

罗汉果总黄酮对实验性糖尿病大鼠的治疗作用

郑楚,唐金良,杨冬业,唐灵*
(桂林医学院,广西 桂林 541001)

[摘要] 目的:观察罗汉果总黄酮降糖作用及其作用机制。方法:用链脲佐菌素(STZ)1次性 ip 70 mg·kg⁻¹建立大鼠糖尿病模型,72 h后将血糖值≥19 mmol·L⁻¹糖尿病大鼠按血糖值随机分成模型组、罗汉果总黄酮高、中、低剂量组(80,40,20 mg·kg⁻¹)和二甲双胍组(10 mg·kg⁻¹),另取正常大鼠作为对照组(n=10)。ig 给药,每日1次,连续28 d后测定糖尿病大鼠血糖(Glu)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、血脂、胰岛素水平及胰腺病理组织学检查。结果:罗汉果总黄酮80 mg·kg⁻¹剂量组能使 STZ 糖尿病大鼠 Glu 由(22.68±2.55)mmol·L⁻¹降至(10.63±2.88)mmol·L⁻¹,40 mg·kg⁻¹剂量组能使大鼠的血糖值由(23.23±2.52)mmol·L⁻¹降至(12.34±3.6)mmol·L⁻¹(P<0.05,P<0.01);罗汉果总黄酮80 mg·kg⁻¹剂量组能显著提高血清中 SOD,GSH-Px 活性和降低 MDA 含量(P<0.05);罗汉果总黄酮80 mg·kg⁻¹剂量组对血脂(TC,TG)有显著降低作用(P<0.05);罗汉果总黄酮80 mg·kg⁻¹剂量组显著提高血清中胰岛素水平(P<0.05)。结论:罗汉果总黄酮对 STZ 糖尿病大鼠有降糖及降血脂作用。

[关键词] 罗汉果总黄酮;链脲佐菌素;糖尿病

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)22-0194-04

Effects of Total Flavonoids in *Momordica grosvenori* on Hyperglycemia Rat During Streptozotocin Diabetes

ZHENG Chu, TANG Jin-liang, YANG Dong-ye, TANG Ling*
(Guilin Medical College, Guilin 541001, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the improved hypoglycemic effects of total flavonoids in *Momordica grosvenori* on experimental diabetes. **Method:** Streptozotocin (STZ) induced diabetic rats were randomly divided into five group, the model group, the Metformin group, total flavonoids of *M. grosvenori* (80, 40, 20 mg·kg⁻¹) groups and Metformin (8 mg·kg⁻¹) group. The treatment groups were orally administered once per day separately, model group were orally administered with distilled water. The blood glucose, SOD,MDA, lipidprofile and insulin were determined after 28 days. **Result:** Total flavonoids of *M. grosvenori* could decreased the level of blood glucose (P<0.05, P<0.01), lipidprofile and MDA; increased the activity of SOD (P<0.05), and restoring the serum insulin level (P<0.05). **Conclusion:** Total flavonoids of *M. grosvenori* are potential biological anti-diabetic activity.

[Key words] total flavonoids of *Momordica grosvenori*; streptozotocin; diabetes

罗汉果为葫芦科植物罗汉果的果实,被人们誉

为“神仙果”。主要产于桂林市临桂县和永福县的山区,是桂林名贵的土特产。具清热润肺,止咳,利咽,滑肠通便之功效,用于肺火燥咳,咽痛失音,肠燥便秘等症。近年的研究表明,罗汉果提取物对糖尿病具有治疗作用^[1-3],但罗汉果主要活性部位罗汉果总黄酮对糖尿病的作用还鲜有报道。本实验用链脲佐菌素(STZ)建立大鼠糖尿病模型,观察罗汉果总黄酮对糖尿病大鼠血清葡萄糖(Glu)、超氧化物歧化酶

[收稿日期] 20110822(010)

[作者简介] 郑楚,副主任医师,副教授,从事心血管方面的研究, Tel: 13768439393, E-mail: Zhengchu999@163.com

[通讯作者] *唐灵,副主任医师,从事内分泌方面的研究, Tel: 1397312620, E-mail: Zhengchu999@163.com

(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)、血脂及胰岛素水平的影响。为进一步开发罗汉果药用资源提供药理学依据。

1 材料

1.1 动物 雄性 Wistar 大鼠,体重 180 ~ 220 g, 清洁级,由广西医科大学实验动物中心提供,动物许可证证号 SCXK(桂)2003-0003。

