

宁夏枸杞水提物对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠的降糖作用

胡馨予¹, 卢文倩², 孙晓琪¹, 许红凯², 张巍¹, 张世强², 寇玲^{*3}

(1. 长春医学高等专科学校 临床医学部, 吉林 长春 130013; 2. 吉林大学 生命科学学院, 吉林 长春 130012;

3. 江苏大学 附属医院, 江苏 镇江 212000)

摘要: 枸杞子被证明具有延缓衰老、抗疲劳、抗脂肪肝以及提高免疫力的功效。作者采用四氧嘧啶建立糖尿病小鼠模型研究宁夏枸杞子水提物(LBWE)的降血糖活性, 实验中采用盐酸二甲双胍溶液(Met)作为阳性对照。结果证实, 与糖尿病模型组相比较, 连续 28 d 灌胃 LBWE, 小鼠血糖水平显著降低, 四氧嘧啶引起的小鼠体重减轻以及摄食、饮水异常症状得到显著改善。LBWE 可以抑制葡萄糖耐量试验中血糖水平的升高, 进一步证实四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠中, 宁夏枸杞子水提物具有显著的抗糖尿病的效果。此外, 4 周的 LBWE 口服, 能够显著降低血清中 MDA 水平并提高 SOD 和 GSH-Px 活性, 证明 LBWE 有助于防止与氧化压力相关的糖尿病并发症。本研究表明宁夏枸杞子水提物通过防止氧化损伤而起到降血糖作用。

关键词: 宁夏枸杞; I 型糖尿病; 降血糖; 抗氧化

中图分类号: R 966 文章编号: 1673-1689(2019)03-0091-06 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.03.013

Studies on the Hypoglycemic Activity of *Lycium barbarum* L. Water Extracts

HU Xinyu¹, LU Wenqian², SUN Xiaoqi¹, XU Hongkai², ZHANG Wei¹, ZHANG Shiqiang², KOU Ling^{*3}

(1. Faculty of Medicine, Changchun Medical College, Changchun 130013, China; 2. School of Life Sciences, Jilin University, Changchun 130012, China; 3. Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212000, China)

Abstract: *Lycium barbarum* L. plays roles in anti-aging, anti-fatigue, anti-fatty and immunity improvement. We used alloxan-induced diabetic mouse model to investigate hypoglycemic activity of *Lycium Barbarum* L. water extract (LBWE). Metformin hydrochloride solution (Met) was served as positive drug. 28-day LBWE treatment significantly reduced mouse blood glucose compared to model group. LBWE strongly improved alloxan-induced weight loss, abnormal symptoms of food and water intake. The hypoglycemic activity of LBWE was further confirmed by the inhibition of serum glucose in glucose tolerance test. Moreover, LBWE-treated mice showed low MDA and high SOD and GSH-Px activity compared to model group, suggested that LBWE prevented oxidative stress associated with diabetes complications. In conclusion, LBWE has a hypoglycemic effect by

收稿日期: 2016-03-03

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAL29B05)。

* 通信作者: 寇玲(1986—), 女, 硕士, 主治医师, 主要从事心血管病方面的研究。E-mail: kouling@ujs.edu.cn

引用本文: 胡馨予, 卢文倩, 孙晓琪, 等. 宁夏枸杞水提物对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠的降糖作用[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(03): 91-96.

preventing oxidative damage.

Keywords: *Lycium Barbarum* L., type I diabetes mellitus, hypoglycemic activity, anti-oxidant

