

杨桃根提取物对糖尿病小鼠的降糖作用

明建军, 徐小惠, 兰博, 黄仁彬, 张士军*
(广西医科大学, 南宁 530021)

[摘要] 目的:研究杨桃根提取物(YTG)对链脲佐菌素(STZ)致糖尿病小鼠的降糖作用。方法:SPF级KM雄性小鼠60只,采用尾静脉注射STZ建立糖尿病小鼠模型,将成模小鼠随机分成模型组,二甲双胍组($0.25\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),YTG高、中、低剂量组($1.2, 0.6, 0.3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),另设正常组,每组10只,ig给药4周,在第2,4周末测定空腹血糖(FBG),实验末期进行糖耐量试验(OGTT),并测定肝组织中肝糖原含量,己糖激酶(HK),丙酮酸激酶(PK),超氧化物歧化酶(SOD),丙二醛(MDA)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的水平。结果:与正常组比较,模型组给药FBG明显升高,血糖曲线下面积明显升高,肝糖原, HK, PK水平明显降低,肝组织中MDA含量明显升高, SOD, GSH-Px水平明显降低,均具有明显统计学差异($P < 0.01$);与模型组比较,各YTG给药组,FBG明显下降,血糖曲线下面积明显降低,肝糖原含量增加, HK, PK活性增加,肝组织中SOD和GSH-Px活性明显升高,MDA含量降低,均具有统计学差异($P < 0.05, P < 0.01$)。结论:杨桃根提取物能降低糖尿病小鼠的血糖,提高糖耐量,其机制可能与增强HK, PK的活性,提高肝脏的抗氧化能力有关。

[关键词] 杨桃根提取物; 糖尿病; 肝糖原; 抗氧化

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)10-0133-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015100133

Hypoglycemic Effects of *Averrhoa carambola* Root Extract in Diabetic Mice MING Jian-jun, XU Xiao-hui, LAN Bo, HUANG Ren-bin, ZHANG Shi-jun* (*Guangxi Medical University, Nanning 530021, China*)

[Abstract] **Objective:** To investigate the hypoglycemic effects of *Averrhoa carambola* root extract (YTG) in diabetic mice induced by streptozotocin (STZ). **Method:** Diabetic mice were induced by intravenous injection of STZ. Mice were divided into the normal group, the model group, the metformin group, the high-, medium-and low-dose YTG groups ($1.2, 0.6, 0.3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) of 10 mice each. Drugs were intragastrically administered to mice for 4 weeks. Fasting blood glucose (FBG) was determined at the 2nd and 4th week. After 4 weeks, oral glucose tolerance test (OGTT), liver glycogen, activities of hexokinase (HK), pyruvate kinase (PK), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and malonyldialdehyde (MDA) were measured. **Result:** Compared with normal group, FBG, the area under curve of blood glucose, and MDA content increased significantly, the liver glycogen content and the activity of HK, PK, SOD, and GSH-Px decreased significantly in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, FBG, the area under curve of blood glucose, and MDA content decreased significantly, while the liver glycogen content and the activity of HK, PK, SOD, and GSH-Px increased significantly in YTG group ($P < 0.05, P < 0.01$). **Conclusion:** YTG could reduce the blood glucose level of diabetic mice, improve the glucose tolerance. Its mechanism may be related to enhancing the activities of HK and PK and improving the liver antioxidant ability.

[Key words] *Averrhoa carambola* root; diabetes; liver glycogen; antioxidation

糖尿病是一种以高血糖为特征的慢性疾病,持续高血糖与长期代谢紊乱可导致全身组织器官的损

害及其功能障碍和衰竭。糖代谢异常是糖尿病的主要病理因素,而其中糖代谢酶参与并调控了糖代谢

[收稿日期] 20141029(020)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81160533,81360129);广西科技基础条件平台建设项目(12-97-20)

