

白子菜叶片中酸性多糖的降血糖作用及其对相关指标的影响

昊霞^{1,2}, 张钱钱¹, 王忠震^{1,3}, 林兵¹, 宋洪涛¹, 张宇⁴, 陈磊^{1,①}

(1. 南京军区福州总医院药学科, 福建 福州 350025; 2. 厦门大学医学院, 福建 厦门 361102;
3. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122; 4. 福建医科大学药学院, 福建 福州 350108)

Hypoglycemic action of acidic polysaccharide in leaf of *Gynura divaricata* and its effect on related indexes HAO Xia^{1,2}, ZHANG Qianqian¹, WANG Zhongzhen^{1,3}, LIN Bing¹, SONG Hongtao¹, ZHANG Yu⁴, CHEN Lei^{1,①} (1. Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou 350025, China; 2. Medical College, Xiamen University, Xiamen 361102, China; 3. Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; 4. Pharmacy College, Fujian Medical University, Fuzhou 350108, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2015, 24(2): 115-117

Abstract: *Gynura divaricata* acidic polysaccharide (GDAP) was extracted and purified from dry leaf of *Gynura divaricata* (Linn.) DC. Effects of successive lavage GDAP for 0, 7, 14 and 21 d with daily dose of 15, 37 and 60 mg · kg⁻¹ on blood glucose content of diabetic model mice were analyzed, and differences in SOD activity and MDA content in serum and glycogen content in liver of mice were compared. The results show that with prolonging of successive administration time and increasing of GDAP daily dose, blood glucose content of diabetic model mice generally appears the decreasing trend. With successive administration for 14 and 21 d, blood glucose content of different GDAP treatment groups is generally lower than that of CK group (0.9% NaCl injection with daily dose of 10 mL · kg⁻¹) but higher than that of T₁ group (metformin with daily dose of 200 mg · kg⁻¹). In which, after successive administration GDAP for 21 d with daily dose of 37 and 60 mg · kg⁻¹, blood glucose content of diabetic model mice is significantly or extremely significantly lower than that of CK group but significantly or extremely significantly higher than that of T₁ group, while SOD activity in serum of diabetic model mice is significantly higher and its MDA content is significantly lower than those of CK group, but there is no significant difference with those of T₁ group. Glycogen content in liver of diabetic model mice of different GDAP treatment groups is higher than that of CK group, but lower than that of T₁ group. It is suggested that GDAP is the main hypoglycemic components in polysaccharide of *G. divaricata* leaf, and it has dose-effect relationship in hypoglycemic activity. Hypoglycemic mechanism of GDAP is probably related to improving antioxidant enzyme ability in the body, enhancing activity of scavenging oxygen free radicals, relieving liver damage, and increasing glycogen storage capacity.

关键词: 白子菜; 白子菜酸性多糖(GDAP); 降血糖作用; SOD 活性; MDA 含量; 肝糖原含量

Key words: *Gynura divaricata* (Linn.) DC.; *Gynura divaricata* acidic polysaccharide (GDAP); hypoglycemic action; SOD activity; MDA content; glycogen content

中图分类号: R285.5; Q949.95 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2015)02-0115-03

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2015.02.17

与西药相比,传统中药及其提取物具有经济、安全的优点,同时还可避免西药的许多副作用^[1]。中药材白子草又名白背三七,为菊科(Compositae)三七属(*Gynura* Cass.)植物白子菜[*Gynura divaricata* (Linn.) DC.]的干燥叶,具有清热、舒筋、止血、祛痰等功效^[2]。在民间,白子菜的茎和叶可药食两用,用于治疗高血压、糖尿病和高血脂症等^[3],其化学成分复杂,目前已分离获得多糖类^[3]、黄酮类^[4-6]、生物碱^[4,7-8]和脂肪酸^[9]等成分。胡勇等^[10]发现白子菜地上部分的水提物和醇提物都具有显著的降糖作用,且其降糖活性成分主要为总生物碱、总黄酮及一些糖苷类;姜曼花等^[11]和刘微微等^[12]也认为

白子菜干燥叶的多糖成分具有显著的降血糖作用;陈磊^[13]的研究结果也表明黄酮类成分和多糖类成分是白子菜干燥叶中的主要降糖活性成分。

为了明确白子菜多糖的降血糖机制,作者对白子菜干燥叶片中的多糖成分进行了提取和分离纯化,获得了白子菜酸性多糖(*Gynura divaricata* acidic polysaccharide, GDAP)并通过检测糖尿病小鼠的血糖含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量和肝糖原含量,比较了不同剂量GDAP的降血糖活性,以期对白子菜多糖的降糖机制研究提供基础实验数据。

