

青钱柳提取物对家兔实验性糖尿病模型降血糖作用的研究^{*}

上官新晨^{1,2}, 陈锦屏¹, 吴少福², 黄占旺²,
汤凯洁², 舒惠国², 徐明生²

(1 陕西师范大学 食品工程系, 陕西 西安 710062; 2 江西农业大学 食品科学系, 江西 南昌 330045)

[摘 要] 分别以每天8 g/kg 体重剂量的青钱柳水提取物和醇提取物灌饲糖尿病模型家兔, 以血糖、体重、糖耐量为指标研究青钱柳提取物的降糖作用。结果表明, 经5周试验, 灌饲青钱柳提取物家兔的血糖浓度明显低于糖尿病模型对照组, 其中青钱柳醇提取物的降糖效果更好($P < 0.01$)。青钱柳提取物还能减缓实验性糖尿病家兔体重下降, 对试验性家兔的糖耐量具有显著的增强作用。

[关键词] 青钱柳; 提取物; 糖尿病模型家兔; 降血糖作用

[中图分类号] R151.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2003)06-0117-04

糖尿病是一种常见的代谢内分泌疾病, 全世界有2亿以上的人患有糖尿病, 其中我国也有4000万左右的患者, 且新诊断患者逐年递增。糖尿病对人类健康的影响日趋严重, 是继心血管疾病、肿瘤之后我国的第三大慢性病, 往往需要长期甚至终生治疗。饮食疗法是治疗糖尿病尤其是Ⅱ型糖尿病的主要疗法之一。因此, 研制、开发治疗和预防功能性糖尿病食品, 是许多科学工作者致力研究和探索的重要课题^[1]。

青钱柳(*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk)为胡桃科青钱柳属植物, 因其果圆如古钱, 叶色青而似垂柳, 故名“青钱柳”; 主要生长于海拔400~800 m的山坡或山窝的阔叶林中, 喜阴凉环境。青钱柳属高大乔木(高10~30 m), 单数羽状复叶(长约20 cm), 广泛分布于江西、浙江、江苏、安徽、福建、台湾、湖北、四川、贵州等地, 又名青钱李(江西)、山麻柳(四川)、甜茶树(贵州)、一串钱(湖北)等。江西省修水县山区有青钱柳树生长, 当地百姓长期以来采其嫩叶制茶饮用, 茶汤甘甜滋润, 具有清热解暑、生津止渴等功效。对青钱柳理化成分及保健功能的研究始于20世纪70年代末, 近年来, 以青钱柳叶为原料的加工初产品已有销售, 青钱柳对高血糖疾病保疗功能的研究也日益受到重视^[2~4]。为开发我国特有的青钱柳资源, 进一步评价其对糖尿病的疗效, 本

研究采用青钱柳提取物对试验性糖尿病家兔模型进行降血糖作用的研究, 旨在为青钱柳的产业化开发利用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 纯种日本大耳白兔, 体重1.75~2.5 kg, 雌雄兼用, 由江西医学院实验动物研究所提供(合格证号: 99021)。试验期间室温控制在21~26℃, 禁食前自由采食和饮水。家兔全价颗粒饲料也由江西医学院实验动物研究所提供。

1.1.2 实验药品 四氧嘧啶(Aloxan), 英国BDH公司出品, 批号42011; 消渴丸(Xiaoke Pill, XKP, 作为阳性对照药物)广州中药一厂出品, 批号99050496; 血糖测定试剂盒为四川省迈克科技有限责任公司出品。

1.1.3 青钱柳样品 2002-06采自江西修水, 在进行提取前, 去除杂质和较粗的枝杆。青钱柳水提取物采用常规水煎法提取, 青钱柳醇提取物采用体积分数70%的乙醇热回流法提取, 尔后对提取液进行减压浓缩。使用前用蒸馏水按比例进行稀释。

1.2 方法

1.2.1 实验性糖尿病家兔模型的建立 参照徐淑云等的方法^[5]略加修改, 以纯种日本大耳白兔为实

^{*} [收稿日期] 2003-04-16

[基金项目] 国家科技部星火计划项目(2002EA730001); 江西省科技厅重点项目(赣科发计字2002163)