[第一作者] 明建军,在读硕士,从事抗糖尿病药物研究, Tel:0771-5339805, E-mail:mingjianjun2012@163.com

[通讯作者] *张士军,博士,副教授,硕士生导师,从事抗糖尿病药物研究, Tel:0771-5339805, E-mail:gykdxzsj@163.com

的全过程,因此通过调节糖代谢酶的活性而治疗糖尿病具有重大的意义。杨桃根是酢浆草科植物杨桃 *Averrhoa carambola* 的干燥根。在广西分布广泛,资源丰富。本课题组前期研究发现,杨桃根中具有降血糖的活性成分^[1-3],但是其具体降糖机制尚未清楚。本实验在建立糖尿病模型的基础上,通过观察糖尿病小鼠的血糖,肝糖代谢和肝脏的氧化应激反应,探讨杨桃根提取物对糖尿病小鼠降血糖作用和相关代谢酶的调节作用,进一步研究其降糖机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 KM 雄性小鼠,体重(20±2)g,由广西医科大学实验动物中心提供。动物饲养于符合医学实验动物环境设施要求的饲养环境中。饲养环境通风良好,室温 18~25℃,相对湿度 40%~70%,12 h 光照昼夜循环,动物合格证号 SCXK(桂)2009-0002。

1.2 药物及试剂 杨桃根提取物由本校实验室制备,二甲双胍(中美上海施贵宝制药有限公司,批号 1312125),取杨桃根药材粗粉,加 8 倍量 60% 乙醇,浸泡 30 min,常压下加热回流提取 2 次,每次 1 h,过滤,合并醇提取液,滤液在(65±5)℃条件下减压回收乙醇,浓缩,浓缩液在真空条件下低温干燥,粉碎,即得阳桃根乙醇提取物。以上药渣加 8 倍量水,常压下加热回流提取 1 次(保持微沸 1 h),过滤,滤液在(65±5)℃条件下减压浓缩,浓缩液在真空条件下低温干燥,粉碎,即得阳桃根水提取物。将醇提取与水提取物合并即杨桃根提取物。链脲佐菌素(STZ,美国 Sigma 公司,批号);肝糖原试剂盒(批号 20140325),己糖激酶(HK)试剂盒(批号 20140411),丙酮酸激酶(PK)试剂盒(批号 20140423),超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号 20140324),丙二醛(MDA)试剂盒(批号 20140321)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒(批号 20140326),均购于南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器 Accu-Chek Performa 型血糖仪(德国罗氏诊断有限公司),UVmini-1240 型紫外可见分光光度(岛津国际贸易上海有限公司),TDL-33 型台式低速大容量离心机(上海安亭科学仪器厂)。

2 方法

2.1 糖尿病模型建立及分组给药 造模前小鼠禁食 12 h,小鼠尾 *iv* STZ 120 mg·kg⁻¹。72 h 后用试纸法测空腹血糖(FBG),选取 FPG>11.1 mmol·L⁻¹ 的小鼠作为糖尿病模型。经血测空腹血糖指数确定成模后,随机分成 5 组,分别为模型组,二甲双胍组

(0.25 g·kg⁻¹),杨桃根提取物高、中、低剂量(1.2, 0.6, 0.3 g·kg⁻¹)组,另设正常组,每组 10 只。*ig* 给药,1 次/d,连续 4 周,自由进食、饮水。

2.2 观测指标及方法

2.2.1 一般指标 观察小鼠的精神活动,毛发改变,饮水量进食量大小便等一般状态,并记录体重变化情况死亡情况等。

2.2.2 血糖的测定 实验第 2,4 周末,小鼠尾静脉取血,用血糖试纸测其 FBG。

2.2.3 糖耐量实验 实验第 4 周末,小鼠禁食 12 h,一次性 *ig* 葡萄糖 2.0 g·kg⁻¹,在 0,30,60,120 min 尾静脉取血测血糖,计算血糖变化曲线下面积 AUC。

2.2.4 生化指标的测定 实验结束,处死小鼠,解剖取肝脏,用冷的生理盐水冲洗肝脏,取部分肝脏加入生理盐水制成 10% 匀浆,取上清用于 HK,PK,SOD,MDA,GSH-Px 的测定。另取 0.1 g 肝脏测定肝糖原。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 16.0 统计学软件对所有数据进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对糖尿病小鼠一般情况的影响 在给药 4 周期间,正常小鼠毛色光滑,饮食饮水正常,垫料干燥。模型组小鼠毛色粗糙,出现多饮多食多尿症状,垫料潮湿。其他给药组较模型组状态有较明显的改善,各组均无死亡现象。