收稿日期: 2014-09-16

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(2012J01400)

作者简介: 昊霞(1988—),女,蒙古族,内蒙古呼伦贝尔人,硕士研究生,主要从事中药药理学方面的研究工作。

①通信作者 E-mail: Chen1974lei@sina.com

1 材料和方法

1.1 材料

供试白子菜新鲜叶片于2013年7月26日采集于福州市郊区,经第二军医大学秦路平教授鉴定,凭证标本保存于第二军医大学生药教研室标本馆。实验用小鼠(*Mus musculus*)为SPF级ICR雄鼠,体重18~22 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司。

实验用盐酸二甲双胍片购自江苏苏中药业集团股份有限公司,链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)购自美国Sigma公司,柠檬酸和柠檬酸三钠购自国药集团化学试剂有限公司,肝糖原、SOD和MDA测定试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供;拜安捷®2型血糖仪及配套试纸购自德国拜耳公司。

1.2 方法

1.2.1 多糖的制备及纯化 于2013年7月下旬在福州总医院药学科动物实验中心进行实验。称取1 kg白子菜干燥叶片(于60℃干燥至恒质量),粉碎并过20目筛;经石油醚脱脂后用体积分数95%乙醇回流提取,残渣于50℃烘干;称量全部残渣的总质量,加入20倍体积的纯化水,于100℃水浴回流提取2 h,过滤,残渣重复提取1次,合并滤液;将滤液浓缩至原体积的50%并加入3倍体积的体积分数95%乙醇,静置过夜;室温下4 000 r·min⁻¹离心15 min;收集沉淀,向沉淀中加入无水乙醇,混匀后静置30~60 min,室温下4 000 r·min⁻¹离心15 min并收集沉淀,重复此操作2次;沉淀用丙酮混匀,静置30~60 min后于室温下4 000 r·min⁻¹离心10 min,沉淀于40℃条件下减压干燥获得粗多糖。

采用酶-Sevag法^[14]对粗多糖进行脱蛋白处理,得到纯化多糖;纯化多糖经DEAE-Sephrose Fast Flow分离后,用0.0、0.1和0.3 mol·L⁻¹ NaCl进行梯度洗脱;采用硫酸-苯酚法^[15]跟踪检测各洗脱组分,得到酸性多糖GDAP;采用Sephacryl S-300HR凝胶柱层析和间羟基联苯法^[16]进行纯度分析,显示GDAP为均一多糖,纯度为90.9%。

1.2.2 糖尿病小鼠模型的建立 参照李强等^[17]的方法建立小鼠糖尿病模型。使用的高糖高脂饲料包含质量分数10.0%猪油、质量分数25.0%蔗糖、质量分数3.5%胆固醇、质量分数2.0%胆酸盐及质量分数59.5%普通饲料。随机抽取10只饲养1周的正常小鼠作为正常对照(CK₀),仅喂食普通饲料。

1.2.3 分组及给药方法 将模型小鼠随机分成5组(每组10只):CK为模型对照组,使用质量体积分数0.9% NaCl注射液,日剂量10 mL·kg⁻¹;T₁为二甲双胍处理组,日剂量200 mg·kg⁻¹;T₂为低剂量GDAP处理组,日剂量15 mg·kg⁻¹;T₃为中剂量GDAP处理组,日剂量37 mg·kg⁻¹;T₄为高剂量GDAP处理组,日剂量60 mg·kg⁻¹。正常对照组(CK₀)也为质量体积分数0.9% NaCl注射液,日剂量10 mL·kg⁻¹。各组均灌胃给药;正常小鼠喂食普通饲料,模型小鼠喂食高糖高脂饲

料,每天投喂2次,持续21 d。

1.2.4 指标测定方法 连续给药0、7、14和21 d,分别选取各组的小鼠,禁食不禁水12 h后,用15 mg·kg⁻¹戊巴比妥钠麻醉,心脏取血并测定血糖含量。

连续给药21 d,在完成血糖含量测定后,心脏采血3~5 mL,于4℃条件下3 000 r·min⁻¹离心15 min,上清液置于-80℃保存,并按照相应试剂盒的说明书测定血清中SOD和MDA含量。同时,剖取肝脏,用质量体积分数0.9% NaCl注射液洗净,按照相应试剂盒的说明书测定肝糖原含量。

1.3 数据统计分析

采用SPSS 18.0统计分析软件对数据进行正态分布和方差齐性检验(Levene法);实验组与对照组数据比较时,符合正态分布的数据采用 t 检验法(Student's t -test),不符合正态分布的数据则采用非参数检验法(Nonparametric test)。

