

文章编号:1000-5471(2012)02-0109-05

黑苦荞茎叶提取物对高血糖小鼠降血糖功能的研究^①

刘 刚^{1,2}, 谭善财¹, 胡细享¹, 张 宏^{1,2},
康 敏¹, 张晓喻^{1,2}, 黄春萍^{1,2}

1. 四川师范大学 生命科学学院, 成都 610101; 2. 四川师范大学 植物资源应用与开发研究所, 成都 610101

摘要: 为了研究黑苦荞茎叶提取物的降血糖作用, 先将 18 mg/mL 的四氧嘧啶按 180 mg/kg 注射到小鼠腹腔, 72 h 后再用葡萄糖氧化酶法检测其空腹血糖值, 血糖值大于 11.1 mmol/L 者为造模成功的小鼠。将高血糖小鼠随机分为模型组、阳性组(300 mg/kg)、低剂量组(210 mg/kg)、高剂量组(420 mg/kg), 另取正常小鼠做空白对照组, 各组分别灌胃相应的实验材料, 1 次/天, 连续 14 天, 第 15 天采血检测其空腹血糖值, 比较各组间的差异。结果显示: 与模型组比较, 高、低剂量组小鼠的血糖值显著降低, 外观和精神状态得到改善, 多尿状况得到缓解, 体质量缓慢增加, 实验表明黑苦荞茎叶提取物对四氧嘧啶诱发的高血糖模型小鼠有降血糖作用。

关键词: 黑苦荞; 提取物; 高血糖; 小鼠

中图分类号: Q599; O658

文献标志码: A

苦荞(*Fagopyrum tataricum* Gaertn)属蓼科荞麦属植物, 分为普通苦荞和黑苦荞。苦荞是一种独特的药食兼用食物, 现代药理研究表明, 普通苦荞麦具有降血糖、降血脂、清除自由基抗氧化等功能^[1-2], 对心脑血管系统疾病具有辅助治疗的作用^[3]。目前, 国内外专家学者主要致力于普通苦荞籽粒的研究开发^[4], 对黑苦荞的研究较少, 对黑苦荞茎叶的利用开发尚未见报道。本实验在前期相近功能研究的基础上^[5], 以当年生成熟的黑苦荞茎叶为材料提取活性物质, 对以四氧嘧啶所致高血糖小鼠进行降血糖功能的研究, 拟为黑苦荞的综合利用和产品开发提供一定的科学依据。

黑苦荞为四川省川西少数民族地区特有的资源, 有“黑珍珠”之美誉, 其种子外壳呈深黑色, 根、茎、叶、花和果实均含多种氨基酸及微量元素硒、铬等^[6], 此外还含有其它谷物不具有的多种生物活性物质^[7-8]。黑苦荞喜凉爽, 耐寒、耐贫瘠干旱, 在我国西南地区的四川、云南、贵州等省的高寒山区具有明显的生长优势, 资源极其丰富, 但其果实产量低, 籽粒的开发利用受到限制。黑苦荞茎叶的生物量高、生物活性物质多, 提取工艺设备完备成熟, 经济易得, 其茎叶可作为功能性食品或医药保健产品的原料, 具有很好的开发价值, 值得进一步的关注。

1 材料与仪器

1.1 仪 器

紫外可见扫描分光光度计(日本岛津 UV-1700); 数控超声波清洗器(KQ-300DE); 电子天平(德国

① 收稿日期: 2010-12-05

基金项目: 四川省科技厅支撑项目(2101FZ0006); 四川师范大学校基金面上项目(09KYL02); 四川师范大学投资管理有限公司资助项目。
作者简介: 刘 刚(1968-), 男, 四川崇州人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事植物资源的开发与研究。

SARTORIUS BP211D); 恒温槽(北京长安科学仪器厂); 旋转蒸发仪(Re52-05 上海亚荣生化仪器厂)等.