1.2 药物及试剂 罗汉果,来源桂林市永福县,由桂林医学院徐勤副教授鉴定,罗汉果总黄酮,水提取,纯度 89%,由桂林医学院药理学系提供;盐酸二甲双胍,天津太平洋制药有限公司,批号 060113;STZ, Sigma 公司;Glu,胆固醇(TC),甘油三酯(TG),SOD, GSH-Px,MDA 测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,批号分别为 20090615,20090612,20090612,20090505,20090625,20090620;胰岛素放射免疫测定试剂盒,北京北方生物技术研究所,批号 021105。

1.3 仪器 SN-695A 型放射免疫 γ -测量仪,上海原子能研究所日环仪器一厂产品。

2 方法

2.1 STZ 糖尿病大鼠模型制备与分组 按文献方法制作^[4]。取雄性 Wistar 大鼠,饲养 7 d 后,1 次性 STZ 溶液($70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),72 h 后,禁食 16 h,从大鼠尾静脉取血,测定空腹血糖和胰岛素水平。将血糖值 $\geq 19 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 糖尿病大鼠按血糖值随机分为 5 组,即模型组(等体积蒸馏水),二甲双胍组($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),罗汉果总黄酮高、中、低剂量组(80,40,20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),另取正常大鼠 10 只,作为对照组,给予同体积蒸馏水。ig 每天 1 次,连续 28 d。

2.2 检测指标 第 28 天禁食不禁水 16 h 后末次给药,给药 1 h 后戊巴比妥钠 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 麻醉,腹主动脉取血,离心分离血清,按试剂盒方法测定空腹血糖、胰岛素、血脂(TC, TG),SOD,MDA,GSH-Px 和胰岛素等指标。且迅速处死大鼠,剖取胰腺,用 10% 的福尔马林液固定,常规 HE 染色,光镜下进行病理组织学检查,按照 Schmidt 等^[5] 标准从水肿、出血、坏死及炎症细胞浸润 4 个方面评分。

3 结果

3.1 对糖尿病大鼠血糖的影响 与对照组比,模型组大鼠血糖水平显著升高($P < 0.01$)。提示,糖尿病模型制作成功。与模型对照组比较,罗汉果总黄酮高剂量组($80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)能极显著降低糖尿病大鼠血糖水平($P < 0.01$),中剂量组($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)能显

著降低糖尿病大鼠血糖水平($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 罗汉果总黄酮对糖尿病大鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Glu/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	
		药前	药后
对照	-	$5.56 \pm 1.07^{2)}$	$6.56 \pm 1.07^{2)}$
模型	-	23.35 ± 2.93	16.41 ± 2.77
二甲双胍	10	23.14 ± 3.05	$9.84 \pm 3.16^{2)}$
罗汉果总黄酮	80	22.68 ± 2.55	$10.63 \pm 2.88^{2)}$
	40	23.23 ± 2.52	$12.34 \pm 3.60^{1)}$
	20	22.37 ± 3.01	14.43 ± 8.07

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 5 同)。

3.2 对糖尿病大鼠血脂的影响 与对照组比,模型组大鼠 TG,TC 水平显著升高($P < 0.01$)。提示,糖尿病大鼠脂质代谢出现紊乱。和模型对照组比较,罗汉果总黄酮 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 能显著降低糖尿病大鼠 TG,TC 水平($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 罗汉果总黄酮对糖尿病大鼠血脂的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	TC	TG
		/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$
对照	-	$2.58 \pm 0.69^{2)}$	$0.94 \pm 0.25^{2)}$
模型	-	3.61 ± 0.81	1.56 ± 0.55
二甲双胍	10	$2.74 \pm 0.82^{1)}$	$1.19 \pm 0.35^{1)}$
罗汉果总黄酮	80	$2.88 \pm 0.37^{1)}$	$1.02 \pm 0.26^{1)}$
	40	3.51 ± 0.53	1.26 ± 0.37
	20	3.10 ± 0.71	1.34 ± 0.39

3.3 对糖尿病大鼠 SOD,MDA,GSH-Px 的影响 与对照组比,模型组大鼠 MDA 水平显著升高,SOD,GSH-Px 活性显著降低($P < 0.01$)。提示,糖尿病大鼠抗氧化代谢出现紊乱。与模型组比较,罗汉果总黄酮 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 能显著降低糖尿病大鼠 MDA 水平,增高 SOD,GSH-Px 的活性($P < 0.05$)。见表 3。