随着人们生活水平的提高及生活方式的改变,世界上糖尿病的发病率呈逐年上升的趋势。世界上大约有3%的人患有糖尿病^[1]。糖尿病主要包括两种类型,即I型糖尿病和II型糖尿病。I型糖尿病也称胰岛素依赖型糖尿病(IDDM),占糖尿病患者的5%~10%,该种类型糖尿病是机体胰岛 β 细胞选择性损伤引起的自身免疫性疾病。遗传和环境两种因素相互作用导致免疫调节失衡, β 细胞丧失免疫耐受功能而遭受免疫攻击,不能产生胰岛素,血糖不能得到控制,最终导致一个持续的高血糖现象和糖尿病并发症的发生。I型糖尿病的典型症状是多尿、烦渴、疲劳、体重减轻、柔弱、酮酸中毒和低胰岛素浓度。I型糖尿病通常发生在孩子和年轻人身上,但可以发生在任何年龄段。I型糖尿病人必须依靠注射胰岛素才能存活^[2-3]。目前临床上用来治疗糖尿病的药物主要分为胰岛素及其类似物、胰岛素分泌促进剂、胰岛素敏感性改善因子、胰岛素样生长因子、醛糖还原酶抑制剂、 α -葡萄糖苷酶抑制剂和蛋白糖基化抑制剂,大多数药物为化学合成药物^[4-5]。而这些治疗药物或多或少存在一些缺点,包括严重的低血糖症、乳酸中毒、特殊肝细胞损伤、永久性神经损伤、消化不良、头痛、头昏眼花甚至死亡^[6]。糖尿病患者人数的增加与药物治疗带来的负效应之间存在极大的矛盾,对于医药行业来说仍然是一个巨大的挑战。近年来,许多研究者正在积极的研究传统上被用作保健品的天然药物的降血糖作用^[7]。

枸杞子之名始见于《神农本草经》,含有丰富的胡萝卜素、多种维生素和钙、铁等健康眼睛的必需营养物质。历代医家治疗肝血不足、肾阴亏虚引起的视物昏化和夜盲症,常常使用枸杞子。近代,枸杞子被证明具有延缓衰老,抗疲劳,抗脂肪肝以及提高免疫的功效。研究表明,天然植物如茶叶、当归、人参、软枣猕猴桃、枸杞等具有降血糖的作用^[8],枸杞子虽然被报道具有降血糖的活性,但仍缺乏相关的系统研究。

作者采用四氧嘧啶建立I型糖尿病小鼠模型,考察高产宁夏枸杞水提取物(LBWE)对糖尿病模型小鼠血糖水平的调节作用,并深入探讨其对血脂以

及体内氧化应激系统的影响。

1 材料与方法

1.1 原料、试剂和仪器

原料:宁夏枸杞;昆明系小鼠:雄性,体重18~22g。合格证号为SCXK-(吉)2010-0001,由长春生物制品研究所提供。

三诺安稳血糖测试仪:长沙三诺生物传感技术股份有限公司;UVMINI-1240型分光光度计:日本岛津株式会社;GENESIS SQ 25ES型冷冻干燥机:美国;SMF-320A多级闪蒸器:河南金鼎科技公司;HS-4B恒温循环水浴锅:成都仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备 将宁夏枸杞捣碎,在80℃、料液比1:80(g/mL)、提取时间3h条件下,提取3次。合并提取液,并采用多级闪蒸器浓缩。浓缩得到的提取物经冷冻干燥后置-20℃冰箱中,保存备用,使用前生理盐水溶解。

1.2.2 I型糖尿病小鼠模型的建立及药物处理 选取饮用了7d 15%葡萄糖水的小鼠(食物正常)建立糖尿病动物模型。于小鼠禁食(不禁水)16h后,腹腔注射四氧嘧啶溶液(150 mg/kg,溶于生理盐水,现用现配)。于注射后3h灌胃给予25%葡萄糖1 mL/100 g。24h后重复此过程一次。建模72h后,眼静脉丛采血,测定空腹血糖浓度,其中血糖浓度不低于11.1 mmol/L的小鼠被视为造模成功小鼠。

成功构建的糖尿病小鼠随机分为五组,每组10只,分别进行以下操作:

糖尿病模型组(Model):灌胃给予10 mL/kg生理盐水;

阳性对照组(Met):灌胃给予125 mg/kg的盐酸二甲双胍溶液(Met);

枸杞子水提取物给药组:灌胃给予枸杞子水提成分,其质量分数分别为0.1、0.3、0.9 g/kg;

