

甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠的降血糖作用研究

田翠平, 瞿伟菁, 孙 斌, 李明娟, 汪 虹, 黄晓青

(华东师范大学生命科学学院, 上海 200062)

【摘要】目的: 研究甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠的降血糖效果及其降糖机制。 **方法:** 腹腔注射 STZ 制备糖尿病大鼠模型, 取成型的大鼠随机分阳性对照组、甜茶素提取物组和降糖灵组。同时设一正常组。灌胃 3 w 后, 测血糖、果糖胺、胰岛素和 SOD 等指标。 **结果:** 甜茶素提取物能极显著地降低 STZ 致高血糖大鼠血糖, 增强其抗氧化能力, 同时能刺激胰岛素的分泌。 **结论:** 甜茶素提取物通过刺激胰岛素的分泌来降低血糖。

关键词: 甜茶素; 链脲佐菌素; 高血糖大鼠; 胰岛素

中图分类号: R151.41 **文献标识码:**A **文章编号:** 0512-7955(2003)01-0029-05

甜茶(*Rubus Suavissimus* S. Lee)是蔷薇科悬钩子属的一种落叶有刺灌木, 为我国广西特产植物。广西民间以甜茶叶代茶饮用, 谓有清热止渴、补肾、降血压和治疗糖尿病等功效, 特别是糖尿病患者长期饮用会收到良好效果。甜茶甜味的主要成分为甜茶素, 又名悬钩子甙(rubusoside)是斯替维醇和葡萄糖结合而成的二萜甙^[1,2]。有关甜茶素对糖代谢影响的前期研究表明^[3]: 甜茶素能降低正常小鼠血糖水平, 降糖率为 18.47%; 其对小鼠糖异生具有明显的抑制作用, 并具有一定的降血脂和抗氧化作用。本研究在此基础上, 进一步研究甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠血糖、血脂代谢的影响, 并对其作用机制进行初步探讨。

1 材料方法

1.1 材料

1.1.1 药物: 甜茶(*Rubus Suavissimus* S. Lee)浸膏, 由广西金秀县香料有限公司惠赠。

1.1.2 动物: 雄性昆明种小鼠, 体重为(35.40±2.79)g; 雄性 SD 大鼠, 体重(214.38±26.02)g(购于上海医科大学动物饲养室, 合格证号: 医动字第

02-22-1)。

1.1.3 药品: 链脲佐菌素(streptozotocin, STZ, Sigma 公司产品), 降糖灵片(盐酸苯乙双胍片, 南通制药总厂产品); 血清葡萄糖、甘油三酯、胆固醇的酶法测定试剂盒和果糖胺测定试剂盒购自上海科欣生物技术研究所; SOD、NO 合酶(NOS)、NO、乳酸(LD)、乳酸脱氢酶和 MDA 的酶法测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所; 胰岛素免疫放射试剂盒购自上海生物制品研究所。

1.1.4 仪器: 721 光栅分光光度计、WH-85 型漩涡混合机、高速台式离心机、RE-52 型旋转蒸发器、恒温水浴锅和台式冰冻离心机。

1.2 方法

1.2.1 甜茶素提取物的提取: (本实验室制备)取甜茶浸膏, 加 95%乙醇, 静止后离心, 弃沉淀。上清液浓缩后, 用 servage 液(氯仿: 正丁醇=4:1)除蛋白。最后浓缩后置 70℃恒温箱烘干, 即得甜茶素提取物。

1.2.2 甜茶素有效剂量的筛选: 正常雄性昆明种小鼠禁食 10 h 后, 按 190 mg/kg 剂量腹腔注射 pH 4.5 的柠檬酸缓冲液配制的 STZ 溶液。96 h 后, 尾静脉采血, 测定禁食 6 h 后的空腹血糖值, 取血糖值大于 15.00 mmol/L 的小鼠为成型糖尿病小鼠。成型糖尿病小鼠随机分为 4 组, 每组 8 只, 设为高、中、低剂量组和糖尿病对照组, 组间血糖差异小于 1.5

收稿日期: 2002-09-23

基金项目: 上海市科技发展基金资助项目(No. 003912074)

作者简介: 田翠平(1976—), 女, 硕士

mmol/L,同时设一组正常对照组。高、中和低剂量组分别按 300、200、100 mg/(kg·d)的剂量灌胃甜茶素提取物,连续灌胃 2 w,每周测一次血糖。根据降血糖效果及体重变化,选择最有效剂量。

