

火绒草降糖有效成分的筛选

杨金部, 袁祯燕, 苟萍*

(新疆大学 生命科学与技术学院, 乌鲁木齐 830046)

[摘要] **目的:**通过对火绒草不同提取物处理高血糖小鼠血糖的测定,探讨火绒草提取物降血糖的有效部位和剂量。**方法:**火绒草用70%乙醇回流提取,提取物上D101大孔树脂柱,依次用50%,70%,95%的乙醇洗脱,得到50%,70%,95%的乙醇提取物。采用链脲佐菌素(STZ)诱导高血糖小鼠,7d后分别用二甲双胍($300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),50%乙醇提取物($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),70%乙醇提取物($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)和95%乙醇提取物($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)ig给药,模型组和空白组以等量的蒸馏水代替给药,10d后测定高血糖小鼠的空腹血糖。将筛选出的有效降糖部位分为高、中、低($400,200,100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)剂量处理高血糖小鼠,10d后测定空腹血糖。**结果:**与空白组比较,模型组血糖显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,火绒草的不同提取物均能降低高血糖小鼠血糖,50%乙醇提取物具有显著的降血糖效果,且以中剂量为佳($P<0.01$)。**结论:**火绒草的降血糖有效部位为50%乙醇提取物。

[关键词] 火绒草; 高血糖小鼠; 降血糖; 乙醇提取物

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)18-0104-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015180104

Screening of Effective Hypoglycemic Constituents of *Leontopodium leontopodioides* YANG Jin-bu, YUAN Zhen-yan, GOU Ping* (College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effective hypoglycemic part in different extracts from *Leontopodium leontopodioides* and its dosage by determining blood glucose in hyperglycemia mice. **Method:** *L. leontopodioides* were extracted by 70% ethanol and the extracts were separated by D101 macroporous resin and then eluted successively with 50%, 70%, 95% of ethanol to obtain 50%, 70%, 95% of ethanol extracts. Hyperglycemia mice were induced by streptozotocin (STZ) and then perfused respectively with metformin hydrochloride ($300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), ethanol extracts of 50% ($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), ethanol extracts of 70% ($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and ethanol extracts of 95% ($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) after 7 days. The model and blank groups were perfused with the same amount of distilled water. The fasting blood glucose of hyperglycemia mice were measured after 10 days. The screened effective hypoglycemic parts were divided into high ($400\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), medium ($200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and low ($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) dose and used to treat hyperglycemia mice; 10 days later the fasting blood glucose was measured. **Result:** The model group showed a significantly higher blood glucose level than the blank group. Compared with the model group, different extracts of *L. leontopodioides* can reduce hyperglycemia mice blood glucose, the ethanol extracts of 50% had an obvious effect, and the medium dose was the best. **Conclusion:** The effective hypoglycemic part in *L. leontopodioides* was 50% ethanol extracts.

[Key words] *Leontopodium leontopodioides*; hyperglycemia mice; hypoglycemic activity; ethanol extracts

火绒草是菊科火绒草属的多年生草本植物,别名老头草、白艾等,主要分布于新疆、青海、甘肃、东北等地,多生于干旱草原、山坡草地、水沟边、田野等处,野生资源极为丰富^[1]。国内外研究表明火绒草

[收稿日期] 20141229(004)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31460081)

[第一作者] 杨金部,硕士,从事食品工程研究,E-mail:yangjinbu2010@126.com

[通讯作者] *苟萍,教授,从事生物化学研究,E-mail:gou_ping@sina.com

含有甾体类化合物、倍半萜类、苯丙素类、苯并呋喃类^[2-4]和黄酮类等化合物^[5]。药理研究发现火绒草具有降血糖^[6]、降血压、抗炎镇痛、利尿等多种作用^[7-8]。火绒草全草水煎剂、醇提取物和正丁醇提取物具有降血糖作用已得到了证实^[6]，但对其降血糖有效成分至今鲜有报道。笔者通过对火绒草醇提取物进行分离，动物实验筛选降血糖成分，为开发利用火绒草降血糖有效成分提供科学根据。

1 材料

1.1 药材 火绒草是 2013 年 6 月下旬采于新疆乌鲁木齐南山小渠子(海拔 1800 m)，经本院植物教研室索菲娅副教授鉴定为火绒草(*Leontopodium leontopodioides*)，清洗泥土阴干，粉碎后备用。

