

苦荞黄酮提取物对2型糖尿病模型大鼠血糖与血脂的影响^Δ

刘薇芝^{1*}, 刘巍^{1#}, 胡汉昆¹, 郑艳¹, 田晗² (1. 武汉大学中南医院, 武汉 430071; 2. 中南民族大学药学院, 武汉 430071)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)04-0470-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.04.13

摘要 目的: 研究苦荞黄酮提取物对2型糖尿病模型大鼠血糖与血脂的影响。方法: 大鼠一次性腹腔注射链脲佐菌素(30 mg/kg)联合高脂高糖饮食复制大鼠2型糖尿病模型。60只SD大鼠随机均分为正常对照(等容生理氯化钠溶液)组、模型(等容生理氯化钠溶液)组、二甲双胍(300 mg/kg)组与苦荞黄酮提取物高、中、低剂量(1 000、500、250 mg/kg)组, 灌胃给药, 每天1次, 连续4周。检测大鼠空腹血糖值, 绘制时间-血糖曲线以计算大鼠时间-血糖曲线下面积(AUCG); 检测大鼠血清胰岛素(INS)与血浆总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)水平。结果: 与正常对照组比较, 模型组大鼠空腹血糖值升高, AUCG、INS、TC、TG水平升高, 差异均具有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较, 苦荞黄酮提取物高、中、低剂量组大鼠空腹血糖值降低, AUCG、INS、TC、TG水平降低, 差异均具有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论: 苦荞黄酮提取物可降低2型糖尿病模型大鼠血糖与血脂水平。

关键词 苦荞黄酮提取物; 大鼠; 2型糖尿病; 血糖; 总胆固醇; 甘油三酯; 胰岛素

Effects of *Fagopyrum tataricum* Flavonoids Extracts on Blood Glucose and Lipid in Type II Diabetes Mellitus Rats

LIU Wei-zhi¹, LIU Wei¹, HU Han-kun¹, ZHENG Yan¹, TIAN Han² (1. Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China; 2. College of Pharmacy, South Central University for Nationalities, Wuhan 430071, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study effects of *Fagopyrum tataricum* flavonoids extracts on blood glucose and lipid in type II diabetes mellitus (T2DM) rats. METHODS: Rats were given single intraperitoneal injection of streptozotocin (30 mg/kg) combined with high fat and sugar to induce T2DM model. 60 SD rats were randomly divided into normal control group (constant volume of sodium chloride solution), model group (constant volume of sodium chloride solution), metformin group (300 mg/kg), *F. tataricum* flavonoids extracts high-dose, medium-dose and low-dose groups (1 000, 500, 250 mg/kg). They were given relevant medicine intragastrically once a day for consecutive 4 weeks. The fasting blood glucose of rats was detected, and time-blood glucose curves were drawn to analyze AUCG statistically. The levels of serum INS, plasma TC and TG in rats were determined. RESULTS: Compared with normal control group, fasting blood glucose, AUCG, INS, TC and TG were increased in model group; there was statistical significant difference ($P < 0.01$). Compared with model group, fasting blood glucose, AUCG, INS, TC and TG were decreased in *F. tataricum* flavonoids extracts high-dose, medium-dose and low-dose groups; there was statistical significant difference ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). CONCLUSIONS: *F. tataricum* flavonoids extracts can decrease the blood glucose and lipid in T2DM rats.

KEYWORDS *Fagopyrum tataricum* flavonoids extracts; Rats; Type II diabetes mellitus; Blood glucose; TC; TG; Insulin