1.2.3 STZ 大鼠模型的构建及分组: 正常雄性 SD 大鼠禁食 10 h 后,按 60 mg/kg 剂量腹腔注射 pH 4.5 的柠檬酸缓冲液配制的 STZ 溶液。96 h 后,尾静脉采血,测定禁食 6 h 后的空腹血糖值,取血糖值大于 15.00 mmol/L 的大鼠为成型糖尿病大鼠。成型糖尿病大鼠随机分为阳性对照组、降糖灵治疗组和甜茶素提取物组,组间血糖差异小于 0.6 mmol/L;同时设一组正常对照组。阳性对照组和正常组灌胃生理盐水,降糖灵治疗组按 100 mg/(kg·d)灌胃,甜茶素提取物组按 300 mg/(kg·d)剂量灌胃。连续 3 w,每周测血糖一次,3 w 后处死测血清和肝脏各指标。

1.2.4 指标测定: 血清葡萄糖、甘油三酯、胆固醇、果糖胺、NO、NOS、SOD、LD、和乳酸脱氢酶(LDH)按试剂盒测定。胰岛素测定由上海第一人民医院完成。蒽酮硫酸法测肝糖原含量^[4]。所有数据经统计学处理用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异经 *t* 检验。

2 结果与分析

2.1 甜茶素提取物有效剂量的筛选

甜茶素提取物高、中、低即 300、200、100 mg/(kg·d)三种剂量对 STZ 致高血糖小鼠的降血糖效果及对小鼠体重变化的影响见表 1 和图 1。

Table 1 Effect of rubusoside on serum glucose concentration in diabetic mice (*n* = 8)

Group	Initial serum glucose (mmol/L)	After one week		After two weeks	
		Serum glucose	Decrease rate (%)	Serum glucose	Decrease rate (%)
Normal	8.47 ± 1.39	7.87 ± 1.11		8.30 ± 0.99	
Control	26.09 ± 4.00	24.67 ± 5.97		25.78 ± 3.13	
High dose	24.73 ± 5.01	19.50 ± 3.89 ^a	21.14	19.03 ± 4.89 ^b	26.18
Medium dose	24.87 ± 5.07	20.51 ± 4.90	20.51	21.72 ± 3.59 ^a	15.75
Low dose	26.00 ± 5.13	21.91 ± 1.75	15.73	23.62 ± 2.83	8.36

^a*P* < 0.05, ^b*P* < 0.01 compared with control

表 1 显示:低剂量甜茶素提取物不能显著地降血糖。高剂量能显著降血糖,中剂量降血糖效果不如高剂量显著,而且,体重减轻幅度比高剂量组大(图

1)。因此确定甜茶素提取物高剂量即 300 mg/(kg·d)为有效降血糖剂量。

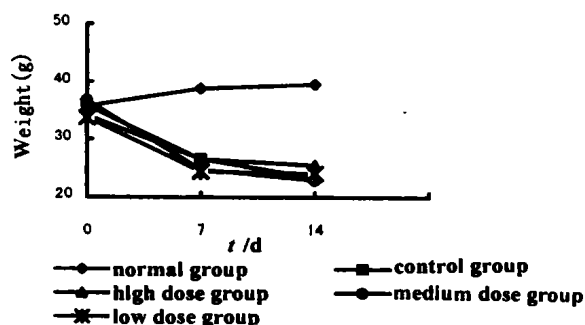


Fig. 1 Effect of rubusoside on body weight in diabetic rats

2.2 甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠血清葡萄糖的影响

根据 STZ 致高血糖小鼠实验,我们确定了甜茶素提取物的有效剂量。按此剂量,我们另行实验,对 STZ 致 SD 大鼠高血糖的影响进行了灌胃试验,结果显示(表 2):灌胃 1 w、2 w 和 3 w 后,甜茶素提取物组大鼠的血糖值都极显著地低于阳性对照组,降糖幅度分别为 23.02%、19.74% 和 27.06%。提示灌胃 300 mg/(kg·d)的甜茶素提取物具有有效的降血糖效果。而降糖灵为一种对 II 型糖尿病具有辅助治疗效果的药物,因此对 STZ 致高血糖大鼠的降血糖效果并不显著。

Table 2 Effect of rubusoside on serum glucose concentration in diabetic rats induced by STZ (*n* = 8)

