

文章编号:1673-1689(2007)04-0042-04

## 辣木叶总黄酮的提取及其降血糖作用

陈瑞娇, 朱必凤, 王玉珍, 刘主

(韶关学院 英东生物工程学院, 广东 韶关 512005)

**摘要:** 采用乙醇回流法从辣木叶中提取黄酮类化合物, 经 AB-8 型大孔吸附树脂柱纯化获得辣木叶总黄酮(TFM); 以四氧嘧啶糖尿病小鼠为动物模型, 以中成药消渴丸为对照, 进行 TFM 的降血糖动物试验研究。结果表明 TFM 能明显降低糖尿病模型小鼠的血糖, 同时能提高血清 SOD 活力, 降低血清 MDA 含量, 但 TFM 对正常小鼠的血糖水平无影响。

**关键词:** 辣木叶总黄酮; 提取; 糖尿病; 降血糖作用

中图分类号: Q 946.83.9

文献标识码: A

### Extraction and Hypoglycemic effect of the Total Flavonoid From leaves of *Moringa oleifera*

CHEN Rui-jiao, ZHU Bi-feng, WANG Yu-zhen, LIU Zhu

(Yingdong College of Bioengineering, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China)

**Abstract:** In this manuscript, the flavonoid of *Moringa oleifera* leaves was extracted with ethanol refluxing method, then the crude total flavonoid was chromatographed by AB-8 microporous absorbent resins to obtain the total flavones of *Moringa oleifera* leaf (TFM), With alloxan-induced diabetic mice as animal model, and Xiaoke pill as the control to estimated the effect of TFM on hypoglycemic. The results showed that TFM could remarkably decrease the serum glucose, improve activity of serum SOD and decreased their MDA in alloxan-induced diabetic mice, On the other hand, it was found that TFM had no influence on the serum glucose level in normal mice.

**Key words:** total flavones of *Moringa oleifera* leaf; extraction; diabetes; hypoglycemic effect

辣木(*Moringa oleifera*)为辣木科辣木属植物,原产于印度北部喜马拉雅区域<sup>[1]</sup>,辣木不仅可以食用,在热带、亚热带地区还用作植物药材而备受重视。近年来,辣木在我国广东、云南和海南等都有引种栽培,其产品的开发成为热点。E. Makonnen 等人研究发现辣木叶提取物能在 3 h 内有效地降低血糖水平<sup>[2]</sup>。然而目前对其降血糖活性

的物质基础尚不清楚。植物中具有降血糖作用的成分归纳起来有:生物碱、黄酮类、多糖类、萜类及皂甙、多肽、氨基酸类及不饱和脂肪酸类等。近年来,具有抗氧化和清除自由基作用的黄酮类受到医药界广泛的重视。因此,本实验以韶关引种栽培的辣木叶为原料,提取辣木叶总黄酮,研究其降小鼠血糖的功能作用,为辣木资源的利用、开发预防糖

收稿日期:2006-09-11.

作者简介:陈瑞娇(1969-)女,广东南雄人,讲师,工学硕士.主要从事生物工程理论教学与研究. Email: chrj@21cn.com

尿病的药物与保健食品提供依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 材料

辣木叶:2005年7月中旬采自韶关新丰东林农业开发有限公司种植场;将新鲜的辣木叶洗净,自然风干后于50℃烘箱中烘干,粉碎过100目筛备用。

昆明种小鼠:体重(18~22)g,雌雄兼用,购于广东省医学实验动物中心。

AB-8树脂:南开大学化工厂生产;卢丁:中国药品生物制品检定所产品;四氧嘧啶:Sigma公司试剂,消渴丸:广州中药一厂产品;血糖试剂盒:保定长城临床试剂有限公司产品;其他试剂均为国产分析纯试剂。

### 1.2 仪器

HH-W420数显三用恒温水浴锅:江苏金坛荣华仪器制造厂制造;R201旋转蒸发器:上海申生科技有限公司制造;3K18超速冷冻离心机:美国Sigma公司制造;Ultrospec2000紫外/可见分光光度计:Amersham Pharmacia Biotech公司制造。