随机选取正常小鼠10只,每天灌胃给予10 mL/kg生理盐水,作为空白对照组(CTRL)。

每天定时给各组小鼠给药1次,持续4周,每天记录实验动物的精神状况、毛发色泽、饮水和进

食以及实验动物排泄等一般生活状况。实验动物每周称量一次体重,末次给药后,计算给药前后小鼠体重增加情况。为确保生活环境的干净、清洁,实验动物在饲养期间需要每天换水,每隔3天更换垫料,饲养室温度和湿度分别保持在(22±1)℃和50%~65%,且无对流风,日照时间为12 h/d。

1.2.3 小鼠饮食、饮水测定 末次给药后,将小鼠分别置于代谢笼内,观察各组小鼠12 h内的饮食和饮水情况并记录。

1.2.4 糖耐量实验方法 各组小鼠连续给药28 d后,断粮12 h后,眼眶后静脉丛取血测血糖值作为初始血糖值,再灌胃给予2 g/kg葡萄糖溶液,分别于给予葡萄糖后0.5、1、2 h再次取血测定各组血糖值。观察大鼠调节血糖的能力。血糖曲线(AUC)下的面积的计算是根据公式进行:

$$AUC=(0\text{ h 血糖}+0.5\text{ h 血糖})\times 0.25+(0.5\text{ h 血糖}+1\text{ h 血糖})\times 0.25+(1\text{ h 血糖}+2\text{ h 血糖})\times 0.5$$

1.2.5 血液样本收集 糖耐量实验结束后,各组小鼠禁食(不禁水)12 h后摘眼球取血,血液静置30 min后离心分离血清(3 500 r/min,20 min),将其分装于1.5 mL的EP管中,置于-80℃冰箱保存待用。

1.2.6 血糖检测方法 依照血糖测定试剂盒说明,分别于给药0 d和28 d时测定各组小鼠空腹血糖浓度。

1.2.7 超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽超氧化物酶(GSH-Px)活性、丙二醛(MDA)浓度测定 依照试剂盒说明,测定小鼠血清中SOD、GSH-Px活性和MDA浓度,考马斯亮蓝试剂盒测定匀浆液中总蛋白质的质量分数。

1.2.8 高密度脂蛋白(HDL-C)和低密度脂蛋白(LDL-C)浓度的测定 依据试剂盒说明,测定小鼠血清LDL-C和HDL-C的浓度。

1.2.9 统计分析方法 所有试验数据均采用平均值±标准偏差(SD)表示。运用软件SPSS16.0统计分析实验数据。若 $P\leq 0.05$ 则被认为存在统计学意义上的差异,而 $P\leq 0.01$ 被认为存在非常显著的差异。

2 结果与讨论

2.1 枸杞水提取物对糖尿病大鼠体重、摄水量和摄食量的影响

实验结果表明,四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠体重增加缓慢。给药4周后,与模型组相比,Met组和

高剂量枸杞水提取物(0.9 g/kg)显著改善小鼠的生长状况,体重有明显增加($P<0.05$),见表1。在给药28 d后,观察各组摄食量和摄水量变化,与CTRL组相比,模型组小鼠消耗更多的食物和水($P<0.05$),这符合糖尿病“三多一少”的特征。与Met药效相类似,枸杞水提取物能明显减少小鼠的摄水量和摄食量,并趋于恢复正常水平($P<0.05$)。实验结果表明,枸杞具有改善糖尿病小鼠生存状况的作用,并能促进糖尿病小鼠体重恢复。

表1 各组实验动物体重增加、食物摄取及水摄取统计结果
Table 1 Results on the bodyweight gain, food intake and water intake in each experimental group

组别	剂量/(g/(kg·d))	体质量增加/g	水摄入量/mL	食物摄入量/g
空白组	-	6.78±0.047	5.98±0.79	0.85±0.21
模型组	-	1.61±0.29	9.18±1.43 ^b	1.65±0.35 ^b
阳性对照组	0.12	4.57±0.98 ^a	4.24±1.78 ^a	0.75±0.09 ^a
枸杞水提取物给药组	0.1	1.97±0.25	7.97±1.61	0.73±0.11 ^a
	0.3	2.12±0.14	7.27±1.03	0.62±0.19 ^a
	0.9	3.99±0.32 ^a	5.27±1.05 ^a	0.67±0.27 ^a

