

芜菁正丁醇提取物对四氧嘧啶型糖尿病小鼠血糖的影响

姚星辰, 陈湘宏, 段雅彬, 李向阳*

青海大学医学院, 西宁 810001

摘要: 为研究芜菁正丁醇提取物对四氧嘧啶糖尿病模型小鼠的降血糖作用, 对小鼠禁食不禁水 24 h 后, 腹腔注射四氧嘧啶溶液(160 mg/kg), 60 h 后再禁食不禁水 12 h, 剪尾尖取血, 测血糖值, 将血糖值大于 11.1 mmol/L 的小鼠为实验性糖尿病模型; 实验保留 10 只空白对照, 取符合实验模型的小鼠随机分为模型、阳性(海堤参芪丸对照组 225 mg/kg)和芜菁正丁醇提取物低、高剂量(20, 40 g/kg)组, 每天灌胃给药 1 次, 连续 14 d。实验期间分别于复制模型前、后, 用药 7、14 d 后, 剪尾取血检测血糖; 末次给药结束时, 小鼠摘眼球取血, 分离血清测定超氧化物歧化酶(SOD)活力和丙二醛(MDA)含量。结果显示用药 7、14 d 后芜菁正丁醇提取物组与模型组比较, 小鼠血糖值显著降低($P < 0.01$); SOD 活性显著增强($P < 0.01$); MDA 含量显著降低($P < 0.01$)。通过研究表明高原植物芜菁对四氧嘧啶性糖尿病模型小鼠有明显的降血糖和抗氧化作用。

关键词: 芜菁; 降血糖; 四氧嘧啶; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

中图分类号: R965.1

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.04.029

Effect of N-Butanol Extract of *Brassica rapa* on Blood Glucose Level of Alloxan-induced Diabetic Mice

YAO Xing-chen, CHEN Xiang-hong, DUAN Ya-bin, LI Xiang-yang*

Medical College of Qinghai University, Xining 810001, China

Abstract: The hypoglycemic effect of n-butanol extract of *Brassica rapa* on alloxan diabetic mice was explored. The mice were fasted for help but water after 24h, and the model of diabetic mice was built by peritoneal injection of alloxan solution 160 mg/kg, 60 h and then fasted for another 12 h. When the blood glucose level was greater than 11.1 mmol/L (fasting blood glucose in tail vein), the mice model was defined as a successful experimental model. Ten blanks were reserved as control group, all the model mice were randomly divided into model group, n-butanol extract components low and high dose (20, 40 g/kg) group and positive control group (HETTY HERBR DIET- β II 225 mg/kg), which were perfused one time per day for 14 days. During the experimental period, the blood glucose level was measured by cutting tail before or after building the models, and medication after 7, 14 days. After the experiment, mice eyeball blood serum was collected and separated, the activity of SOD and content of MDA were determined. The results showed that compared with the model group, mice blood glucose levels decreased significantly after administering 7, 14 d of *B. rapa* n-butanol extract ($P < 0.01$); SOD activity significantly enhanced ($P < 0.01$); MDA content decreased significantly ($P < 0.01$). These results indicated that *B. rapa* n-butanol extract can significantly decrease blood glucose level. It showed antioxidant activity in diabetic mice induced by alloxan.

Key words: *Brassica rapa*; hypoglycemic; alloxan; SOD; MDA

随着经济发展, 人民生活水平不断提高, 社会老龄化日趋严重, 糖尿病及其并发症在中老年人群中的发生率日益增高。糖尿病(DM), 是机体胰岛素分泌缺陷及胰岛素作用不足所导致的代谢紊乱综合

征^[1]。其临床表现是长期的高血糖, 如果患者血糖和胰岛功能得不到及时控制和恢复, 则会引起多脏器的慢性损害、功能减退和衰竭, 进而危及生命。目前临床上对糖尿病的治疗常采用胰岛素和化学合成口服降糖药物, 这种单一降糖不仅无法阻止并发症的出现和加重, 且存在诸多不良反应导致死亡率增高; 因此学术界都在研究和开发疗效更佳毒副作用小, 具备改善血管、促进代谢、激活免疫等综合功能

收稿日期: 2014-04-22 接受日期: 2014-07-21

基金项目: 教育部“春晖计划”(Z2011008); 青海省自然科学基金(2013-Z-909)

* 通讯作者 Tel: 86-971-5362082; E-mail: qhmclxy@163.com

的天然降血糖药物^[2]。而高原药食两用植物芜菁是天然产物,研究其降血糖作用具有深远的意义和应用价值。芜菁(*Brassica rapa* L.)又名恰玛古、莞根、圆根、莞根,为十字花科芸苔属植物,二年生草本^[3],块根肉质,生长在海拔3800 m以上,并具有较长使用历史的传统蔬菜之一^[4]。研究表明芜菁除食用外,还具有止咳、平喘、缓解食欲不振、抑菌、抗衰老、抗辐射等多种药理活性。但其活性成分提取物在血糖方面的研究报道鲜见。本研究旨在探讨高原植物芜菁的降血糖作用,为芜菁在医药保健领域中的应用提供科学理论基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