糖尿病(Diabetes mellitus, DM)是一组代谢性临床综合征。依据第17届国际糖尿病大会报道, 全球已确诊1.5亿患者, 预测到2025年该数目将增至3亿, 其中2型糖尿病(T2DM)占90%以上, 并且呈现逐年上升趋势^[1-2]。苦荞[*Fagopyrum tataricum* (linn) Gaertn]又名鞑靼荞, 是荞麦的一个栽培品种, 属于双子叶蓼科荞麦属, 为一年生草本植物。苦荞具有防治心脑血管硬化、促进消化吸收、增强机体免疫力的作用。研究表明, 苦荞对糖尿病有较好的疗效, 而苦荞黄酮是其主要的药效成分之一^[3]。本研究采用链脲佐菌素(STZ)联合高脂高糖饮食复制大鼠2型糖尿病模型^[4-5], 采用空腹血糖、葡萄糖耐量、血清胰岛素(INS)、甘油三酯(TG)以及总胆固醇(TC)多个指标, 综合

评价苦荞黄酮提取物对2型糖尿病模型大鼠的治疗作用, 为苦荞黄酮提取物治疗2型糖尿病的临床应用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

AG 5804R22331 型聚合酶链反应(PCR)仪(德国Eppendorf公司); 稳豪型血糖仪(美国强生公司); TGL-20B型高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂); InfiniteM200型多功能酶标仪(德国Tecan公司)。

1.2 药品与试剂

STZ(美国Sigma公司, 批号:S0130, 规格:1 g/瓶); 苦荞黄酮提取物(西安塞纳生物技术有限公司, 批号:20130105, 纯度:70%); 盐酸二甲双胍片(北京中惠药业有限公司, 批号:20120504, 规格:0.25 g/片); TG试剂盒(批号:20121105)、TC试剂盒(批号:20121010)、INS试剂盒(批号:20121112)均购自北京北化康泰临床试剂有限公司。

1.3 动物

清洁级SD大鼠, ♂, 体质量(210 ± 10) g, 由华中科技大学

Δ 基金项目: 湖北省科技计划自然科学基金计划项目(No. 2011CDB526)

* 主管药师。研究方向: 中药药理学。E-mail: liuweizhi2001@126.com

通信作者: 副主任药师。研究方向: 中药药理学。E-mail: 258951370@qq.com

同济医学院动物实验中心提供[实验动物使用许可证号: SCXK(鄂)2010-0009]。所有大鼠12 h交替照明饲养,室温为(25±1)℃,湿度为60%~70%。动物实验和处理均遵照文献[6]。

2 方法

2.1 复制模型与分组、给药

以高糖饮用水(12%果糖水,即将120 g果糖溶于1 000 ml蒸馏水中)与高脂饲料喂养大鼠^[4],2周后一次性ip给予STZ(30 mg/kg)以复制大鼠2型糖尿病模型;正常对照组大鼠ip给予等容柠檬酸钠-柠檬酸缓冲液。复制模型72 h后,大鼠尾静脉取血检测,血糖值>16.7 mmol/L为复制模型成功^[2]。60只SD大鼠随机均分为6组,即正常对照(等容生理氯化钠溶液)组、模型(等容生理氯化钠溶液)组、二甲双胍(300 mg/kg)组与苦荞黄酮提取物高、中、低剂量(1 000、500、250 mg/kg)组,ig给药,每天1次,连续4周。给药剂量依据参考文献[7]。

2.2 大鼠空腹血糖值与糖耐量检测^[8]

给药7、14、21、28 d时检测大鼠空腹血糖:每次测定前,大鼠禁食12 h,尾静脉采血,采用血糖仪测定其空腹血糖。给药28 d后,同上禁食处理,大鼠ig给予葡萄糖(2 000 mg/kg),测定糖负荷后15、30、60、120 min各时间点的血糖值,绘制口服糖耐量实验的时间-血糖曲线,计算时间-血糖的曲线下面积(AUCG)。

2.3 大鼠血浆TC、TG与血清INS的检测

末次给药后,大鼠ip给予0.3%戊巴比妥钠(10 ml/kg)麻醉,随后摘眼球取血。部分全血以离心半径为10 cm、3 500 r/min离心15 min,获取血清,按试剂盒说明书检测大鼠血清INS水平。部分全血以乙二胺四乙酸盐(EDTA)抗凝,4℃下静置20 min后,以离心半径为10 cm、1 500 r/min离心15 min,获取血浆,按试剂盒说明书检测TC和TG水平。