## 2 结果与讨论

### 2.1 辣木叶总黄酮的提取

称取适量的干燥辣木叶粉,以3倍量石油醚(沸程60~90℃)70℃回流去脂6h,共2次。滤渣干燥候用10倍量70%乙醇70℃回流提取3次,每次2h,提取液合并后减压浓缩,回收乙醇,得辣木叶总黄酮粗提取液。

### 2.2 AB-8大孔树脂分离纯化总黄酮

将辣木叶总黄酮粗提液加入AB-8型大孔吸附树脂柱中,依次用蒸馏水200mL,体积分数30%乙醇、50%乙醇、70%乙醇各100mL梯度洗脱,调节体积流量为2mL/min,每管收集25mL,以 $\text{NaNO}_2$ - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ - $\text{NaOH}$ 体系显色检测,在波长为510nm下测定吸光度,绘制洗脱曲线(见图1)。由洗脱曲线可知,50%和70%乙醇洗脱组分中黄酮含量较高,因此确定洗脱条件为先用蒸馏水洗去杂质后,用3倍柱床体积50%乙醇和70%乙醇50mL洗脱,收集50%和70%的乙醇洗脱部分,洗脱液减压浓缩,回收乙醇,浓缩液水浴蒸干至浸膏,50℃低温干燥,得辣木叶总黄酮(Total Flavones of *Moringa oleifera*,以下简称TFM)粉末,测定其总黄酮

含量。

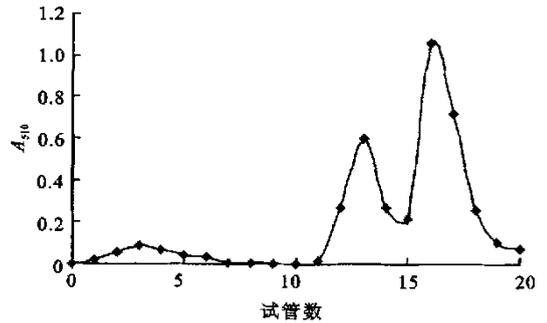


图1 AB-8大孔吸附树脂吸附辣木叶总黄酮梯度洗脱曲线

Fig.1 Chromatographic isolation of total flavonoid on AB-8 microporous absorbent resins column

### 2.3 总黄酮含量的测定

2.3.1 标准曲线回归方程的建立 精密称取卢丁对照品10mg,置50mL量瓶中,用30%乙醇定容至刻度,摇匀,即得0.2g/L的对照液。精密吸取对照液0.0,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0和6.0mL,分别置25mL容量瓶中,各加30%乙醇至10mL,摇匀,加5%亚硝酸钠1mL,摇匀,放置6min,加10%硝酸铝1mL,摇匀,放置6min,再加1mol/L氢氧化钠液10mL,用30%乙醇定容后摇匀,放置15min,以0管作为空白,再510nm处测定吸收度(A),测3次取平均值,以吸光度(A)为横坐标,浓度(C)为纵坐标,绘制标准曲线,线性回归得回归方程  $C = 0.083A + 0.0004$ ,相关系数  $r = 0.9990$ 。

2.3.2 TFM中总黄酮含量的测定 精密称取TFM粉末50mg,置50mL容量瓶中,用30%乙醇溶解并定容至刻度,摇匀,精密吸取1.0mL置25mL容量瓶中,然后再按照标准曲线制备方法测定吸光度,测定结果:TFM中总黄酮含量为28.77%(以卢丁为基准)。

### 2.4 TFM降血糖活性研究

2.4.1 TFM对正常小鼠血糖水平的影响 取正常小鼠40只,随机分为4组,每组10只,即TFM高低剂量组(100mg/kg,300mg/kg),阳性对照组(XKW 1000mg/kg)及正常对照组(Control)。均按0.20mL/10g体积灌胃给药,正常对照组在同样条件下灌胃生理盐水,每日1次,连续7d。末次给药前12h禁食,给药2h后眼眶静脉采血,采用血糖测定试剂盒,葡萄糖氧化酶法测定空腹血糖,所得数据进行组间t检验,结果见表1。