2 结果和分析

由实验结果(表1)可知:在给药前(0 d),模型对照组(CK)、二甲双胍处理组(T₁)以及低、中、高剂量GDAP处理组(T₂、T₃和T₄)小鼠的血糖含量无显著差异($P>0.05$)。连续给药7、14和21 d,随GDAP日剂量提高小鼠的血糖含量均逐渐下降,但T₂、T₃和T₄组的血糖含量均高于T₁组。随给药时间延长,T₁、T₂、T₃和T₄组的血糖含量呈持续下降的趋势。连续给药7 d,T₁组的血糖含量显著低于CK组($P<0.05$),而T₂、T₃和T₄组的血糖含量均显著高于T₁组,但与CK组差异并不显著;连续给药14 d,T₁和T₄组的血糖含量分别极显著($P<0.01$)和显著低于CK组,T₂和T₃或T₄组的血糖含量分别极显著或显著高于T₁组;连续给药21 d,T₁、T₃和T₄组的血糖含量均极显著或显著低于CK组,T₂或T₃和T₄组的血糖含量分别极显著或显著高于T₁组。结果显示:GDAP对STZ诱导的糖尿病模型小鼠具有一定的降血糖作用,且具有量效关系,其中日剂量60 mg·kg⁻¹ GDAP的降血糖作用良好。

由表1还可知:CK组小鼠血清SOD活性极显著低于正常对照组(CK₀);T₁和T₃或T₄组的SOD活性显著或极显著高于CK组,其中T₄组的SOD活性最高;与T₁组相比,T₂组的SOD活性显著降低,而T₃和T₄组的SOD活性则略增高。CK组血清MDA含量极显著高于CK₀组;与CK组相比,T₁、T₃和T₄组的MDA含量显著降低,而T₂组的MDA含量略低;与T₁组相比,T₃和T₄组的MDA含量变化较小,而T₂组的MDA含量显著增加。说明日剂量60和37 mg·kg⁻¹ GDAP可使STZ诱导的糖尿病模型小鼠体内的抗氧化能力增强。

此外,CK组小鼠肝脏的肝糖原含量极显著低于CK₀组;与CK组相比,T₁和T₄组的肝糖原含量显著提高,而T₂和T₃组的肝糖原含量略高;与T₁组相比,T₂和T₃组的肝糖原含量显著降低,T₄组的肝糖原含量略低。说明日剂量60 mg·kg⁻¹ GDAP能够提高STZ诱导的糖尿病模型小鼠肝脏储存肝糖原的能力。

表1 白子菜酸性多糖(GDAP)对糖尿病模型小鼠相关指标的影响($\bar{X}\pm SD, n=10$)¹⁾
 Table 1 Effect of *Gynura divaricata* acidic polysaccharide (GDAP) on related indexes of diabetic model mice ($\bar{X}\pm SD, n=10$)¹⁾

处理组 ²⁾ Treatment group ²⁾	不同时间血糖含量/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Blood glucose content at different times				SOD 活性/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ SOD activity	MDA 含量/ $\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$ MDA content	肝糖原含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ Glycogen content
	0 d	7 d	14 d	21 d			
CK ₀	6.3±0.7	6.8±0.9	6.5±0.8	7.0±0.6	445.85±26.58	0.48±0.06	34.16±5.23
CK	25.1±3.6	24.8±3.4	23.6±4.0	24.8±1.4	280.21±25.82	0.62±0.13	21.03±2.96
T ₁	25.2±5.1	18.4±3.9*	13.6±4.3**	10.5±2.5**	423.37±26.15*	0.52±0.05*	30.22±1.04*
T ₂	26.1±3.4	25.9±3.2#	23.6±4.2##	20.3±4.3##	312.94±50.51#	0.60±0.09#	22.56±3.95#
T ₃	25.3±3.8	25.1±3.7#	21.5±4.0##	17.1±3.0*#	425.42±55.11*	0.53±0.09*	24.72±4.26#
T ₄	25.8±4.1	24.4±2.9#	18.9±2.8*#	15.4±3.1***#	435.17±21.63**	0.50±0.06*	28.06±5.15*

¹⁾ * : 与 CK 组差异显著 ($P<0.05$) Significant difference with CK group ($P<0.05$); ** : 与 CK 组差异极显著 ($P<0.01$) Extremely significant difference with CK group ($P<0.01$); # : 与 T₁ 组差异显著 ($P<0.05$) Significant difference with T₁ group ($P<0.05$); ## : 与 T₁ 组差异极显著 ($P<0.01$) Extremely significant difference with T₁ group ($P<0.01$).