3.2 对糖尿病小鼠空腹血糖的影响 与正常组比较,模型组 FBG 水平明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,在给药第 2 周后,二甲双胍组和杨桃根提取物高、中剂量组明显降低 FBG 水平($P < 0.05$, $P < 0.01$);给药 4 周后,各给药组 FBG 水平明显降低($P < 0.01$)。见表 1。

3.3 对糖尿病小鼠糖耐量的影响 与正常组比较,模型组各时间点的血糖均明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,各个给药组在 *ig* 葡萄糖后,血糖值明显低于模型组,其糖耐量曲线下面积 AUC 显著降低($P < 0.01$)。表明杨桃根提取物对糖尿病小鼠 OGTT 具有改善作用。见表 2。

3.4 对糖尿病小鼠糖代谢的影响 与正常组比较,模型组肝糖原含量及 HK,PK 活性均明显降低($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组肝糖原含量显著增加,PK 的活性显著增强,二甲双胍组和杨桃根提取物高、中剂量组 HK 的活性明显增强($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 3。

3.5 对糖尿病小鼠抗氧化作用的影响 与正常组比较,模型组 SOD, GSH-Px 活性明显降低,MDA 含量明显升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较,二甲双胍组和杨桃根提取物高、中剂量组 SOD 活性明显提高,

MDA 含量明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$), 各给药组肝 GSH-Px 活性明显提高 ($P < 0.05, P < 0.01$), 表明杨桃根提取物具有改善氧自由基代谢紊乱的作用。见表 4。

表 1 杨桃根提取物对糖尿病小鼠 FBG 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of extract form *Averrhoa carambola* root on level of FBG in diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	FBG/mmol·L ⁻¹		
		给药前	2 周	4 周
正常	-	6.27 ± 0.50	6.36 ± 0.35	6.31 ± 0.41
模型	-	19.20 ± 4.07 ¹⁾	22.44 ± 4.50 ¹⁾	23.82 ± 3.69 ¹⁾
二甲双胍	0.25	18.97 ± 4.72 ¹⁾	15.71 ± 4.69 ³⁾	14.19 ± 4.98 ³⁾
杨桃根提取物	1.2	19.22 ± 5.30 ¹⁾	17.00 ± 5.04 ²⁾	16.26 ± 3.78 ³⁾
	0.6	19.07 ± 4.70 ¹⁾	17.74 ± 5.94 ²⁾	17.25 ± 3.01 ³⁾
	0.3	19.24 ± 4.53 ¹⁾	18.66 ± 4.92	18.01 ± 3.68 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

表 2 杨桃根提取物对糖尿病小鼠糖耐量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of extract form *Averrhoa carambola* root on glucose tolerance in diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	血糖/mmol·L ⁻¹				AUC /mmol·h ⁻¹ ·L ⁻¹
		0 min	30 min	60 min	120 min	
正常	-	6.31 ± 0.41	9.12 ± 1.33	7.52 ± 0.60	7.42 ± 0.76	19.20 ± 1.29
模型	-	23.82 ± 3.69 ¹⁾	31.39 ± 1.81 ¹⁾	29.64 ± 1.85 ¹⁾	24.34 ± 3.51 ¹⁾	68.22 ± 5.59 ¹⁾
二甲双胍	0.25	14.19 ± 4.98 ³⁾	25.83 ± 2.95 ³⁾	19.56 ± 3.69 ³⁾	15.18 ± 2.02 ³⁾	46.31 ± 7.06 ³⁾
杨桃根提取物	1.2	16.26 ± 3.78 ³⁾	26.26 ± 5.10 ³⁾	21.69 ± 3.17 ³⁾	17.38 ± 3.58 ³⁾	50.84 ± 8.98 ³⁾
	0.6	17.25 ± 3.01 ³⁾	28.27 ± 2.46 ²⁾	23.94 ± 2.11 ³⁾	18.27 ± 3.53 ³⁾	54.67 ± 6.75 ³⁾
	0.3	18.01 ± 3.68 ³⁾	28.76 ± 2.24 ²⁾	24.51 ± 2.38 ³⁾	19.29 ± 3.33 ³⁾	56.18 ± 6.83 ³⁾