2.4 统计学方法

采用SPSS11.5软件处理实验数据。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间单因素比较先用单因素分析其正态分布,后以LSD法进行统计。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠空腹血糖值的检测结果

与正常对照组比较,在复制模型后第7、14、21、28天时模型组大鼠空腹血糖值升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,二甲双胍组与苦荞黄酮提取物高、中、低剂量组大鼠空腹血糖值降低,差异有统计学意义($P < 0.01$),结果见表1。

表1 各组大鼠空腹血糖值的检测结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 1 Fasting blood glucose results of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量, mg/kg	空腹血糖, mmol/L			
		给药7 d	给药14 d	给药21 d	给药28 d
正常对照组		5.53±0.71	5.60±0.67	5.45±0.42	5.55±0.37
模型组		23.28±3.16*	24.10±2.30*	19.38±3.22*	21.20±3.46*
苦荞黄酮提取物低剂量组	250	17.15±2.47 [#]	13.78±3.28 [#]	10.00±3.01 [#]	9.75±3.27 [#]
苦荞黄酮提取物中剂量组	500	15.10±3.36 [#]	11.73±4.13 [#]	7.67±3.84 [#]	7.20±2.84 [#]
苦荞黄酮提取物高剂量组	1 000	16.70±3.02 [#]	11.60±3.52 [#]	10.03±2.85 [#]	6.15±2.65 [#]
二甲双胍组	300	14.95±2.58 [#]	10.45±3.06 [#]	6.60±2.25 [#]	5.80±0.53 [#]

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.01$; vs. model group, [#] $P < 0.01$

0.01

3.2 各组大鼠糖耐量的检测结果

通过时间-血糖曲线并计算AUCG。与正常对照组比较,模型组大鼠AUCG增加,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,二甲双胍组与苦荞黄酮提取物高、中、低剂量组大鼠AUCG减少,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。各组大鼠糖耐量实验的时间-血糖曲线见图1,AUCG结果见表2。

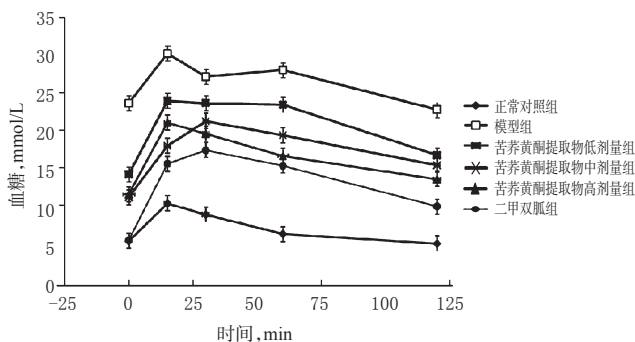


图1 各组大鼠糖耐量实验的时间-血糖曲线($n = 10$)

Fig 1 The glucose blood-time curve of rats' glucose tolerance in each group ($n = 10$)

表2 各组大鼠AUCG、血浆TC、TG与血清INS水平的检测结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 2 Results of AUCG, serum insulin, serum triglyceride and total cholesterol of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	AUCG, min·mmol/L	INS, μ U/L	TC, mmol/L	TG, mmol/L
正常对照组	13.55±1.18	9.17±3.61	1.26±0.27	0.41±0.04
模型组	53.14±4.82*	67.34±20.22*	7.53±1.79*	10.08±1.13*
苦荞黄酮提取物低剂量组	39.50±13.06 [#]	38.44±21.36 [#]	3.54±1.35 [#]	3.40±1.54 [#]
苦荞黄酮提取物中剂量组	36.01±12.78 [#]	31.67±18.52 [#]	2.91±1.74 [#]	4.00±1.09 [#]
苦荞黄酮提取物高剂量组	34.22±13.26 [#]	28.08±16.79 [#]	3.59±1.35 [#]	2.28±1.71 [#]
二甲双胍组	27.45±6.08 [#]	16.09±8.67 [#]	2.41±0.53 [#]	1.17±0.28 [#]