1.2 动物 健康清洁级雄性 ICR 小鼠，体重 22 ~ 28 g，由新疆医科大学实验动物中心提供，合格证号 SCXK(新)2003-0001。

1.3 药品及试剂 链脲佐菌素(STZ, 美国 Sigma 公司, 批号 18883-66-4)，盐酸二甲双胍片(DMBG, 北京京丰制药有限公司, 批号 130114)，无水乙醇、三氯甲烷、柠檬酸、柠檬酸钠等均为国产分析纯，D-101 大孔吸附树脂(沧州宝恩吸附材料科技有限公司)。

1.4 仪器 SHB-IV 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司)，RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)，HH-S 型电热恒温水浴锅(巩义市英峪予华仪器厂)，LAC164 型分析天平(北京金科利达电子科技有限公司)，CHRIST 型真空冷冻干燥机(德国贺利氏有限公司)，One touch Ultra 型强生稳豪系列血糖仪，稳豪型血糖试纸(批号 3667035)。

2 方法

2.1 火绒草提取物的制备 称取干燥火绒草全草 2 kg，粉碎，10 倍体积的 70% 乙醇回流提取 3 次，每次 2 h，合并提取液，减压浓缩至小体积后冷冻干燥，得干燥浸膏 316 g，提取率为 15.8%。浸膏用温水混悬，三氯甲烷萃取至无色，水层上 D-101 大孔树脂柱，依次用 50%、70%、95% 乙醇洗脱，收集洗脱液，减压浓缩，冷冻干燥成粉末。得到 50% 乙醇提取物(94.10 g)，70% 乙醇提取物(1.33 g)，95% 乙醇提取物(2.43 g)。

2.2 建立高血糖小鼠模型 选取小鼠 100 只，适应性喂养 5 d 后，禁食 12 h，随机抽取 10 只小鼠设为正常组，*ip* 给予 0.1 mol·L⁻¹ 柠檬酸钠缓冲溶液，其余小鼠按 200 mg·kg⁻¹ *ip* STZ(用 0.1 mol·L⁻¹ 柠檬酸钠缓冲溶液配制)1 次，普通饲料喂养 7 d 后，禁

食不禁水 12 h，尾静脉取血用稳豪型血糖分析仪测血糖，同时测量小鼠体重。取血糖值 ≥ 11.1 mmol·L⁻¹ 的小鼠作为糖尿病模型。

2.3 火绒草醇提取物降血糖有效部位的测定 将普通饲料饲喂的 10 只小鼠设为正常组，造模成功的小鼠按血糖值平均分为 5 组，每组 15 只，分别为高血糖模型组、阳性药(盐酸二甲双胍)组、50% 乙醇提取物组、70% 乙醇提取物组和 95% 乙醇提取物组。阳性药组 *ig* 300 mg·kg⁻¹ 的盐酸二甲双胍，给药组 *ig* 100 mg·kg⁻¹ 火绒草不同部位提取物，空白组及高血糖模型组 *ig* 相应量的蒸馏水，每天 1 次，连续 10 d。每天观察小鼠精神、毛色、食量、饮水量、尿量状况；每 3 d 记录 1 次小鼠体重，末次给药结束后，小鼠禁食不禁水 12 h，取尾部静脉血测量空腹血糖，计算降糖率，追踪有效部位。

$$\text{降糖率} = (\text{给药前血糖} - \text{给药后血糖}) / \text{给药前血糖} \times 100\%$$

2.4 不同剂量火绒草醇提取物的降血糖药效测定 将筛选得到的具有显著降血糖效果的火绒草组分为高、中、低剂量组，分别按 400, 200, 100 mg·kg⁻¹ *ig* 造模成功的小鼠。每天 *ig* 给药 1 次，连续 10 d。按 2.3 方法检测各项指标。

2.5 统计学分析 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 GraphPad Prism 5 统计软件对数据进行单因素方差分析， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠成模后血糖值稳定性考察 通过 1 次性 *ip* STZ (200 mg·kg⁻¹) 造模，造模 7 d 后小鼠的血糖值比空白组和造模前显著升高 ($P < 0.01$)，表明 STZ 造模成功(表 1)，成模率达到 80% 以上。造模 7 d 后小鼠血糖值基本稳定，小鼠死亡率低，可用于后续实验。

3.2 火绒草提取物对高血糖小鼠体重的影响 在整个实验过程中，空白组小鼠体重持续增加。与空白组比较，建模后的各组小鼠体重明显降低 ($P < 0.01$)，饮水量和尿量增加。与模型组比较，火绒草 50%、70%、95% 乙醇提取物 100 mg·kg⁻¹，连续给药 10 d，体重变化无显著差异。

3.3 火绒草醇提取物对高血糖小鼠血糖的影响 与模型组比较，火绒草醇提取物各组均能不同程度降低高血糖小鼠血糖水平(表 2)。50% 的醇提取物降糖效果有显著差异 ($P < 0.05$)。因此，确定火绒草降血糖的有效部位为 50% 乙醇提取物。