3.4 罗汉果总黄酮对糖尿病大鼠胰岛素水平的影响 与对照组比,模型组大鼠胰岛素水平显著降低($P < 0.01$)。提示,糖尿病大鼠胰岛受到损伤。与模型对照组比较,罗汉果总黄酮 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 能显著提高糖尿病大鼠胰岛素水平($P < 0.05$)。见表 4。

3.5 罗汉果总黄酮对糖尿病大鼠胰腺病理组织学的影响 正常鼠胰腺分叶状,胰岛呈团索状,分界清楚,无炎症细胞和纤维,胰岛数及岛内细胞数较

表 3 罗汉果总黄酮对糖尿病大鼠 SOD,MDA,GSH-Px 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	SOD	MDA	GSH-Px
		/μU·L ⁻¹	/μmol·L ⁻¹	/U·mL ⁻¹
对照	-	260.91 ± 27.58 ²⁾	2.17 ± 0.42 ²⁾	326.71 ± 29.26 ²⁾
模型	-	219.78 ± 21.39	2.98 ± 0.60	266.38 ± 37.25
二甲双胍	10	247.85 ± 27.88 ¹⁾	2.37 ± 0.34 ¹⁾	302.25 ± 24.39 ¹⁾
罗汉果总黄酮	80	241.93 ± 23.69 ¹⁾	2.49 ± 0.38 ¹⁾	299.13 ± 27.48 ¹⁾
	40	233.45 ± 20.43	2.54 ± 0.58	297.15 ± 33.01
	20	227.27 ± 21.71	2.69 ± 0.56	279.57 ± 21.71

表 4 罗汉果总黄酮对糖尿病大鼠胰岛素水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	血清胰岛素/mU·L ⁻¹	
		药前	药后
对照	-	24.47 ± 3.43 ²⁾	25.67 ± 2.83 ²⁾
模型	-	14.36 ± 2.98	15.29 ± 2.76
二甲双胍	10	15.94 ± 2.81	19.91 ± 4.75 ¹⁾
罗汉果总黄酮	80	14.90 ± 2.80	18.83 ± 4.22 ¹⁾
	40	14.76 ± 2.62	16.84 ± 3.56
	20	15.53 ± 2.63	17.42 ± 3.23

多。模型组胰岛体积缩小,胰岛内细胞数减少,且有少量炎症细胞浸润及纤维组织。罗汉果总黄酮高剂量组胰岛数量明显增多,胰岛内未见纤维化,仅见少量细胞呈萎缩状态,但无炎性细胞浸润。见表 5。

表 5 罗汉果总黄酮对糖尿病大鼠胰岛病理组织学评分的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	胰岛病变评分/分
对照	-	3.64 ± 4.01 ²⁾
模型	-	9.71 ± 1.26
二甲双胍	10	4.89 ± 0.55 ²⁾
罗汉果总黄酮	80	5.32 ± 0.78 ²⁾
	40	8.73 ± 0.96
	20	9.08 ± 1.67

4 讨论

糖尿病(diabetes)是由遗传因素、免疫功能紊乱、微生物感染及其毒素、自由基毒素、精神因素等等各种致病因子作用于机体导致胰岛功能减退、胰岛素抵抗等而引发的糖、蛋白质、脂肪、水和电解质等一系列代谢紊乱综合征。STZ的α异构体有较高的毒性,通过自由基(如CH₃·)损伤β细胞,使细胞内胰岛素合成受损,造成胰岛素缺乏,引起糖尿病及其并发症^[6-8]。本实验利用STZ复制糖尿病大鼠

模型,和与正常大鼠比较,其血糖显著性增高,胰岛素水平明显降低,表明造模成功。实验结果表明,罗汉果总黄酮对STZ糖尿病鼠具有明显的降血糖作用,能明显恢复STZ引起的胰岛素的减少,与模型组相比差异具有明显的防治作用。同时,罗汉果总黄酮可以改善由STZ引起的病理学改变。表明罗汉果总黄酮可能减弱STZ对胰岛细胞的损伤或改善受损的细胞的功能,有益于缓解糖尿病大鼠的症状。