由表1可见,给药7d后,TFM高、低剂量组对正常小鼠空腹血糖稍有降低作用,但与正常对照组

比较不存在显著性差异( $P>0.05$ ),而阳性药物消渴丸(XKW)则有明显地降低正常小鼠血糖作用。

表1 TFM对正常小鼠血糖的影响

Tab.1 Effect of TFM on normal mice glucose( $\bar{x}\pm s$ )

组别	剂量/(mg/kg)	小鼠数/只	血清葡萄糖浓度/(mmol/L)
Normal	—	10	7.73±1.61
XKW	1000	10	4.92±1.12*
TFM I	100	10	6.63±1.83
TFM II	300	10	7.42±0.65

注: \*:  $P<0.05$  vs normal.

**2.4.2 TFM对四氧嘧啶糖尿病小鼠模型的降糖作用** 按文献<sup>[3]</sup>方法造模,将正常小鼠禁食12 h(自由饮水)后,腹腔注射体积分数2%四氧嘧啶(200 mg/kg),注射后恢复正常饮食。72 h后眼眶静脉丛采血测定空腹血糖(取血前禁食12 h),血糖值大于11.1 mmol/L者为实验性糖尿病动物模型。取造成糖尿病模型者40只,随机分为4组,即模型对照组,阳性对照组(XFW,1 000 mg/kg),TFM高低剂量组(100 mg/kg,300 mg/kg)。另取10只同批正常小鼠作为正常对照组(Normal),模型对照组和正常对照组给予等体积蒸馏水,给药方法均同前,连续给药7 d。末次给药前禁食12 h,给药2 h后眼眶静脉采血,离心分离血清,按试剂盒方法测定空腹血清、SOD、MDA等指标。

#### 1) TFM对糖尿病小鼠血糖水平的影响

表3 TFM对四氧嘧啶糖尿病小鼠SOD、MDA的影响

Tab.3 Effect of TFM on serum SOD and MDA in alloxan induced hyperglycemic mice

组别	剂量/(mg/kg)	小鼠数/只	血清SOD/(NU/mL)	血清MDA浓度/(nmol/mL)
Normal	—	10	176.2±20.97	7.00±1.73
Model	—	10	157.05±15.32▲	9.20±1.64▲▲
XKW	1000	10	182.86±14.36*	6.23±1.78*
TFM I	100	10	171.69±24.67	7.29±1.13*
TFM II	300	10	184.36±16.33*	6.99±1.70*

注: \*:  $P<0.05$ , \*\*:  $P<0.05$  vs model; ▲▲:  $P<0.01$  vs normal.

由表2可知,给药7 d后,TFM高剂量组的血清葡萄糖与模型组比较有极显著差异( $P>0.01$ ),TFM低剂量组与模型对照组比较有显著性差异( $P<0.05$ ),呈现剂量效应关系,且TFM高剂量组的降糖效果稍优于阳性药物消渴丸。提示TFM对四氧嘧啶糖尿病小鼠有明显的降血糖作用。

表2 TFM对四氧嘧啶糖尿病小鼠血糖的影响

Tab.2 Effect of TFM on diabetes mellitus mice model established by the Alloxan( $\bar{x}\pm s$ )

组别	剂量/(mg/kg)	小鼠数/只	血清葡萄糖浓度/(mmol/L)
Normal	—	10	6.54±1.81
Model	—	10	18.7±1.95▲▲
XKW	1000	10	8.19±4.17*
TFM I	100	10	9.78±2.10*
TFM II	300	10	7.38±2.07**

注: \*:  $P<0.05$ , \*\*:  $P<0.01$  vs model; ▲▲:  $P<0.01$  vs normal.