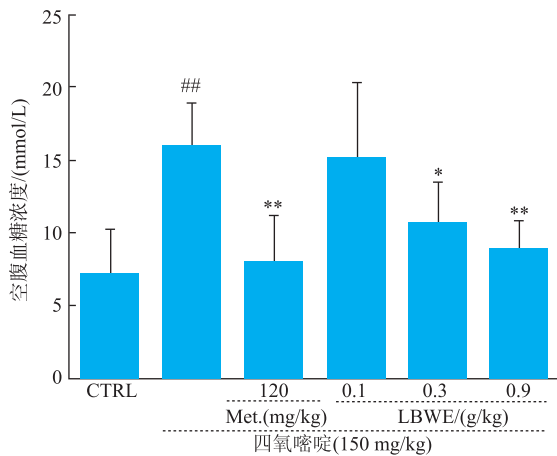
注:数据为平均值±S.D.(n=10),利用one way ANOVA进行统计学分析;a与模型组相比具有显著性($P<0.05$);b与空白组相比具有显著性($P<0.05$)。

2.2 枸杞水提取物对糖尿病小鼠血糖的影响

血糖是细胞组织能量供应的主要物质,长时间的血糖过低或过高都会诱发身体的异常。高血糖是诊断糖尿病的最直观指标。连续给药28 d后,分别于0 d和28 d测定小鼠血糖变化,第0天血糖值做为模型成功与否评判标准(结果未给出),末次给药后测定空腹血糖,模型组空腹血糖水平仍高于11.1 mmol/L,与CTRL组差异显著($P<0.01$),说明四氧嘧啶能成功建立稳定的I型糖尿病小鼠模型。与模型组相比,LBWE在0.3 g/kg和0.9 g/kg时降低了28.38%和44.29%的空腹血糖水平($P<0.01$),见图1。说明枸杞水提取物能够有效降低实验糖尿病动物的血糖水平,具有降血糖活性。

2.3 枸杞水提取物对糖尿病小鼠口服糖耐量的影响

口服糖耐量是除空腹血糖指标外,可以辅助诊断糖尿病指标。作为一种葡萄糖负荷实验,口服糖耐量用以了解胰岛β细胞功能和机体对血糖的调节能力^[9]。给药28 d后,各组动物口服2 g/kg葡萄

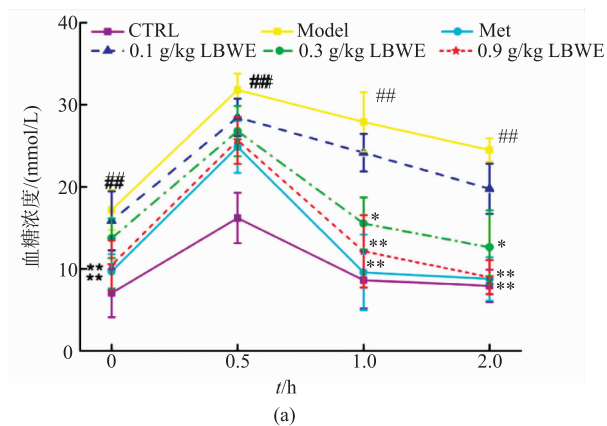


数据为平均值±S.D. (n=10), 模型组与 CTRL 组比较, ## $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