Group	Serum glucose (mmol/L)			
	Initial	One week	Two weeks	Three weeks
Control	25.62 ± 3.50	26.69 ± 2.00	26.95 ± 3.36	25.60 ± 1.50
Normal	5.56 ± 0.38	5.47 ± 0.17	7.16 ± 1.07	5.60 ± 0.34
Phenformin	25.03 ± 2.97	26.79 ± 3.76	27.07 ± 6.95	23.60 ± 8.78
Rubusoside	25.20 ± 1.71	20.55 ± 5.32 ^b	21.63 ± 3.77 ^b	18.67 ± 5.43 ^b

^b*P* < 0.01 compared with control

2.3 甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠血脂代谢的影响

血清甘油三酯和胆固醇是反映脂肪代谢的常用综合性生化指标。表 3 结果显示:与对照组相比,甜茶素提取物能明显地降低血浆胆固醇含量,对血浆甘油三酯也有一定的降低作用,提示甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠具有降血脂作用。并与降糖灵

调节血脂代谢的作用无显著差异。

Table 3 Effect of rubusoside on serum triglyceride, cholesterol in diabetic rats ($n=8$)

Group	Serum triglyceride (mmol/L)	Serum cholesterol (mmol/L)
Control	0.93±0.45	1.78±0.24
Normal	0.81±0.16	1.25±0.28
Phenformin	0.92±0.06	1.43±0.28 ^a
Rubusoside	0.77±0.06	1.43±0.27 ^a

^a $P<0.05$ compared with control

2.4 甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠果糖胺含量的影响

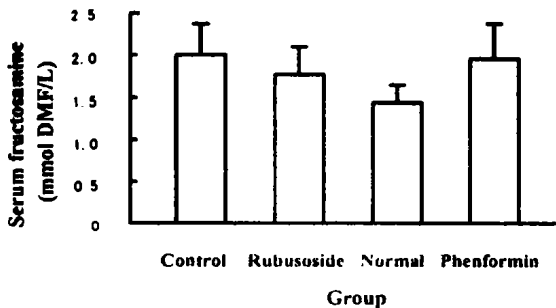


Fig. 2 Effect of rubusoside on serum fructosamine in diabetic rats

蛋白在高糖环境中会发生非酶促糖基化反应,糖化血浆蛋白的含量可反映 3 w 的血糖水平;果糖胺是血浆中葡萄糖与蛋白质形成的酮胺物,其含量可反映血浆中糖化血浆蛋白的水平^[5]。进一步分析了受试大鼠的果糖胺表明(图 2),甜茶素组血浆果糖胺低于阳性对照组,虽然与阳性对照组相比无统计学意义($P>0.05$),但仍可见甜茶素组血浆果糖胺水平存在下降的趋势,提示甜茶素提取物控制高血糖的稳定性的最佳浓度尚待进一步探寻。

2.5 甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠血清乳酸脱氢酶(LDH)活性、LD 及肝糖原含量的影响

Table 4 Effect of rubusoside on LD, LDH of serum and liver glycogen in diabetic rats ($n=8$)

Group	LD (mmol/L)	LDH (U/L)	Liver glycogen (g/100g)
Control	6.49±0.72	4303.03±104.97	1.16±0.18
Normal	6.15±0.42	3563.64±358.14	1.66±0.14
Phenformin	6.91±1.37	4460.29±300.50	1.55±0.30 ^b
Rubusoside	7.01±0.91	4236.36±601.61	1.35±0.15

^b $P<0.01$ compared with control

表 4 结果显示:甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠血清 LD 含量和 LDH 的活性没有明显的影响,同时对肝糖原也无明显的影响。提示甜茶素提取物

并未通过加强葡萄糖的无氧代谢和增加肝糖原含量来降低血糖。降糖灵组大鼠肝糖原含量极显著高于阳性对照组,这与降糖灵通过增加肝糖原含量来降血糖的机制正好相符合。

2.6 甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠血浆 NO 和 NOS 的影响

Table 5 Effect of rubusoside on serum NO and NOS in diabetic rats ($n=8$)

Group	Serum NO (μ mol/L)	Serum NOS (U/ml)
Control	22.22±4.81	31.64±2.48
Normal	21.30±3.30	26.75±1.95
Phenformin	18.02±0.54	30.95±4.26
Rubusoside	19.67±3.11	30.32±2.91