1.2 药物与试剂

四氧嘧啶: sigma 公司(批号: A7413); 酶法葡萄糖测定试剂盒: 四川省新成生物科技有限责任公司(批号: 0310141); 糖尿乐: 吉林省某药业股份有限公司(批准文号: 国药准字 Z22021389); 乙二胺四乙酸二钾(AR): 成都市科龙化工试剂厂; 其他试剂为分析纯.

1.3 材 料

黑苦荞茎叶: 黑苦荞种子购自四川凉山彝族自治州甘洛县, 2010 年 3 月种于四川省成都市双流县, 2010 年 6 月采收. 实验动物为雄性昆明种小鼠, 体质量(25 ± 2) g, 由成都达硕生物科技有限公司提供(合格证号 NO 0023228, 许可证号 SCXK 川 2008-24).

2 方 法

2.1 实验样品的制备

黑苦荞茎叶提取物用乙醇提取制备^[9], 先将材料晾干, 粉碎后过一号筛, 然后准确称取一定量的样品, 加 10 倍的 60% 乙醇溶液(体积分数), 70 °C 回流提取 2 h, 过滤后滤液浓缩, 备用.

2.2 血糖值的检测和糖尿病动物模型的建立

用手术剪剪去小鼠尾端 2~3 mm, 压迫取 4 滴血置于 EP 管中, 先加 15 g/L 的乙二胺四乙酸二钾溶液 12 μ L, 静止, 待血液分层后取上层血清 10 μ L, 加 30 μ L 生理盐水, 摇匀; 从稀释的血清中取 10 μ L 于 EP 管中, 加 1 mL 葡萄糖(Glu)氧化酶, 摇匀, 37 °C 恒温 15 min, 样品(u)待测. 另取生理盐水和校准品(c)10 μ L, 分别加 1 mL 葡萄糖氧化酶, 摇匀, 37 °C 恒温 15 min, 用 505 nm 波长以空白对照管调零后测定吸光度(A).

$$\text{样品 Glu}(\text{mmol/L}) = A_u/A_c \times C_c$$

用生理盐水将四氧嘧啶配成 18 mg/mL 的质量浓度, 小鼠禁食不禁水, 24 h 后, 按 180 mg/kg 注射到小鼠腹腔; 72 h 后, 小鼠禁食不禁水 4~5 h, 断尾取血, 用葡萄糖氧化酶法测定空腹血糖, 血糖值大于 11.1 mmol/L 者为造模成功的小鼠.

2.3 实验方案

将 48 只高血糖小鼠随机均分为模型组、阳性组(300 mg/kg)、低剂量组(210 mg/kg)、高剂量组(420 mg/kg)4 组^[10], 另取 12 只正常小鼠作为空白对照组; 空白对照组和模型组灌胃等体积的蒸馏水, 高剂量组、低剂量组灌胃相应的提取物, 阳性组灌胃糖尿乐, 按 1 次/天剂量连续灌胃 14 天; 到第 15 天时, 禁食不禁水 4~5 h, 采血检测小鼠的血糖值. 实验期间记录各组小鼠的体质量, 对处理前后小鼠的毛色状况、精神状态、排尿情况等外观按评分标准^[11]进行评分.

2.4 统计分析

对给药前后血糖值、体质量和外观评分等采用 SPSS 进行统计分析^[12], 结果以 mean \pm std 表示.

3 结果与讨论

3.1 提取物对高血糖小鼠的影响

3.1.1 提取物对高血糖小鼠体质量的影响

实验期间考察各组小鼠体质量的变化. 分别于造模前、给药前和灌胃给药后的 3 天、8 天和 14 天, 禁食不禁水 4 h 后, 测定各组小鼠的体质量, 结果见表 1.

从表 1 可以看出, 与空白组比较, 造模前各组小鼠体质量没有差异, 而在造模成功给药处理前, 各组小鼠体质量明显低于空白组, 差异极显著($p < 0.01$); 给药处理后的 3 天、8 天和 14 天, 空白组小鼠的体质量增加迅速, 模型组、阳性组、高剂量组、低剂量组与空白组比较, 体质量明显较低, 差异极显著($p < 0.01$); 高剂量组、低剂量组、模型组、阳性组在实验阶段体质量都略有增加, 但彼此间的差异没有达到显著水平.