图 1 枸杞子水提取物对糖尿病小鼠空腹血糖水平的影响

Fig. 1 Effect of LBWE on fasting plasma glucose level in diabetic mouse

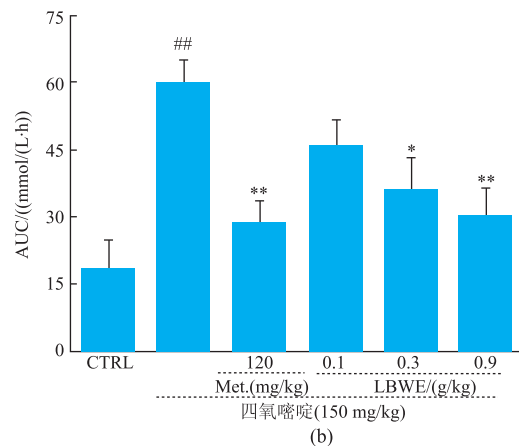
糖溶液, 2 h 内观察血糖的变化。CTRL 组小鼠在口服葡萄糖溶液后, 0.5 h 时血糖水平略有升高, 1 h 后血糖恢复至正常水平。而模型组小鼠在给予葡萄糖溶液 0.5 h 时, 血糖达到峰值 (31.81 ± 1.19) mmol/L, 2 h 时仍处于高位。各药物处理后的小鼠在给予葡



萄糖溶液后 0.5 h 均出现峰值, 但 Met 组以及 LBWE 中、高剂量组 (0.3 g/kg 和 0.9 g/kg) 在 1 h 后血糖开始向正常水平恢复。在 2 h 时, 0.9 g/kg LBWE 治疗小鼠, 其血糖水平已经恢复到 (8.99 ± 2.08) mmol/L, 见图 2(a)。AUC 结果数据与血糖水平保持一致, 见图 2(b)。以上结果显示, 枸杞提取物可改善四氧嘧啶诱导的小鼠的糖耐量情况, 表明其对外源葡萄糖导致的血糖升高有一定的调节作用。

2.4 枸杞水提取物对糖尿病小鼠血脂的影响

高血糖合并脂质代谢紊乱常在糖尿病患者中被监控到, 具体表现为高密度脂蛋白-胆固醇 (HDL-C) 降低, 低密度脂蛋白-胆固醇 (LDL-C) 水平升高^[10]。与 CTRL 小鼠相比, 四氧嘧啶诱导后, 模型小鼠血清中 HDL-C 水平上调, 而 LDL-C 浓度下降 ($P < 0.01$), 见图 3。同 Met 给药具有相似效果, 与模型组相比, LBWE 在 0.9 g/kg 时降低了 40.71% 血清中 LDL-C 浓度 ($P < 0.01$; 图 3 (a)), 并升高了 116.91% HDL-C 水平 ($P < 0.01$; 图 3(b))。结果表明, 枸杞水提取物具有与 Met 相似的效果, 可以改善糖尿病引起的血脂的异常现象, 降低糖尿病并发症的发生与发展。



数据为平均值±S.D. (n=10), 模型组与 CTRL 组比较, ## $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

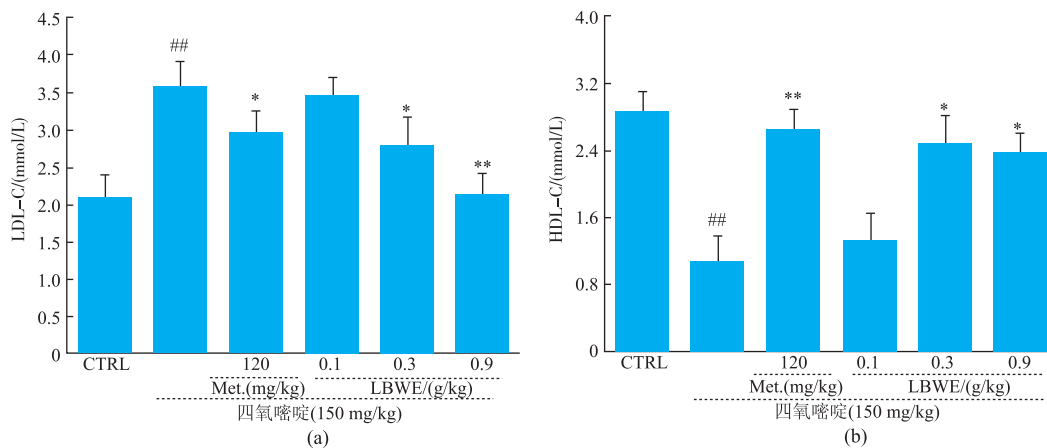
图 2 枸杞子水提取物对糖尿病小鼠口服糖耐量和 AUC 的影响

Fig. 2 Effect of LBWE on oral glucose tolerance and AUC in diabetic mouse

2.5 枸杞水提取物对糖尿病小鼠抗氧化活性的影响

氧化应激是糖尿病的并发症, 也是发病的主要病理^[11]。丙二醛 (MDA) 是膜脂过氧化最重要的产物之一。SOD 可将有害的超氧自由基转化为过氧化氢, 而谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 可以清除由活