²⁾ CK₀ : 正常小鼠, 日剂量 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 0.9% NaCl 注射液 Normal mice, 0.9% NaCl injection with daily dose of $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$; CK : 糖尿病小鼠, 日剂量 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 0.9% NaCl 注射液 Diabetic mice, 0.9% NaCl injection with daily dose of $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$; T₁ : 糖尿病小鼠, 日剂量 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 二甲双胍 Diabetic mice, metformin with daily dose of $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; T₂, T₃, T₄ : 糖尿病小鼠, 分别为日剂量 15、37 和 $60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ GDAP Diabetic mice, GDAP with daily dose of 15, 37 and $60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively.

3 讨 论

研究结果显示:使用纯化的 GDAP 连续给药 21 d, 糖尿病模型小鼠的血糖含量显著降低, 这与姜曼花等^[3]的研究结果一致;与粗多糖^[11]相比, 纯化的 GDAP 降糖效果更强, 较低剂量(日剂量 $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) GDAP 就有一定的降血糖活性, 但与常用降糖药物二甲双胍的药效还有差距, 表明 GDAP 为白子菜多糖的主要降血糖成分。灌胃中、高剂量(日剂量 37 和 $60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) GDAP 还可使糖尿病模型小鼠血清中的 SOD 活性和肝脏中的肝糖原含量升高、血清中的 MDA 含量下降。据此推测 GDAP 的降血糖机制可能是通过提高机体的抗氧化酶活性和清除活性氧自由基能力解除肝脏的损害并促进胰岛 β 细胞的修复和再生, 通过提高肝脏的肝糖元含量增强肝糖原的储存能力, 从而使血糖含量降低。

参考文献:

- [1] De MELO E J M, Jr, RAPOSO M J, NETO J A L, et al. Medicinal plants in the healing of dry socket in rats: microbiological and microscopic analysis[J]. *Phytomedicine*, 2002, 9(2): 109-116.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典(上)[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977: 756.
- [3] 姜曼花, 邱细敏, 刘胜姿, 等. 白背三七多糖的提取纯化及含量测定[J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(9): 2147-2149.
- [4] 胡 勇, 李维林, 林厚文, 等. 白背三七地上部分的化学成分[J]. *中国天然药物*, 2006, 4(2): 156-158.
- [5] 陈 磊, 宋增艳, 王津江, 等. 白背三七地上部分化学成分研究[J]. *中药材*, 2010, 33(3): 373-376.
- [6] 吴菊兰, 李维林, 汪洪江, 等. 红凤菜和白子菜总黄酮含量的动态变化[J]. *植物资源与环境学报*, 2009, 18(4): 79-81.

- [7] WAN C, YU Y, ZHOU S, et al. Isolation and identification of phenolic compounds from *Gynura divaricata* leaves[J]. *Pharmacognosy Magazine*, 2011, 7(26): 101-108.
- [8] 李丽梅, 张涵庆, 吕 寒, 等. 白背三七叶中吡咯里西啶生物碱的 LC-MSⁿ 检测[J]. *植物资源与环境学报*, 2008, 17(2): 79-80.
- [9] 李丽梅, 李维林, 郭巧生, 等. 白背三七化学成分研究[J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(1): 118-119.
- [10] 胡 勇, 李维林, 林厚文, 等. 白背三七地上部分降血糖作用研究[J]. *西南林学院学报*, 2007, 27(1): 55-58.
- [11] 姜曼花, 胡剑卓, 邱文高, 等. 白背三七多糖和黄酮降血糖及耐缺氧作用[J]. *中国医院药学杂志*, 2009, 29(13): 1074-1076.
- [12] 刘微微, 刘 旭, 曹学丽. 白背三七多糖的分离纯化[J]. *食品科学*, 2011, 32(23): 58-63.
- [13] 陈 磊. 白背三七降血糖物质基础研究[D]. 上海: 第二军医大学药学院, 2009.
- [14] 张雅利, 张文娟, 何琼华. 胰蛋白酶-Sevag 法联用脱柿多糖蛋白[J]. *食品工业科技*, 2005, 26(5): 107-108, 111.
- [15] 郭晓蕾, 朱思潮, 翟旭峰, 等. 硫酸蒽酮法与硫酸苯酚法测定灵芝多糖含量比较[J]. *中华中医药学刊*, 2010, 28(9): 2000-2002.
- [16] 许会生, 张铁军, 赵广荣, 等. 一种测定酸性多糖中糖醛酸和中性糖含量的改良方法[J]. *食品工业科技*, 2007, 28(7): 197-199.
- [17] 李 强, 丁 实, 周剑宇, 等. 高脂饮食合并不同剂量 STZ 建立小鼠 2 型糖尿病模型[J]. *承德医学院学报*, 2013, 30(1): 5-7.

(责任编辑: 佟金凤)