近年研究证实,细胞因子引起诱导型一氧化氮合酶(iNOS)表达,进而过度生成 NO,而 NO 在介导胰腺破坏性效应中起重要作用^[6]。表 5 显示,灌胃甜茶素 3 w 后,血浆 NO 含量和 NOS 活性与阳性对照组相比,均无显著性差异,但有降低的趋势,因此,甜茶素提取物对 NOS-NO 体系是否具有改善作用还需进一步研究。

2.7 甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠血浆和组织 SOD 活性的影响

Table 6 Effect of rubusoside on SOD of serum and tissue in diabetic rats ($n=8$)

Group	Serum SOD (U/L)	Liver SOD (NU/mg Prot)	Pancrea SOD (NU/mg Prot)
Control	125.59±12.47	121.83±7.91	140.34±11.60
Normal	131.78±24.60	134.78±8.08	159.09±20.22
Phenformin	142.51±20.14	137.39±18.52 ^a	172.57±24.74 ^b
Rubusoside	143.04±24.13	142.27±19.02 ^a	145.67±21.13

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ compared with control

SOD 对机体的氧化与抗氧化平衡起着重要的作用,能清除超氧阴离子自由基,保护细胞免受损伤。表 6 显示,与阳性对照组相比,甜茶素组血浆 SOD 活性无显著性差异,但有上升的趋势;肝脏 SOD 的活性与阳性对照组相比显著升高。提示甜茶素提取物灌胃 3 w 后对 STZ 致高血糖大鼠清除自由基,降低糖尿病大鼠的氧化损伤具有一定的增强作用。

2.8 甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠胰岛素分泌的影响

如图 3 所示,阳性对照组胰岛素含量为 36.07±3.62(pmol/L),甜茶素提取物组含量为 53.24±

13.71 (pmol/L), 极显著地高于阳性对照组 ($P < 0.01$)。该结果提示, 甜茶素提取物降血糖机制之一可能是通过刺激胰岛素的分泌来实现的。

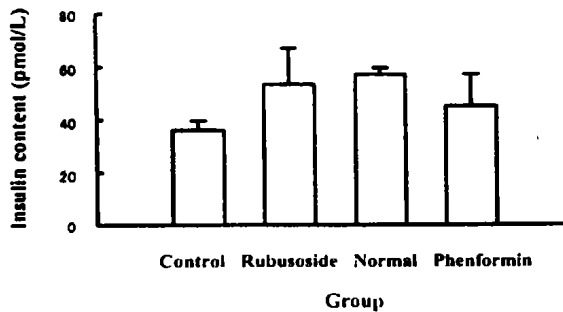


Fig. 3 Effect of rubusoside on insulin secretion in diabetic rats

3 讨论

甜茶素提取物对糖代谢影响的前期研究表明^[3]: 甜茶素能降低正常小鼠血糖水平, 降糖率为 18.47%; 对小鼠糖异生具有明显的抑制作用, 并具有一定的降血脂和抗氧化作用。在此基础上, 本研究进一步表明: 甜茶素提取物对 STZ 致高血糖小鼠的有效降血糖剂量为 300 mg/(kg·d); 在灌胃 1 w、2 w 和 3 w 后甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠的降糖幅度分别为 23.02%、19.74% 和 27.06%; 3 w 后, 虽然甜茶素提取物组血浆果糖胺水平与阳性对照组无统计学差异, 但存在下降的趋势, 提示甜茶素提取物控制高血糖的稳定性需进一步探讨。此外, 甜茶素提取物能明显地降低血浆胆固醇含量, 对血浆甘油三酯也有一定的降低作用, 由此可见, 甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠血脂代谢具有一定的调节作用。

与阳性对照组相比, 甜茶素组血浆 SOD 活性虽然不能明显高于阳性对照组, 但有升高的趋势; 肝脏 SOD 的活性与阳性对照组相比显著升高。甜茶素治疗组血浆 NO 含量和 NOS 均无显著性差异, 但有降低的趋势, 可能是因为甜茶素灌胃时间不够。以上结果表明甜茶素对 STZ 致高血糖大鼠的抗氧化能力具有一定的增强作用, 从而对糖尿病的进一步发展

起到防治的作用, 甜茶素对 NOS-NO 体系是否具有改善作用还需进一步研究。甜茶素提取物对 STZ 致高血糖大鼠 LD 含量和 LDH 的活性没有明显的影响, 同时对肝糖原也无明显的影响。说明甜茶素并未通过加强葡萄糖的无氧代谢和增加肝糖原含量来降低血糖。而甜茶素提取物组胰岛素的含量极显著地高于阳性对照组, 说明甜茶素提取物能够刺激胰岛素的分泌, 从而揭示通过刺激胰岛素的分泌来降低血糖, 可能是甜茶素降血糖机制之一。