表 3 杨桃根提取物对糖尿病小鼠糖代谢的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of extract form *Averrhoa carambola* root on glycometabolism in diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	肝糖原/mg·g ⁻¹	HK/U·g ⁻¹	PK/U·g ⁻¹
正常	-	14.61 ± 1.67	19.13 ± 4.29	201.44 ± 17.44
模型	-	5.36 ± 1.65 ¹⁾	11.11 ± 3.10 ¹⁾	114.78 ± 18.26 ¹⁾
二甲双胍	0.25	10.48 ± 1.70 ³⁾	17.80 ± 5.41 ³⁾	155.72 ± 21.39 ³⁾
杨桃根提取物	1.2	8.21 ± 0.99 ³⁾	17.62 ± 3.67 ³⁾	146.93 ± 20.54 ³⁾
	0.6	7.95 ± 1.20 ³⁾	16.97 ± 3.81 ³⁾	141.27 ± 15.90 ²⁾
	0.3	6.94 ± 1.39 ²⁾	14.71 ± 4.48	137.88 ± 40.52 ²⁾

表 4 杨桃根提取物对糖尿病小鼠抗氧化作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of extract form *Averrhoa carambola* root on antioxygenation in diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	SOD/U·mg ⁻¹	MDA/nmol·mg ⁻¹	GSH-Px/U·mg ⁻¹
正常	-	131.03 ± 11.40	1.11 ± 0.14	193.11 ± 22.37
模型	-	92.26 ± 13.92 ¹⁾	1.64 ± 0.25 ¹⁾	123.19 ± 15.84 ¹⁾
二甲双胍	0.25	120.50 ± 15.24 ³⁾	1.23 ± 0.21 ³⁾	183.95 ± 14.44 ³⁾
杨桃根提取物	1.2	117.25 ± 11.49 ³⁾	1.26 ± 0.20 ³⁾	167.39 ± 13.18 ³⁾
	0.6	108.70 ± 20.88 ²⁾	1.28 ± 0.17 ³⁾	159.40 ± 44.02 ³⁾
	0.3	98.92 ± 12.83	1.55 ± 0.21	151.72 ± 23.50 ²⁾

4 讨论

糖尿病是由于胰岛素绝对或相对不足引起的糖脂代谢紊乱综合征,是一种严重危害人体健康的常见慢性终身疾病。糖代谢异常是糖尿病的主要病理因素,而其中参与糖代谢的相关酶对糖代谢有着重要的影响。本实验通过小鼠尾静脉注射链脲佐菌素,选择性破坏小鼠的胰岛 β 细胞,使小鼠胰岛素分泌减少,血糖升高,建立模型。糖尿病小鼠出现明显的多饮多食多尿现象,血糖持续升高;糖耐量曲线下面积增加;肝糖原含量降低;HK 和 PK 的活性下降。给予不同剂量的杨桃根提取物 2 周后,杨桃根提取物高、中剂量组血糖水平降低,给药 4 周后,糖尿病小鼠三多一少的症状有所改善,杨桃根各剂量组血糖均显著降低,口服葡萄糖耐量曲线下面积减小,肝糖原的含量增加,HK 和 PK 的活性增强,且存在剂量相关性。表明杨桃根提取物的降糖机制有可能与增加 HK 和 PK 的活性,促进糖原的合成,改善糖尿病小鼠糖代谢有关。HK,PK 是糖酵解整个进程中的关键限速酶,他们的活性会直接影响糖酵解进程^[4-6]。HK 作为糖酵解、糖原合成和磷酸戊糖途径的第一个关键酶,可促进血糖进入肝脏,增加肝糖原的合成,促进糖酵解作用。PK 是糖酵解过程中的又一个限速酶,不可逆催化磷酸烯醇式丙酮酸生成 ATP 和丙酮酸,加速葡萄糖的氧化分解^[7-9],因此调节糖代谢酶活性对糖尿病的治疗有着重要意义。