表 1 黑苦荞茎叶的提取物对各组小鼠体质量的影响 (mean±std)

组 别	数量 /只	剂 量 /(mg·kg ⁻¹)	小鼠的体质量/g				
			造模前	给药前	给药 3 天后	给药 8 天后	给药 14 天后
空白组	12	—	26.50±0.80	27.90±1.09	33.44±3.08	34.29±3.36	35.82±3.35
模型组	12	—	26.77±0.85	24.66±1.13**	25.13±2.39**	25.00±1.99**	25.71±1.72**
阳性组	12	300	26.83±0.89	24.91±1.07**	25.94±1.16**	25.00±1.69**	25.50±1.54**
低剂量组	12	210	27.18±1.26	24.27±2.21**	25.19±2.30**	24.00±2.789**	24.70±1.79**
高剂量组	12	420	26.53±1.01	25.25±2.08**	25.19±2.30**	24.00±2.789**	25.67±2.55**

注: 与空白组比较, * $p \leq 0.05$, ** $p < 0.01$.

3.1.2 提取物对高血糖小鼠血糖值的影响

给药处理前, 除空白对照组外, 各组小鼠间的血糖值都没有差异, 而各组小鼠的血糖值均显著高于空白对照组, 差异极显著, 说明造模成功. 给药处理 14 天后, 再测定血糖值, 结果见表 2.

表 2 黑苦荞茎叶提取物对高血糖小鼠血糖值的影响 (mean±std)

组 别	数 量 /只	剂 量 /(mg·kg ⁻¹)	血糖值/(mmol·L ⁻¹)	
			给药前	给药后
空白组	12	—	7.32±1.23	5.76±1.24
模型组	12	—	26.13±2.20 [#]	22.77±2.91
糖尿乐组	12	300	26.33±2.81 [#]	20.37±2.60*
低剂量组	12	210	26.37±2.13 [#]	20.86±2.91*
高剂量组	12	420	27.80±3.32 [#]	17.20±2.12** ^{△△}

注: 与空白对照组比较, [#] $p < 0.01$; 与模型组比较, * $p \leq 0.05$, ** $p < 0.01$; 与糖尿乐组比较, $\Delta\Delta p < 0.01$.

实验结果表明, 与模型组比较, 高剂量的黑苦荞茎叶提取物能极显著降低高血糖小鼠的血糖值, 低剂量的黑苦荞茎叶提取物能显著降低高血糖小鼠的血糖值, 差异有统计学意义. 与糖尿乐组比较, 高剂量的黑苦荞茎叶提取物也能降低高血糖小鼠的血糖, 差异极显著, 低剂量组降糖效果与阳性对照组相当.

3.1.3 提取物对高血糖小鼠外观评分的影响

按照小鼠外观评分标准, 对小鼠的毛色状况、精神状态和排尿情况等外观情况进行观察评分, 外观评分标准见表 3.

表 3 小鼠的毛色状况、精神状态和排尿情况等外观评分标准

毛色状况	分值	精神状态	分值	排尿情况	分值
洁白, 有光泽	5	精神好, 多活动	5	多, 垫料湿	1
较白, 有光泽	4	精神好, 较活泼	4	多, 垫料较湿	2
略显黄色, 较有光泽	3	精神较好, 较活泼	3	较多, 垫料较湿	3
略显黄色, 略有光泽	2	精神较好, 少活动	2	较少, 垫料较干	4
暗黄, 无光泽	1	萎靡, 活动量少	1	少, 垫料干燥	5

对模型组、糖尿乐组、高低剂量组的小鼠处理前后的外观进行统计分析比较, 各组小鼠处理前后的外观评分结果见表 4.