[作者简介] 上官新晨(1962-), 男, 江西余干人, 教授, 主要从事功能性食品的开发与研究。

验动物,造模前空腹 48 h(自由饮水),按体重耳缘静脉注射 110 mg/kg 四氧嘧啶(配制成 5% 的水溶液,现用现配),30 s 内推射完毕恢复给食。注射 3 d 后,对禁食 12 h 的家兔耳缘静脉采血测血糖。

1.2.2 实验动物的分组 对禁食 12 h 后的家兔耳缘静脉采血 0.5 mL,EDTA 抗凝。然后立即离心,离心后取 10 μ L 血清,测定所有家兔的血糖。根据雌雄各半的原则,共选 64 只血糖高于 13 mmol/L 者用于实验。将 64 只家兔随机分成 4 组,每组 2 个重复,每个重复 8 只。设糖尿病模型组、消渴丸阳性对照组、青钱柳水提取物组和青钱柳醇提取物组 4 个处理。造模前另取 8 只家兔设空白对照组,雌雄各半,造模时在家兔耳缘静脉注射四氧嘧啶同剂量的生理盐水。

1.2.3 降糖实验 青钱柳水提取物组、青钱柳醇提取物组按 8 g/(kg·d)灌胃;消渴丸组灌胃消渴丸 2.5 g/(kg·d);糖尿病模型组和空白对照组分别空腹灌胃等体积蒸馏水。连续进行 5 周,每周的第 7 天称重并采血测血糖浓度(禁食 12 h)。

1.2.4 糖耐量实验 连续实验 5 周后,采集末次空腹血糖作为 0 h 时血糖值;各组再分别灌胃葡萄糖溶液 20 g/kg,给葡萄糖 0.5,1,2 h 后,对家兔耳缘静脉采血,分别测定家兔血糖浓度。

1.2.5 血糖测定 采用葡萄糖-过氧化物酶法测

定。计算公式为血糖 (mmol/L) = $(A_u/A_s) \times 5.55$,其中, A_u 为样品的吸光度; A_s 为葡萄糖标准品的吸光度; 5.55 为常数。

1.2.6 统计方法 各项指标以“平均数 $\pm$ 标准差”表示,采用 SPSS 10.0 统计软件进行差异显著性 t -检验。

2 结果与分析

2.1 青钱柳提取物对实验性糖尿病家兔血糖的影响

由表 1 可见,经过 5 周实验,糖尿病模型对照组的血糖浓度一直处于较高水平,且波动范围小,其他各组的血糖浓度有不同程度的下降。在对家兔灌胃 2 周后,青钱柳提取物组和消渴丸组的血糖浓度有较明显下降($P < 0.05$),其中青钱柳醇提取物组与糖尿病模型组差异达极显著水平($P < 0.01$);在灌胃 3 周后,这几组的血糖浓度又反弹升高,青钱柳水提取物组和消渴丸组与糖尿病模型对照组相比,差异不显著,但青钱柳醇提取物组较糖尿病模型对照组低,差异达显著水平($P < 0.05$);在灌胃 4 和 5 周后,青钱柳水提取物组和消渴丸组的血糖浓度也低于糖尿病模型对照组,差异也达显著水平($P < 0.05$),青钱柳醇提取物组的血糖浓度较糖尿病模型对照组低,差异达极显著水平($P < 0.01$)。

表 1 青钱柳提取物对糖尿病家兔血糖的影响

Table 1 Effects of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk extracts on glucose concentration of diabetic rabbit