#### 2) TFM对糖尿病小鼠血清SOD和MDA的影响

由表3可知,与模型对照组相比TFM高剂量组能显著提高四氧嘧啶致糖尿病小鼠的血清SOD活性( $P<0.05$ ),低剂量组也有一定的升高趋势;而高、低剂量组都明显降低了血清中MDA的含量( $P<0.05$ ),结果表明TFM具有增强糖尿病模型小鼠机体抗氧化,清除脂质过氧化物的能力。

### 3 结 语

印度传统医学认为,辣木叶有护肝、消炎、利尿、降压、止痛、强心、催欲等功效,常用于预防和治疗糖尿病、高血压、皮肤病、免疫力低下、贫血、佝偻、关节炎、消化器官肿瘤等疾病<sup>[4]</sup>。黄酮类化合

物广泛存在自然植物中,有多种生物活性<sup>[5]</sup>。本实验采用AB-8型大孔吸附树脂对辣木叶总黄酮粗提液进行分离纯化,结果表明,在50%和70%乙醇洗脱组分中黄酮含量较高,经纯化后的辣木叶总黄酮的含量可达到28.77%,文献报道采用AB-8型树脂纯化银杏叶提取液和藜蒿黄酮粗提物,纯化后其总黄酮含量分别为26%以上和21.98%<sup>[6-7]</sup>。表明AB-

8型树脂对辣木叶总黄酮有较好的分离纯化作用。

辣木叶总黄酮(TFM)的降血糖活性实验研究表明,TFM能显著降低四氧嘧啶所致糖尿病小鼠的血糖,明显提高超氧化物歧化酶(SOD)活力,减少脂质过氧化物(MDA)的产生,但TFM对正常小

鼠血糖水平无明显影响。研究结果提示TFM的作用机理可能是通过抗氧化作用,减轻四氧嘧啶对胰岛 $\beta$ 细胞损伤,或促进已损伤的 $\beta$ 细胞的修复,增强胰岛的分泌功能,从而减轻高血糖反应。TFM降血糖的具体作用机理尚有待进一步实验研究。

## 参考文献(References):

- [1] 刘昌华,李国华. 辣木的研究现状及其开发前景[J]. 云南热作物科技,2002,25(3):20-24.  
LU Chang-fen, LI Guo-hua. Actuality of study on moringa oleifera and their exploitive foreground[J]. **Journal of Yunnan Tropical Crops Science & Technology**, 2002,25(3):20-24. (in Chinese)
- [2] 洪林,魏召新,李隆华,等. 辣木资源研究利用现状[J]. 西南园艺,2006,34(1):56-57.  
HONG Ling, WEI Shao-xin, LI Long-hua, et al. Advance in researches and applications of moringa oleifera resource[J]. **Southwest Horticulture**, 2006,34(1):56-57. (in Chinese)
- [3] 张均田. 现代药理实验方法[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1998. 982-983.
- [4] 张燕平,段琼芬,苏建荣. 辣木的开发与利用[J]. 热带农业科学,2004,24(4):42-48.  
ZHANG Yan-ping, DUAN Qiong-fen, SU Jian-rong. Development and utilization on moringa oleifera[J]. **Chinese Journal of Tropical Agriculture**, 2004,24(4):42-48. (in Chinese)
- [5] 韩公羽,沈企华. 植物药有效成分的研究与开发[M]. 杭州:杭州大学出版社,1991,26:94-102.
- [6] 陈冲,罗思齐. 银杏叶提取物的生产工艺条件研究[J]. 中草药,1997,28(7):402-404.  
CHEN Chong, LUO Si-qi. Studies on the productive technology of ginkgo extract[J]. **Chinese Traditional and Herbal Drugs**, 1997,28(7):402-404. (in Chinese)
- [7] 郑功源,杨安树,邓丹雯. 大孔吸附树脂分离纯化藜蒿中黄酮类化合物[J]. 食品科技,2003,1:11-15.  
ZHENG Gong-yuan, Yang An-shu, Deng Dan-wen. Purify the flavonoids in artemisia selergensis turcz with the macroporous adsorption resin[J]. **Food Science and Technology**, 2003,1:11-15. (in Chinese)

(责任编辑:杨萌)