糖尿病胰岛素缺乏会引发高血脂,相反高血脂也会加重糖尿病病情,二者互为影响,互为加重^[9-10]。血液中的甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇等脂质增高以后,会在肝脏、肌肉、皮下、腹腔里堆积起来,还有一部分会变成血游离脂肪酸。血游离脂肪酸会引起胰岛素抵抗,即过多的血游离脂肪酸可通过抑制肌肉组织等对葡萄糖的利用,促进肝脏糖异生,使胰岛素不能有效发挥作用;会引起分泌胰岛素的胰岛β细胞功能障碍,因为血游离脂肪酸可以与葡萄糖相互制约,抑制胰岛素的合成和分泌,甘油三酯在β细胞内堆积可引起胰岛素分泌功能受损和β细胞凋亡,加重糖尿病病情。本研究表明,罗汉果总黄酮对糖尿病大鼠体内血清甘油三酯、血清胆固醇的异常升高有防治作用,使机体血脂水平趋向正常,防止糖尿病导致的脂类代谢紊乱,对糖尿病并发症有防治作用。

氧化应激是指机体内高活性分子如活性氧簇和活性氮簇产生过多或消除减少,从而导致组织损伤。越来越多的证据表明,高血糖、氧化应激与糖尿病及其血管并发症之间关系密切^[11-14]。本研究表明,罗汉果总黄酮可降低糖尿病大鼠血清MDA,提高SOD,GSH-Px的活力,有助于糖尿病大鼠肝脏抗氧化能力的恢复,提示这可能是其降糖作用的机制之一。

罗汉果总黄酮是罗汉果的主要活性部位之一,

具有重要的药理活性,我们的研究表明,罗汉果总黄酮对糖尿病及其并发症具有良好的防治作用,至于哪种成分起作用及其作用机制,还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 戚向阳,陈维军,宋云飞,等.罗汉果提取物对糖尿病小鼠的降血糖作用[J].中国公共卫生,2003,19(10):1226.

[2] 张俐勤,戚向阳,陈维军,等.罗汉果皂苷提取物对糖尿病小鼠血糖、血脂及抗氧化作用的影响[J].中国药理学通报,2006,22(2):237.

[3] 陈维军,宋方方,刘烈刚,等.罗汉果皂苷提取物对I型糖尿病小鼠细胞免疫功能的影响[J].营养学报,2006,28(3):221.

[4] 胡蜀红,张木勋.黄芩苷对STZ糖尿病大鼠肾脏的保护及其与VEGF的关系[J].中国医院药学杂志,2007,27(7):885.

[5] Schmidt J, Rattner D W, Lewandrowski K, et al. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy[J]. Ann Surg,1992,215(1):44.

[6] 张浩,林炜栋,汤玮,等.氧化应激在糖尿病足发病机制中的研究进展[J].上海医学,2011,34(5):408.

[7] 赵峥.代谢综合征的研究进展[J].实用心脑血管病杂志,2011,19(1):143

[8] 和亚强,马洪伟,付文亮,等.糖尿病海马损伤与认知

功能障碍研究进展[J].承德医学院学报,2010,27(4):427

[9] Ascaso J F, Millán J, Mateo-Gallego R, et al. Prevalence of metabolic syndrome and cardiovascular disease in a hypertriglyceridemic population[J]. Eur J Intern Med,2011,22(2):177.

[10] 张鸣,孙必强.玉女煎加减方对高血糖大鼠的实验研究[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(7):54.

[11] Karuna R, Bharathi V G, Reddy S S, et al. Protective effects of Phyllanthus amarus aqueous extract against renal oxidative stress in Streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Indian J Pharmacol,2011,43(4):414.

[12] Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S, et al. Oxidative stress in cardiac and skeletal muscle dysfunction associated with diabetes mellitus[J]. J Clin Biochem Nutr,2011,48(1):68.

[13] Peixoto E B, Pessoa B S, Biswas S K, et al. Antioxidant SOD mimetic prevents NADPH oxidase-induced oxidative stress and renal damage in the early stage of experimental diabetes and hypertension[J]. Am J Nephrol,2009,29(4):309.

[14] 田凤胜,李振彬,王元松,等.大黄对糖尿病大鼠血管病变保护机制的实验研究[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(2):63.

[责任编辑 聂淑琴]

《中国实验方剂学杂志》优先数字出版声明

优先数字出版就是以数字出版方式提前出版印刷版期刊内容。按照《中国实验方剂学杂志》与中国知网签订的优先数字出版协议,已经完成审稿及编排的、符合相关规定的稿件可以在印刷版出版前在中国知网优先数字出版平台上发布。发布内容也属于正式出版范畴。这一方式对于加快文献的出版传播,提升学术影响力具有积极作用。作者如希望稿件采用优先数字出版方式出版,请在投稿时说明,经过编辑部审查符合条件者可实现优先出版。