表 4 黑苦荞茎叶的提取物对高血糖小鼠外观分值的影响 (mean±std, n=12)

组 别	毛色状况的分值		精神状态的分值		排尿情况的分值	
	处理前	处理后	处理前	处理后	处理前	处理后
正常组	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0
模型组	3.0±0.7 [#]	1.3±0.7	2.9±0.6	1.4±0.7	2.3±0.9 [#]	1.2±0.4
糖尿乐组	3.1±0.6 [#]	2.2±0.9 [°]	2.9±0.7 [#]	2.2±0.8 [*]	2.0±0.7 [#]	3.0±0.5 [*]
低剂量组	3.0±0.5 [#]	2.1±0.7 [°]	3.0±0.7 [#]	2.2±0.6 [*]	1.6±0.7 [#]	2.9±0.7 [*]
高剂量组	2.9±0.6 [#]	3.9±0.9 ^{*△}	3.2±0.4 [#]	3.4±1.1 ^{*△}	1.6±0.7 ^{#△}	3.8±0.6 ^{*△}

注: 与正常对照组比较, [#] $p < 0.05$; 与模型组比较, * $p \leq 0.05$; 与糖尿乐组比较, $\Delta p < 0.05$.

实验结果表明, 给药处理前, 与正常空白组小鼠比较, 模型组、糖尿乐组、高剂量组、低剂量组的小鼠毛色暗黄无光泽, 精神较差, 较不活泼, 排尿多, 差异均显著($p \leq 0.05$), 说明造模后罹患高血糖的小鼠的代谢均有异常表现. 给药处理后, 与模型组小鼠组比较, 糖尿乐组、高剂量组、低剂量组的小鼠毛色较有光泽, 精神较好, 活动稍多, 尿少, 差异有显著性($p \leq 0.05$). 给药处理后, 与糖尿乐组的小鼠毛色状况、精神状态和排尿情况等分值比较, 高剂量组小鼠都有一定改善, 差异有显著性($p \leq 0.05$), 而低剂量组和糖尿乐组的状况相当.

4 结 论

对四氧嘧啶所致的高血糖小鼠, 低剂量的黑苦荞茎叶提取物和糖尿乐的降低血糖作用相当, 而高剂量的黑苦荞茎叶提取物优于糖尿乐, 具有极显著的降低血糖的作用, 高剂量提取物能有效改善高血糖模型小鼠的外观和精神状态, 缓解其多尿的状况; 高剂量、低剂量提取物处理的高血糖模型小鼠体质量缓慢增加, 与空白组比较, 差异极显著, 而与阳性组比较, 体质量增加没有显著差异; 给与提取物处理后, 与阳性组小鼠的毛色状况、精神状态和排尿情况等评分分值比较, 高剂量组小鼠都有一定改善, 差异显著, 而低剂量组和阳性组的状况相当, 说明给与提取物处理后, 提取物处理的高血糖模型小鼠外观分值有积极的改善, 高剂量处理优于阳性药物.

综上所述, 可以认为黑苦荞茎叶提取物对四氧嘧啶诱发的高血糖模型小鼠有较好的降血糖功能. 前期的实验证明, 总黄酮是黑苦荞茎叶提取物的主要成分, 质量浓度达 50% 以上, 比同样处理的普通苦荞要高出 10% 左右. 有研究表明^[13], 苦荞黄酮具有降低血糖、维持血管抵抗力、抗自由基等功能, 其降血糖机制可能与促进胰岛素的分泌、提高胰岛素与其受体亲和力等有关. 尽管四氧嘧啶诱发的糖尿病与人类糖尿病的机理有所区别, 但本研究结果提示, 黑苦荞茎叶提取物可能有降低糖尿病人血糖的作用, 能延缓和控制糖尿病的症状, 但其对人体的降糖效果有待进一步的临床研究.