性氧和 $\cdot\text{OH}$ 诱发的脂质过氧化物, 保护细胞膜结构和功能的完整性。与空白组小鼠相比, 四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠血清 GSH-Px 以及 SOD 含量明显减少 ($P < 0.01$), 而 MDA 含量则显著升高 ($P < 0.01$), 见图 4。说明四氧嘧啶导致糖尿病小鼠发生了脂质过氧化现象, 使得自身清除自由基的能力下降, 氧

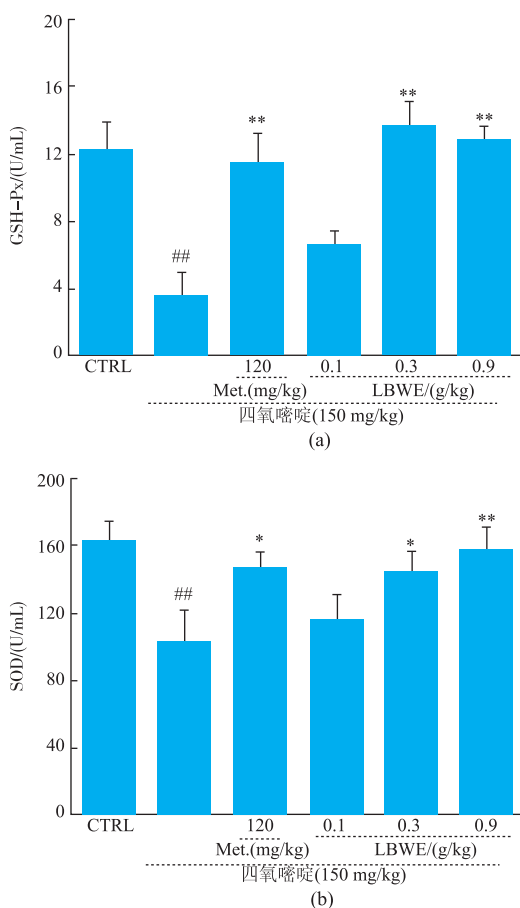


数据为平均值±S.D.(n=10),模型组与 CTRL 组比较,## P<0.01;与模型组比较,* P<0.05 ** P<0.01。

图 3 枸杞子水提取物对糖尿病小鼠血清低密度脂蛋白(LDL-C)和高密度脂蛋白(HDL-C)的影响

Fig. 3 Effect of LBWE on LDL-C and HDL-C in diabetic mouse

化应激水平升高,而各药物能不同程度的缓解这种现象。给予 4 周的 Met 和枸杞子水提取物治疗后,小鼠血清中 SOD、GSH-Px 活性均显著高于模型组,而血清中 MDA 活性明显低于模型组(P<0.05)。由比较得知,枸杞子水提取物的效果要好于 Met。现有



数据为平均值±S.D.(n=10),模型组与 CTRL 组比较,## P<0.01;与模型组比较,* P<0.05 ** P<0.01。

图 4 枸杞子水提取物对糖尿病小鼠血清 GSH-Px、SOD 和 MDA 的影响

Fig. 4 Effect of LBWE on GSH-Px,SOD and MDA in diabetic rats

实验结果证实枸杞子水提取可以改善糖尿病引起的氧化应激效应。

3 结语

作者采用四氧嘧啶诱导建立实验性糖尿病小鼠模型,对宁夏枸杞子提取物的降血糖和降血脂作用进行了研究,结果表明:

- 1) 枸杞子水提取物具有降低糖尿病模型小鼠的空腹血糖水平、改善口服葡萄糖耐量,缓解四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠体质量减少的功效;
- 2) 测定糖尿病小鼠血清 LDL-C 和 HDL-C 的