组别 Group	给药前 血糖浓度 Before administration	灌胃后血糖浓度 Glucose concentration after administration				
		第 1 周 First week	第 2 周 Second week	第 3 周 Third week	第 4 周 Forth week	第 5 周 Fifth week
空白组 NC	5.48 $\pm$ 0.7(8)	5.55 $\pm$ 0.5(8)	5.71 $\pm$ 0.4(8)	5.75 $\pm$ 0.5(8)	5.64 $\pm$ 0.6(8)	5.93 $\pm$ 0.2(8)
糖尿病模型组 TNB	22.40 $\pm$ 2.3(16)	22.13 $\pm$ 3.2(13)A	21.72 $\pm$ 4.5(10)A	20.48 $\pm$ 2.7(9)A	22.23 $\pm$ 1.9(9)A	21.92 $\pm$ 2.8(7)A
水提组 Water extracts	24.22 $\pm$ 1.8(16)	24.04 $\pm$ 2.2(13)A	16.42 $\pm$ 5.6(11)b	18.92 $\pm$ 1.6(10)	17.11 $\pm$ 6.5(9)b	16.69 $\pm$ 5.3(9)b
醇提组 Ethanol extracts	26.08 $\pm$ 2.1(16)	25.55 $\pm$ 3.5(14)A	12.15 $\pm$ 4.3(14)B	16.93 $\pm$ 4.2(13)b	15.03 $\pm$ 5.7(12)B	9.49 $\pm$ 4.6(12)B
消渴丸组 XKP	25.60 $\pm$ 3.2(16)	24.50 $\pm$ 2.6(13)A	16.14 $\pm$ 6.3(13)b	18.78 $\pm$ 2.1(12)	16.40 $\pm$ 6.1(11)b	11.12 $\pm$ 5.4(10)b

注:①括号内数字为家兔数量。②A 表示与空白对照组相比差异极显著($P < 0.01$);B 表示与糖尿病模型组相比差异极显著($P < 0.01$);b 表示与糖尿病模型组相比差异显著($P < 0.05$);下表同。

Note: ① The number in the bracket is the rabbit number; ② A mean greatly significantly different to control group ($P < 0.01$); B mean greatly significantly different to alloxan group ($P < 0.01$); b mean significantly different to alloxan group ($P < 0.05$). Same notes for other tables

2.2 青钱柳提取物对实验性糖尿病家兔体重的影响

由表 2 可见,经过对家兔 5 周的灌胃,空白对照组家兔的体重由实验前的(1.89 $\pm$ 0.35) kg 升至(2.27 $\pm$ 0.22) kg,表明现有试验条件适合家兔生长;从试验的第 1 周开始至试验结束,糖尿病模型对照组的体重由(1.84 $\pm$ 0.32) kg 下降至(1.35 $\pm$

0.46) kg,明显低于空白对照组的体重($P < 0.01$),这说明实验性糖尿病会导致家兔体重下降;灌胃青钱柳提取物组和消渴丸组的体重也会下降,但 t 检验结果表明,其可减缓实验性糖尿病家兔体重的下降,其中青钱柳醇提组家兔从灌胃第 4 周开始体重逐渐升高,在灌胃第 5 周后,与糖尿病模型对照组相比差异显著($P < 0.05$)。

表 2 青钱柳提取物对实验性糖尿病家兔体重的影响

组别 Group	给药前体重 Before admnistratio	灌胃后体重 Body weight after adm inistration				
		第 1 周 First week	第 2 周 Second week	第 3 周 Third week	第 4 周 Forth week	第 5 周 Fifth week
空白 NC	1.89±0.35(8)	1.95±0.21(8)	2.03±0.16(8)	2.10±0.22(8)	2.20±0.23(8)	2.27±0.22(8)
糖尿病模型 TNB	1.84±0.32(16)	1.76±0.24(13)a	1.62±0.25(10)A	1.55±0.32(9)A	1.48±0.25(9)A	1.35±0.46(7)A
水提组 Water extracts	1.78±0.34(16)	1.74±0.26(13)a	1.65±0.30(11)	1.60±0.28(10)	1.63±0.21(9)	1.65±0.26(9)
醇提组 Ethanol extracts	1.81±0.22(16)	1.76±0.23(14)	1.68±0.28(14)	1.66±0.32(13)	1.72±0.16(12)b	1.78±0.22(12)b
消渴丸组 XKP	1.87±0.18(16)	1.81±0.24(13)	1.72±0.17(13)	1.64±0.24(12)	1.65±0.25(11)	1.67±0.22(10)

注: a 表示与空白对照组相比差异显著 ($P < 0.05$)。下表同。
Note: a mean significantly different to control group ($P < 0.05$). The following table is the same