甜茶为 80 年代初调查发现的一个新品种^[7,8], 为广西特产植物, 但在民间早有应用。甜茶素是斯替维醇和葡萄糖结合而成的二萜甙, 其甜度为蔗糖的 300 倍^[9]。本研究表明甜茶素提取物能有效地降低血糖, 而且降糖幅度并不大, 而糖尿病患者禁吃含糖的食物, 因此甜茶素提取物作为一种糖尿病患者食物中的甜味剂来开发, 将具有一定的开发应用价值。

【参 考 文 献】

- [1] 廖曼云, 覃国忠. 甜茶的毒理学实验研究[J]. 广西植物, 1985, 5: 43—49.
- [2] 吴应熙. 具甜味的植物成分[J]. 中草药, 1987, 18: 41—43.
- [3] 田翠平, 瞿伟菁, 张雯, 等. 甜茶素对小鼠糖异生作用和血脂代谢的影响[J]. 广西中医药, 2001, 24: 59—61.
- [4] 生物化学编审小组. 生物化学实验指导[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987. 112—113.
- [5] 蒋国彦. 实用糖尿病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1992. 52.
- [6] 陈宏. NO 和胰岛素依赖性糖尿病[J]. 国外医学内分泌学分册, 1997, 17: 149—151.
- [7] 李树刚. 甜茶, 悬钩子属一新种[J]. 广西植物, 1981, 1: 17—19.
- [8] Zhou Wen-hua, Oinaka T, Kanemaru F. *et al.* Diterpene glycosides from leaves of Chinese rubus chingii and fruits of *R. suavissimus*, and identification of the source plant of the Chinese folk medicine Fu-pen-zi[J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35: 3021—3024.
- [9] 徐位坤. 甜茶[M]. 北京: 中国林业出版社, 1984. 82—86.

EFFECT OF RUBUSOSIDE EXTRACTS ON HYPERGLYCEMIC RATS INDUCED BY STREPTOZOTOCIN

TIAN Cui-ping, QU Wei-jing, SUN Bin, LI Ming-juan, WANG Hong, HUNG Xiao-qing
(School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

【Abstract】 Objective: To study the anti-hyperglycemic effect of rubusoside on diabetic rats induced by streptozotocin (STZ) and its mechanism. **Methods:** The STZ-induced diabetic rats were divided into three groups and were given (ig.) saline, rubusoside and Phenformin respectively once a day. After three weeks, the levels of serum glucose, fructosamine, insulin, SOD were assayed. **Results:** Rubusoside could reduce the level of serum glucose significantly, enhance the ability of anti-oxidation and stimulate the secretion of insulin in STZ-induced diabetic rats. **Conclusion:** The action of rubusoside on secretion of insulin can be explained for the anti-hyperglycemic effect.

Key words: rubusoside extraction; streptozotocin; hyperglycemic rat; Insulin

中国营养学会临床营养分会将在京举办《临床营养培训班》

中国营养学会临床营养分会定于 2003 年 4 月中下旬在北京举办营养师培训班,由卫生部给予国家级继续教育学分,共 72 学时(不含节假日)。培训对象是:未经系统培训的营养师、准备从事营养师工作的人员、临床科医师、从事学生营养工作、食品企业工作和热心营养工作的人员。

主要培训内容:

- | | |
|-----------------------------|----------------------|
| (1) 医院膳食及操作规程 | (8) 肠内肠外营养研究新进展和临床应用 |
| (2) 营养科管理 | (9) 与营养有关的慢性疾病研究新进展 |
| (3) 主要胃肠道疾病的营养治疗 | (10) 营养与精神健康的关系 |
| (4) 主要肝胆胰疾病的营养治疗 | (11) 转基因食品与食品安全研究新进展 |
| (5) 主要肾脏疾病的营养治疗 | (12) 脂肪酸与健康 |
| (6) 肥胖研究新进展和营养治疗 | |
| (7) 糖尿病研究新进展、营养治疗和糖尿病教育方法示范 | |

学习班组织参观唐山工人医院(自愿、来往车费自理),学费每人 800 元,交通费、食宿自理。

培训后由学会记学分及发中国科协和中国营养学会结业证。

联系人及电话:李淑媛 010-6891-3008

于康 010-6529-5551

潘丽莉 010-6304-3472

(中国营养学会临床营养分会)