瑞特 GM300 血糖测定仪;血糖试纸(型号:艾科·精益,制造商:杭州艾康生物技术有限公司,批号:391141);UV-2550 型紫外分光光度计(美国 LabTech 公司);pHS-25 型数显酸度计(上海精科雷磁);TGL-16 B 型高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂);MK3 酶标仪(芬兰雷勃公司);中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);DK-2000-III L 型电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司);SHZ-III 型循环水真空泵(上海亚荣生化仪器厂);RE-52AA 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);FDU-1100 型冷冻干燥箱(上海爱朗仪器有限公司)。

1.2 药物试剂

芜菁购自青海省玉树州称多县,经青海大学医学院中药教研室鉴定为真品;四氧嘧啶(Alloxan,美国 Sigma 公司);海堤参芪丸 II(美国海堤公司生产,美国海堤国际糖尿病协会会员专供);超氧化物歧化酶(SOD,批号:20140104)、丙二醛(MDA,批号:20140108)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;其余试剂均为分析纯(国药集团)。

1.3 动物

SPF 级昆明种小鼠共 80 只,雄性,质量 20 ~ 22 g,购自甘肃中医学院,合格证号:SCXK(甘)2011-0001。分笼饲养,室温 20 ~ 25 °C,湿度 50% ~ 60%,喂以标准饲料,自由饮水。

2 实验方法

2.1 芜菁药用部位提取

取芜菁块根适量,挑选除去沙石等杂质,自来水清洗晒干、粉碎得芜菁晒干粉,用正丁醇以料液比 1

:30(m/v),95 °C 提取 1 h,连续 3 次,合并滤液,0.075 Mpa 减压浓缩至浸膏冷冻干燥回收干粉,配成质量浓度为 1 g/mL 的水溶液后避光 4 °C 低温保存,备用。

2.2 糖尿病模型的复制^[4-7]

取小鼠 80 只,自由进食标准饲料,适应性饲养 3d,随机分出 10 只为空白组,其余小鼠禁食 24 h 后,腹腔注射四氧嘧啶 160 mg/kg,pH 值为 4.5 柠檬酸缓冲液溶液,连续注射 2d,空白组腹腔注射等容积生理盐水,60 h 后再禁食 12 h,剪尾尖取血,血糖仪测定空腹血糖值,选择血糖 ≥ 11.1 mmol/L 为成功模型纳入实验^[8,9]。

2.3 分组与给药

保留空白组 10 只小鼠,选择符合模型标准的造模组小鼠 40 只,随机分为模型组、海堤参芪丸 II 对照组(225 mg/kg)和芜菁正丁醇提取物高、低剂量(40、20 g/kg)组。每天灌胃给药 1 次,连续 14 d。

2.4 相关指标检测

实验期间于复制模型前、后、用药 7、14 d 后,剪尾采血检测血糖。末次给药结束后,小鼠摘眼球取血至离心管常温下静置 10 min,5 °C、3 000 rpm 离心 15 min,分离血清,测定 SOD 和 MDA 水平,检测方法均按试剂盒说明书进行。

2.5 统计分析

实验数据均用 SPSS 17.0 软件进行统计处理,各项指标均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多样本均数比较采用 one-way ANOVA 或 Kruskal-Wallis H 检验,检验水准为 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 有显著性差异。

3 实验结果

3.1 一般观察

正常组小鼠生长及活动情况正常,被毛浓密有光泽。造模成功后动物出现精神萎靡、活动减少,被毛蓬松无光泽,呈现明显多食、多饮、多尿、体重增加缓慢甚至有减轻等糖尿病所特有的“三多一少”症状。但服用芜菁提取物后,海堤参芪丸 II 处理组、芜菁提取物实验组上述症状得到明显的缓解,精神状态良好。

3.2 芜菁正丁醇提取物对糖尿病小鼠体重的影响

体重采用重复测量数据的两因素多水平分析,不同组别存在组间差异($P < 0.01$),体重在不同组别下不同给药时间变化趋势不同。造模后,模型组及给药组小鼠体重明显升高,有显著性差异($P <$