2.3 青钱柳提取物对实验性糖尿病家兔葡萄糖耐量的影响

由表 3 可见, 给予家兔葡萄糖 0.5 h 后, 青钱柳提取物组和消渴丸组的血糖值都不同程度地低于糖尿病模型对照组; 而给予葡萄糖 1 h 后, 青钱柳提取物组家兔的血糖浓度明显低于糖尿病模型对照组, 说明青钱柳可增强四氧嘧啶糖尿病小鼠的葡萄糖耐受能力, 并能较快地抑制餐后血糖的上升。

表 3 灌饲青钱柳提取物后家兔的葡萄糖耐量

组别 Group	数量/只 Number	给药后血糖浓度/(mmol · L ⁻¹) Glucose concentration after adm inistration			
		0 h	0.5 h	1 h	2 h
空白组 NC	8	5.93±0.2	9.86±2.8	6.10±1.5	5.95±1.1
糖尿病模型组 TNB	7	21.92±2.8(7)a	23.84±5.6	24.55±5.1	22.34±4.8
水提组 Water extracts	9	16.69±5.3(9)b	20.9±2.6	19.4±3.7b	17.4±3.1b
醇提组 Ethanol extracts	12	9.49±4.6(12)B	17.6±4.7	13.8±2.5B	11.2±2.6B
消渴丸组 XKP	10	11.12±5.4(10)B	19.7±3.3	18.3±2.8B	15.5±2.4B

3 讨 论

1) 四氧嘧啶是一种特异性的胰岛 β 细胞毒剂, 可选择性地损伤多种动物的细胞, 如兔、小鼠、大鼠、狗、猫等, 引起实验性糖尿病^[6]。从营养学研究范畴, 模拟建立一种轻型的或隐匿的无症状期糖尿病动物模型更具应用价值。本试验选用纯种日本大耳白兔为实验动物, 对家兔耳缘静脉注射 110 mg/kg 四氧嘧啶, 造模时有部分家兔因血糖浓度过高而死亡, 故建议在实验中采用的静脉注射剂量应低于 110 mg/kg。家兔在静脉注射四氧嘧啶 3 d 后出现多尿、多饮、多食和体重减少的“三多一少”典型症状。从本实验结果可见, 在 5 周实验中, 糖尿病模型对照组的血糖浓度一直处于较高水平, 波动范围小, 表明糖尿病模型的建立是成功的。

2) 青钱柳叶的主要化学成分是三萜、甾体类化合物、内酯、香豆精、皂甙、黄酮、氨基酸, 还有丰富的钾、镁、锌等矿质元素。茅彩萍等^[7]认为, 上述物质能参与人体糖代谢, 具有降血糖作用; 谢明勇等^[8]认为, 青钱柳中所含的甾体类化合物及内酯等成分可能有抑制血糖升高的作用; 何明等^[9]用梅山降糖神茶(以青钱柳作为主料)对四氧嘧啶糖尿病大、小鼠的研究发现, 其可明显降低大鼠空腹的血糖值, 但对

正常大、小鼠的血糖无明显影响, 提示引起血糖反应的可能性较小, 比较安全, 且对葡萄糖的冲击耐受力较强。本实验采用常规水煎法和体积分数 70% 乙醇热回流法提取青钱柳干叶, 分别获得青钱柳水提取物和青钱柳醇提取物, 提取获得率为 10.0% 左右。从本实验的结果可以看出, 青钱柳提取物对糖尿病家兔空腹血糖均有不同程度的降低作用。在对家兔灌饲青钱柳提取物(8 g/(kg · d))2 周后, 家兔的血糖浓度低于糖尿病模型对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 说明青钱柳发挥降血糖作用的时效性比较迅速, 其原因可能是青钱柳提取物中的某些成分刺激残存的 β 细胞分泌胰岛素。在灌胃 3 周后, 这几组的血糖浓度又反弹升高(其中原因还有待于今后进一步研究), 青钱柳水提取物组和消渴丸组与糖尿病模型对照组相比, 差异不显著, 但青钱柳醇提取物组的血糖浓度比糖尿病模型对照组低, 且差异显著 ($P < 0.05$); 在灌胃 4 和 5 周后, 灌饲青钱柳提取物家兔的血糖浓度明显低于糖尿病模型对照组, 其中青钱柳醇提取物效果最好 ($P < 0.01$)。

