活性研究进展[J]. *食品科学*, 2008, 29(9): 617-620. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2008.09.149.
- [27] 杨润军, 李青旺, 赵蕊. 四氧嘧啶与链脲佐菌素诱导小鼠糖尿病模型的效果比较[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2006, 34(2): 17-20. DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2006.02.004.
- [28] 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理学实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 15-17.
- [29] 李玉萍, 刘志勇, 谢国秀, 等. 马齿苋多糖抗糖尿病作用的实验研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2008, 20(5): 813-815; 864. DOI:10.16333/j.1001-6880.2008.05.023.
- [30] 代荣, 刘如明, 肖建辉. 菌类中药多糖降血糖效应机制研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(2): 174-179.
- [31] 谭楦新, 叶涛, 刘湘新, 等. 植物提取物抗氧化成分及机理研究进展[J]. *食品科学*, 2010, 31(15): 288-292.
- [32] 杨培树, 张娜. 葛根素的药理研究[J]. *天津药学*, 2012, 24(5): 75-76.