表1 小鼠STZ成模后血糖值的考察($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Stability investigation of blood glucose in mice after constructed by administering STZ ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	血糖/mmol·L ⁻¹					
		建模前	7 d	14 d	21 d	28 d	34 d
空白	-	4.1 ± 0.2	4.3 ± 0.9	4.1 ± 0.7	4.5 ± 0.6	4.7 ± 1.4	4.5 ± 0.9
模型	200	4.5 ± 0.5	21.9 ± 4.9 ¹⁾	18.1 ± 3.8 ¹⁾	23.3 ± 5.8 ¹⁾	25.8 ± 3.3 ¹⁾	26.9 ± 1.3 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$ 。

表2 不同浓度火绒草醇提取物对高血糖小鼠空腹血糖的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of different concentrations of ethanol extracts in *L. leontopodioides* on blood glucose in diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	血糖/mmol·L ⁻¹		降糖率 /%
		给药前	给药10 d后	
空白	-	4.2 ± 0.4	4.3 ± 0.4	-
模型	-	20.6 ± 2.4 ²⁾	20.2 ± 3.0 ²⁾	-
盐酸二甲双胍	300	20.2 ± 4.3	10.9 ± 4.5 ⁴⁾	46.3
火绒草50%醇提取物	100	21.0 ± 4.9	14.1 ± 3.0 ³⁾	32.8
火绒草70%醇提取物	100	20.1 ± 3.2	19.1 ± 5.8	5.4
火绒草95%醇提取物	100	20.2 ± 4.3	16.2 ± 4.7	19.7

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表3同)。

3.4 火绒草50%乙醇提取物对高血糖小鼠血糖的影响 与模型组相比,3个剂量火绒草的50%乙醇提取物能不同程度降低小鼠血糖($P < 0.05, P < 0.01$),中剂量组有极显著差异($P < 0.01$)。见表3。

表3 火绒草50%乙醇提取物剂量对高血糖小鼠空腹血糖的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of different doses of ethanol extract in *L. leontopodioides* on blood glucose in diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	血糖/mmol·L ⁻¹		降糖率 /%
		给药前	给药后	
空白	-	4.9 ± 1.1	4.4 ± 1.0	-
模型	-	21.5 ± 4.8 ²⁾	18.2 ± 3.1 ²⁾	-
盐酸二甲双胍	300	20.0 ± 4.4	9.2 ± 5.6 ⁴⁾	53.8
火绒草50%醇提取物	400	20.1 ± 1.5	14.2 ± 3.4 ³⁾	29.6
	200	19.2 ± 3.3	10.7 ± 3.2 ⁴⁾	44.1
	100	19.8 ± 2.8	14.2 ± 4.1 ³⁾	28.4

4 讨论

柳蕾等^[6]通过对高脂饲料诱导联合链脲佐菌素的Ⅱ型糖尿病大鼠灌胃火绒草水煎剂后,发现高剂量的火绒草可以显著降低2型糖尿病大鼠的血糖水平,改善血脂紊乱。笔者采用大孔树脂对火绒草醇提取物进行分离,得到不同乙醇浓度的提取物。火绒草50%乙醇提取物降糖效果显著,且以中剂量效果最佳,其降糖活性具有临床价值。

[参考文献]

- [1] 温彩红,陈其秀,陈冉,等. 火绒草的研究进展[J]. 内蒙古医学院学报,2005,27(5):90-92.
- [2] Li J X, Yang X P, Jia Z J. Two new bisabolane sesquiterpenes from *Leontopodium longifolium*[J]. Chin Chem Lett, 2006, 17(6):776-778.
- [3] 潘春媛,武瑞,贾永全,等. 火绒草乙醇提取物的化学成分研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2010,23(4):50-52.
- [4] Li X, Luo J G, Wang X B, et al. Phenolics from *Leontopodium leontopodioides* inhibiting nitric oxide production[J]. Fitoterapia, 2012, 83(5):883-887.
- [5] 潘春媛,尤海丹,贺杰,等. 火绒草正丁醇层化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报,2010,27(6):436-439.
- [6] 柳蕾,匡少金,刘彩德,等. 火绒草对2型糖尿病大鼠糖脂代谢的影响[J]. 中国现代医药杂志,2014,16(6):11-13.
- [7] 武彦文,高文远,苏艳芳,等. 火绒草属植物的化学成分和药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志,2005,30(4):245-248.
- [8] 龚含军. 中药火绒草的药理研究[J]. 医学信息,2010,23(9):174.

[责任编辑 聂淑琴]