浓度,表明枸杞子水提取物可有效改善糖尿病引起的血脂的异常现象,具有降血脂活性;

3) 通过考察枸杞子提取物对血清中 SOD、GSH-Px 和 MDA 浓度的调节作用,初步分析其可能的降血糖机制。结果表明,枸杞子水提取物可能通过改善氧化应激,减少胰岛细胞的氧化损伤而起到降血糖作用。

根据文献报道称,植物中具有多种化学成分,其中多糖类、黄酮类、生物碱类、皂苷类、多肽类、多酚类以及不饱和脂肪酸等具有一定程度的降血糖活性。大部分的降糖药用菌的活性成分是多糖类。多糖可以通过影响胰岛素及其受体、升糖激素和糖原等起效^[12-13]。在日后研究中,将进一步对于枸杞子中纯化多糖降血糖活性进行探讨。

参考文献:

- [1] LUO C, ZHANG W N, SHENG C Q, et al. Chemical composition and antidiabetic activity of *Opuntia milpa alta* extracts[J]. **Chemistry & Biodiversity**, 2010, 7(12): 2869-2879.
- [2] DEUTSCHLANDER M S, LALL N, VAN DE VENTER M, et al. Hypoglycemic evaluation of a new triterpene and other compounds isolated from *Euclea undulata* Thunb. var. *myrina* (Ebenaceae) root bark[J]. **Journal of Ethnopharmacology**, 2011, 133: 1091-1095.
- [3] SHEN Ziling, ZHANG neng, YU Huarong. The prevention and mechanism of 1,25-dihydroxyvitamin D3 to type 1 diabetes induced by streptozotocin in KM mice through regulating Bax and Bcl-xL protein expression[J]. **Journal of Chengdu Medical College**, 2006, 1(2): 91-95. (in Chinese)
- [4] HAMDEN K, JAOUADI B, ZARAI N, et al. Inhibitory effects of estrogens on digestive enzymes, insulin deficiency, and pancreas toxicity in diabetic rats[J]. **Journal of Physiology and Biochemistry**, 2011, 67: 121-128.
- [5] 郑梅琴. 抗糖尿病药物筛选模型的建立及应用[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2006.
- [6] PRABHAKAR P K, DOBLE M. Mechanism of action of natural products used in the treatment of diabetes mellitus[J]. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, 2011, 17(8): 563-574.
- [7] YANG B K, JUNG Y S, SONG C H. Hypoglycemic effects of *Ganoderma applanatum* and *Collybia confluens* exo-polymers in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. **Phytotherapy Research**, 2007, 21: 1066-1069.
- [8] LIU Yanji, LIU Jinfeng, TIAN Xiaoyan, et al. Polysaccharide of *Actinidia arguta* and activity of blood glucose and lipid of decline [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(1): 86-89. (in Chinese)
- [9] PARK J H, PARK N S, LEE S M, et al. Effect of dongchunghacho rice on blood glucose level, lipid profile, and antioxidant metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. **Food Science and Biotechnology**, 2011, 20(4): 933-940.
- [10] ADEWOLE S, ADENOWO T, NAICKER T, et al. Hypoglycaemic and hypotensive effects of *Ficus exasperata* vahl. (moraceae) leaf aqueous extract in rats[J]. **African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines**, 2011, 8(3): 275-283.
- [11] WANG B S, LEE C P, CHEN Z T, et al. Comparison of the hepatoprotective activity between cultured *Cordyceps militaris* and natural *Cordyceps sinensis*[J]. **Journal of Functional Foods**, 2012, 4(2): 489-495.
- [12] YANG Shaobo, ZHANG Qian, WANG Juan. Research advances in natural food resources with hypoglycemic effects and their mechanism[J]. **Food Research and Development**, 2012, 33(4): 211-215. (in Chinese)
- [13] WU Qingping, XIAO Chun, YANG Xiaobing, et al. Food (medical) use bacteria polysaccharide material down-regulate blood sugar function and its mechanism[J]. **Acta Edulis Fungi**, 2009, 16(3): 80-86. (in Chinese)