3) 从本实验结果还可以看到, 糖尿病模型对照组的体重明显低于空白对照组, 差异达极显著水平 ($P < 0.01$), 这是因为胰岛的结构被破坏, 不能正常代谢葡萄糖, 造成机体的能量出现负代谢, 引起机体

消瘦,这也是糖尿病患者的典型症状。灌饲青钱柳提取物组和消渴丸组的体重也会下降,但 t 检验结果表明,其可减缓实验性糖尿病家兔体重的下降,其中,青钱柳醇提组家兔在灌胃第4周开始后体重逐渐升高,在灌胃第5周后,与糖尿病模型对照组相比,差异达显著水平($P < 0.05$)。而糖耐量试验说明,青钱柳能较快地抑制采食后家兔血糖的上升,对试验性家兔的糖耐量具有显著的增强作用。青钱柳提取物组的有关指标与消渴丸组相当,这也说明青

钱柳对于治疗糖尿病,或用于控制糖尿病来说是一种值得开发的资源。

4) 糖尿病病因复杂,包括遗传因素、环境因素等。糖尿病患者的饮食治疗非常重要,饮食成分结构的不合理是诱发Ⅱ型糖尿病的主要原因之一。本实验的结果表明,青钱柳具有显著的降低血糖作用,将其制成预防糖尿病的功能性食品,一定具有广阔的应用前景。

[参考文献]

- [1] 张之佳,洪伯铿,张拥军. 超细南瓜粉对家兔实验性糖尿病作用的研究[J]. 中国粮油学报, 1998, 13(2): 52- 56
- [2] 冷任轩. 青钱柳的基础理论研究和临床观察[J]. 江西中医药, 1994, 25(2): 64- 65
- [3] 黄敬耀. 摇钱树叶的药理研究[J]. 中药通报, 1986, 11(11): 61
- [4] 舒任庚,徐昌瑞,黎莲娘. 青钱柳甜味成分的研究[J]. 药学学报, 1995, 30(10): 757- 760
- [5] 徐淑云,卞如濂,陈修. 药理实验方法[M]. 第2版. 北京:人民卫生出版社, 1991. 1269- 1279
- [6] 朱清华,祝庆蕃. 实验动物学[M]. 广州:广东高等教育出版, 1991. 136- 156
- [7] 茅彩萍,顾镇纶. 具有降血糖作用植物的研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2001, 20(5): 1- 4
- [8] 谢明勇,李磊. 青钱柳化学成分和生物活性研究概况[J]. 中草药, 2001, 34(4): 365- 366
- [9] 何明,涂长春,黄起壬,等. 梅山神茶对四氧嘧啶糖尿病大鼠的降糖作用[J]. 中国药理学杂志, 1996, 31(12): 723- 726

Hypoglycemic effects of *Cyclocarya paliurus* (Batal) *Iljinsk* extracts on diabetic rabbit

SHANGGUAN Xin-chen^{1,2}, CHEN Jin-ping¹, WU Shao-fu²,
HUANG Zhan-wang², TANG Kai-jie², SU Hui-guo², XU Min-sheng²

(1 Food Engineering Department of Shanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062, China;

2 Food Science and Engineering Department of Jiangxi Agricultural University, Nanchang, Jiangxi 330045, China)

Abstract: Based on the changes of glucose, body weight and glucose tolerance, the hypoglycemic effects of *Cyclocarya paliurus* (batal) *Iljinsk* extracts on diabetic rabbits were detected after administered with 8 g ethanol and water extracts in each kg of body weight, respectively. The results showed that: during 5 week's experiment, the glucose concentration of extract groups were significantly lower than alloxan group's, and the effect of ethanol extract was better than the water extract. The extracts can slow the body weight loss of diabetic rabbits, and can improve the glucose tolerance of diabetic rabbits.

Key words: *Cyclocarya paliurus* (batal) *Iljinsk*; extracts; diabetic rabbits; reducing blood sugar