参考文献:

- [1] 张美莉, 胡小松. 荞麦生物活性物质及其功能研究进展 [J]. 杂粮作物, 2004, 24(1): 26—29.
- [2] MUKODA T, SUN Bo-xiao, ISHIGURO A. Antioxidant Activities of Buckwheat Hull Extract Toward Various Oxidative Stress in Vi-Troandin Vivo [J]. Biol Pharm Bull, 2001, 24(3): 209—213.
- [3] 胡一冰, 杨敬东, 邹亮, 等. 苦荞麦药理研究及临床应用概况 [J]. 成都大学学报: 自然科学版, 2006, 25(4): 0271—0276.
- [4] 舒成仁, 裘军, 王高升. 苦荞麦籽粒提取物对小鼠化学性肝损伤的影响 [J]. 医药导报, 2005, 24(10): 880—882.
- [5] 刘刚, 雷立, 张晓喻, 等. 赤灵芝及其孢子粉提取物缓解小鼠肝脏 CCl_4 损伤的研究 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2009, 34(5): 117—120.
- [6] 朱瑞, 高南南, 陈建民. 苦荞麦化学成分和药理作用 [J]. 中国野生植物资源, 2003, 22(2): 7—9.
- [7] 张瑞, 王英平, 任贵兴. 苦荞麦的药理研究进展 [J]. 特产研究, 2008, 30(1): 74—77.
- [8] YANG Nan, REN Gui-xing. Determination of D-chiro-Inositol in Tatarly Buckwheat Using High-Performance Liquid Chromatography with an Evaporative Light-Scattering Detector [J]. Agriculture and Food Chemistry, 2008, 56(3): 757—760.
- [9] 王敏, 高锦明, 王军, 等. 苦荞茎叶粉中总黄酮酶法提取工艺研究 [J]. 中草药, 2006, 37(17): 1645—1648.
- [10] 李仪奎. 中药药理实验方法学 [M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
- [11] LIU C L, CHEN Y S, YANG J H, et al. Antioxidant Activity of Tartary(*Fagopyrum Tataricum*(L.) Gaertn.) and Common (*Fagopyrum Esculentum* Moench) Buckwheat Sprouts [J]. Agric. Agriculture and Food Chemistry, 2008, 56(1): 173—17.
- [12] 陈平雁, 黄浙明. Spss8.0 统计软件应用教程 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2000.
- [13] 祁学忠, 吉锁兴, 王晓燕, 等. 苦荞黄酮及其降血糖作用的研究 [J]. 科技情报开发与经济, 2003, 13(8): 0111—0112.

A Study of the Effects of the Extract from Black Buckwheat Stem and Leaves for Regulating Blood Glucose in Hyperglycemia Mice

LIU Gang^{1,2}, TAN Shan-cai¹, HU Xi-xiang¹, ZHANG Hong^{1,2},
KANG Min¹, ZHANG Xiao-yu^{1,2}, HUANG Chun-ping^{1,2}

1. College of Life Science, Sichuan Normal University, Chengdu 610101, China;

2. Institute of Phytochemistry, Sichuan Normal University, Chengdu 610101, China

Abstract: In order to evaluate the effect of extract from black buckwheat stem and leaves for regulating blood glucose in alloxan-induced hyperglycemia mice, alloxan monohydrate (2,4,5,6-tetraoxypyrimidine, 18 mg/mL) was intraperitoneally injected at 11.1 mmol/L to mice. Blood glucose of the mice was determined 72 h after the injection and the mice with a blood glucose greater than 11.1 mmol/L were taken as successful model mice. The 48 hyperglycemia mice were randomly divided into 4 groups, i. e. model group, positive control group (300 mg/kg), high dose group (420 mg/kg) and low dose group (210 mg/kg) of the extract, in addition to 12 normal mice set as blank control group. All groups were fed for 14 consecutive days, and then their blood glucose was detected by glucose oxidization on the 15th day. Compared with the model group, the high and low dose groups had significantly reduced blood glucose values, and their appearance and mental status were improved, their polyuria situation was alleviated, and their body weight increased slowly. It is thus concluded that extract from black buckwheat stem and leaves can significantly decrease the blood glucose level of the hyperglycemia mice induced by alloxan.

Key words: black buckwheat; extract; hyperglycemia; mouse

责任编辑 胡 杨