研究发现,机体的氧化应激水平和糖尿病之间关系密切^[10],糖尿病患者的抗氧化能力降低是导致糖尿病并发症的重要原因之一^[11-12]。肝脏在调节机体糖代谢的过程中起着重要作用,STZ 诱导的糖尿病小鼠的肝脏抗氧化能力显著下降^[13-15]。本实验结果表明,糖尿病小鼠肝脏中 SOD 和 GSH-Px 的活性明显降低,MDA 的含量明显增加。给予杨桃根提取物后,杨桃根提取物高、中剂量组能显著提高肝脏中 SOD 和 GSH-Px 的活性,降低 MDA 的含量,从而提高糖尿病小鼠肝脏的抗氧化能力,减轻肝脏的氧化损伤,起到保护肝脏的作用。

综上所述,杨桃根提取物可以调节糖尿病小鼠的糖代谢酶活性,降低血糖,提高糖耐量和糖尿病小鼠肝脏的抗氧化能力。

[参考文献]

[1] 黄桂红,贺敏,黄仁彬,等. 杨桃根醇提物对糖尿病模型小鼠的降血糖作用[J]. 中国医院药学杂志,

2009, 29(15):1256-1258.
[2] 黄桂红,邓航,黄仁彬,等. 杨桃根多糖对糖尿病小鼠降血糖作用的实验研究[J]. 中成药,2009,31(9):1438-1440.
[3] 黄桂红,马杰津,黄仁彬,等. 杨桃根醇提物对糖尿病模型小鼠的血糖及抗氧化能力的影响研究[J]. 中国药房,2009,20(24):1849-1851.
[4] 谢园沁,陈伟平,胡嘉磊. 蚕蛹油对糖尿病大鼠血糖和糖代谢相关酶的影响[J]. 中草药,2012,43(6):1136-1141.
[5] Vinayagam Ramachandran, Ramalingam Saravanan. Efficacy of asiatic acid, a pentacyclic triterpene on attenuating the key enzymes activities of carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Phytomedicine, 2013,20(3/4):230-236.
[6] Raju Murali, Subramani Srinivasan, Natarajan Ashokkumar, et al. Antihyperglycemic effect of fraxetin on hepatic key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Biochimie, 2013,95(10):1848-1854.
[7] Shanmugam Muthulakshmi, Ramalingam Saravanan. Efficacy of azelaic acid on hepatic key enzymes of carbohydrate metabolism in high fat diet induced type 2 diabetic mice [J]. Biochimie, 2013, 95 (6):1239-1244.
[8] 陈玲玲,刘炜,步文磊,等. 桑叶黄酮对糖尿病小鼠调节血糖的作用机制研究[J]. 中国临床药理学杂志,2010,26(11):835-838.
[9] 谢欣梅,庞晓斌. 覆盆子提取物对 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢的影响及对肝脏保护作用的研究[J]. 中成药,2013,35(3):460-465.
[10] Parminder Nain, Vipin Saini, Jaspreet Nain, et al. Antidiabetic and antioxidant potential of *Emblca officinalis* Gaertn leaves extract in streptozotocin-induced type-2 diabetes mellitus (T2DM) rats [J]. J Ethnopharmacol,2012,142(1):65-71.
[11] Wei Wei, Liu Qiu Ju, Tian Yi, et al. Oxidative stress, diabetes, and diabetic complications[J]. Hemoglobin, 2009,33(5):370-377.
[12] 邓晓威,谢宁. 黄连素治疗 2 型糖尿病研究进展[J]. 中国中药杂志,2014,39(8):1374-1378.
[13] 王颖,张桂芳,张东杰. 葡萄籽提取物原花青素对糖尿病小鼠的抗氧化作用[J]. 中国老年学杂志,2014,34(2):152-154.
[14] 李超,周小双,黄丹青. 鼠曲草总黄酮改善糖尿病小鼠的抗氧化功能[J]. 食品科学,2013,34(21):311-314.
[15] Dan Li, Cheng Peng, Danqing Fang. Antidiabetic effect of flavonoids from *Malus toringoides* Hughes leaves in diabetic mice and rats [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 153(3):561-567.

[责任编辑 周冰冰]