0.01);用芫菁提取物3 d后,与模型组比较,小鼠体重有一定的降低,但无显著性差异,给药7 d、14 d

后,各组小鼠体重变化有回升趋势,表明芫菁提取物能够有效缓解糖尿病小鼠消瘦症状。见表1。

表1 芫菁正丁醇提取物对糖尿病小鼠动物体重的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of n-butanol extract of *B. rapa* on the weight of diabetic mice($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	体重 Weight(g)				
		造模前 Before building the model	造模后 After building the model	用药后3d After administering for 3d	用药后7d After administering for 7d	用药后14d After administering for 14d
空白对照 Control	-	22.73 ± 1.98	26.58 ± 2.57	31.33 ± 1.94	31.14 ± 3.32	31.97 ± 2.21
模型 Model	-	22.71 ± 1.54	29.31 ± 1.24	27.57 ± 2.22	24.77 ± 1.14	26.56 ± 1.82
阳性组 Positive	0.225	22.15 ± 2.38	29.68 ± 1.15	28.79 ± 2.14	30.89 ± 3.14	30.38 ± 3.13
正丁醇 N-butanol	20	22.07 ± 2.99	27.68 ± 1.33	26.70 ± 2.43	27.80 ± 2.84	30.33 ± 2.43
	40	22.10 ± 3.31	27.99 ± 2.89	27.12 ± 1.91	28.71 ± 2.76	30.19 ± 2.38

3.3 芫菁正丁醇提取物对糖尿病小鼠血糖的影响

与空白对照组比较,模型组在复制模型后、用药7 d、14 d后血糖值显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,芫菁正丁醇提取物高、低剂量组小鼠在用药7

d、14 d后血糖值显著降低($P < 0.01$)。与造模后当天比较,用药7 d、14 d后,小鼠血糖显著下降($P < 0.05$)。见表2。

表2 芫菁正丁醇提取物对模型小鼠血糖的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of n-butanol extract of *B. rapa* on the blood glucose level of diabetic mice($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	n	剂量 Dose (g/kg)	血糖值 Blood glucose (mmol/L)			
			造模前 Before building the model	造模后 After building the model	用药后7d After administering for 7d	用药后14d After administering for 14d
空白对照 Control	10	-	3.79 ± 1.46	3.96 ± 1.78	3.38 ± 1.76	3.44 ± 1.80
模型组 Model	10	-	4.74 ± 1.88	22.86 ± 5.26*	21.26 ± 3.77*	20.07 ± 3.03* ^a
阳性组 Positive	10	0.225	3.95 ± 1.73	19.21 ± 6.58**	14.80 ± 8.65*** ^a	13.80 ± 8.32*** ^a
正丁醇 N-butanol	10	20	4.21 ± 1.72	18.64 ± 5.20**	9.60 ± 7.47*** ^a	9.74 ± 7.88*** ^a
	10	40	3.69 ± 0.99	17.77 ± 3.82**	12.11 ± 7.23*** ^a	9.15 ± 6.63*** ^a

注:与空白组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,** $P < 0.01$;与造模后比较,^a $P < 0.05$ 。

Note: Compare with control, * $P < 0.01$; Compare with model, ** $P < 0.01$; Compare with After building the model, ^a $P < 0.05$.

3.4 芫菁正丁醇提取物对模型小鼠血清SOD活性和MDA含量的影响

与空白对照组比较,模型组小鼠血清SOD活性显著降低,MDA含量显著增加($P < 0.01$)。与模型

组比较,芫菁正丁醇提取物组小鼠血清SOD活性显著增高($P < 0.01$),小鼠血清MDA含量显著减少($P < 0.01$),芫菁正丁醇提取物高剂量组抗氧化作用优于低剂量组,但没有显著性差异。见表3。

表3 芫菁正丁醇提取物对模型小鼠血清SOD活性和MDA含量的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of n-butanol extract of *B. rapa* on the activity of SOD and content of MDA in serum of diabetic mice($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	n	剂量 Dose (g/kg)	SOD (U/mg)	MDA (nmol/mg)
空白对照 Control	10	-	0.398 ± 0.063	0.049 ± 0.036
模型组 Model	10	-	0.243 ± 0.020*	0.105 ± 0.011*
阳性组 Positive	10	0.225	0.355 ± 0.068**	0.059 ± 0.054**
正丁醇 N-butanol	10	20	0.303 ± 0.058**	0.065 ± 0.006**
	10	40	0.333 ± 0.095**	0.058 ± 0.006**

注:与空白组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,** $P < 0.01$ 。

Note: Compare with control, * $P < 0.01$; Compare with model, ** $P < 0.01$.

4 讨论

实验中采用小鼠禁食 24 h, 并用 pH 值为 4.5 柠檬酸缓冲液溶解的 160 mg/kg 四氧嘧啶腹腔注射, 获得成模率较高、死亡率较低、血糖较持续稳定的糖尿病小鼠模型^[6]。四氧嘧啶对 β 细胞有特异性毒性作用, 它可选择性地损坏多种动物的胰岛细胞而引起实验糖尿病。其机理认为是其游离超氧自由基能氧化 β 细胞的 DNA 单链, 使染色体发生异常, 引起细胞畸变, 它还能抑制 β 细胞的多种代谢, 增强其细胞膜的通透性而破坏 β 细胞。因此, 该模型是研究糖尿病治疗药物疗效的常用动物模型^[10,11]。复制模型前, 小鼠皮毛光滑, 活动自如, 饮水食量及大小便正常; 造模后属糖尿病初发过程始终伴随着体重的变化, 随着体重的增加, 胰岛素敏感性逐渐下降, 胰岛素分泌逐渐下降, 血糖逐渐升高, 达到一定程度出现尿糖; 随着尿糖的增多, 小鼠出现精神萎靡、形体消瘦、多食、多饮多尿等症状, 提示模型复制成功与文献报道相似^[12]。给药后, 各用药组小鼠状态较模型组有显著改善, 表明芫菁正丁醇提取物对实验性糖尿病模型具有较理想的降糖效应, 对小鼠糖尿病症状有一定改善作用。经生化指标检测显示, 与模型组比较, 各用药组小鼠血清 MDA 含量均显著减少 ($P < 0.01$), SOD 活力显著增加 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。模型组血糖变化与氧化应激水平较正常组显著升高, 且两者有显著相关性, 提示芫菁正丁醇提取物具有降血糖、抗氧化的作用。其作用机制可能与抗氧化, 减轻 Alloxan 对胰岛 β 细胞的损伤或促进已损伤的 β 细胞的修复和清除体内自由基有关; 同时提示血糖变化可能在糖尿病氧化应激的发病机制中起重要作用^[13-15]。本研究通过芫菁正丁醇提取物对糖尿病模型小鼠的降血糖作用及氧化应激水平研究, 为深入研究高原植物芫菁在医药保健领域中的应用提供了平台, 对进一步开发高原藏药资源意义重大。

参考文献

- Nan Z(南征), Gao YB(高彦彬), Qian QH(钱秋海). Integrated medicine comprehensive of treatment for diabetic mellitus (糖尿病中西医结合治疗). Beijing: People's Medical Publishing House, 2004. 1
- Xu Y, Ding H. Hypoglycemic effects of *Angelica sinensis* polysaccharide on alloxan diabetic mice. *China Pharmacist*,

- 2004, 7: 880-881.
- Peng T (彭彤), Liang H (梁慧), Guo YR (郭亦然), et al. Analysis on the volatile oils from *Brassica rapa* L. by GC-MS. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2009, 20: 3000-3002.
- Zhang T (张涛), Tian WZ (田为真), Mi SW (米世伟), et al. Preliminary probe on antiasthmatic and antitussive effects of Qamgur extract. *J Xinjiang Med Univ* (新疆医科大学学报), 2009, 32: 1237-1239.
- Fan ZQ (樊志奇), Yang Y (杨勇), Rong R (容蓉), et al. To study the influencing factors for establishing reliable diabetes model in mice by injecting alloxan. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2010, 21: 1948-1949.
- Yang MH (杨明华), Yang SB (杨苏蓓), Chai KF (柴可夫), et al. Optimization of experimental conditions for establish a diabetes mice model induced by alloxan. *Pharm Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2007, 23: 213-216.
- Xi QL (奚清丽), Zhou W (周伟). An optimization of fitting together the experimental conditions for establishing a diabetes mice model induced by alloxan. *Jiangsu J Prev Med* (江苏预防医学), 2011, 22(4): 18-19.
- Zhu Y (朱愉). Disease model of experimental animal (实验动物的疾病模型). Tianjin: Technology Translation Publishing House, 1997: 252.
- Yuan AH (原爱红), Huang Z (黄哲), Ma J (马骏), et al. Effect of flavonoids from mulberry leaves extracted and its descending glucose in diabetic mice. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35: 1242-1243.
- Yang RJ (杨润军), Li QW (李青旺), Zhao R (赵蕊). Comparison between the effects of alloxan and streptozotocin on inducing diabetes in mice. *J Northwest Sci-Tech Univ of Agric Forest, Nat Sci* (西北农林科技大学学报, 自科版), 2006, 34(2): 17-19.
- Xu SY (徐叔云), Chen X (陈修), Bian RL (卞如濂). Methodology of Pharmacological Experiment (药理实验方法学), Beijing: People's Medical Publishing House, 2002. 15-17.
- Li YP (李玉萍), Liu ZY (刘志勇), Xie GX (谢国秀), et al. Hypoglycemic effect of polysaccharide from *Portulaca oleracea* on alloxan-induced diabetic mice. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2008, 5: 813-815.
- Peng CS (彭朝胜), Cao YA (曹悦鞍), Ding HY (丁海燕), et al. The relationship between oxidative stress and blood glucose fluctuation in well-controlled patients with type 2 diabetes mellitus. *J Nav Gene Hosp* (海军总医院学报), 2011, 24: 156-158.