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.01$; vs. model group, [#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

3.3 各组大鼠血浆TC、TG与血清INS的检测

与正常对照组比较,模型组大鼠血浆TC、TG含量增加,血清INS活性增强,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,二甲双胍组与苦荞黄酮提取物高、中、低剂量组大鼠血浆TC、TG含量减少,血清INS活性减弱,差异有统计学意义($P < 0.01$),结果见表2。

4 讨论

本研究采用空腹血糖水平、葡萄糖耐量、血清INS及血浆TC、TG等多个指标综合评价苦荞黄酮提取物对STZ联合高脂高糖复制2型糖尿病模型大鼠的保护作用,从而对苦荞黄酮提取物对2型糖尿病的治疗效果提出科学的参考依据。空腹血糖与葡萄糖耐量是临床上的重要及常用的指标,反映机体胰岛B细胞的功能,代表着基础胰岛素的分泌能力^[8]。另外,监测INS水平是临床上诊断糖尿病的重要可靠方法,也是反映胰岛B细胞分泌功能的重要指标。流行病学调查提示,随着中国社会人口的老齡化及高脂高糖的不良饮食习惯,高脂高糖饮食是导致胰岛素抵抗和糖尿病发病的高度危险因素^[9-10]。由于大部分2型糖尿病患者同时具有葡萄糖以及脂质代谢紊乱等

病变,因此对TG以及TC的检测可较好地反映苦荞黄酮提取物的治疗效果。

本研究从多个角度综合分析苦荞黄酮提取物对STZ联合高脂高糖饮食复制的2型糖尿病模型大鼠的保护作用,结果显示苦荞黄酮提取物可明显下调模型大鼠的空腹血糖水平、葡萄糖耐量、血清INS水平及血浆TG、TC水平。因此本研究可为苦荞黄酮提取物对2型糖尿病的治疗提供实验依据。

参考文献

- [1] 桂莉,郭家智,曹梅,等.高脂、高胆固醇灌胃诱导2型糖尿病SD大鼠模型的实验研究[J].昆明医学院学报,2010(10):41.
- [2] 洪丽莉,许冠荪,申国明,等.SD大鼠2型糖尿病模型的建立[J].实验动物科学与管理,2005,15(6):379.
- [3] 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):111.
- [4] 王俊贤,李小军,刘跃辉,等.高糖、高脂诱导大鼠肝脏胰岛素抵抗评价[J].中国药师,2012,15(6):747.
- [5] 王海彬,王东华,张铁民.善人丹超微粉对糖尿病大鼠视网膜VEGF蛋白表达的影响[J].中国药房,2011,22(23):

2 199.

- [6] Janet C, Wayne R, Joseph T, et al. *Guide for the care and use of laboratory animals*[M]. Washington: National Academics Press, 2011: 1-220.
- [7] 王敏,魏益民,高锦明.苦荞麦总黄酮对高脂血症大鼠血脂和抗氧化作用的影响[J].营养学报,2006,28(6):502.
- [8] Carnevale Schianca GP, Rossi A, Sainaghi PP, et al. The significance of impaired fasting glucose versus impaired glucose tolerance: importance of insulin secretion and resistance[J]. *Diabetes Care*, 2003, 26(5): 1 333.
- [9] Virally M, Blickle JF, Girard J, et al. Type diabetes mellitus: epidemiology, pathophysiology, unmet needs and therapeutical perspectives[J]. *Diabetes Metab*, 2007, 33(4):231.
- [10] Campbell IW. Epidemiology and clinical presentation of type diabetes[J]. *Value Health*, 2000, 3(1):3.

(收稿日期:2014-03-09 修回日期:2014-06-24)

(编辑:张 静)

国家食品药品监督管理总局发布《食品安全抽样检验管理办法》

本刊讯 为规范食品安全抽样检验工作,加强食品安全监督管理,推进依法行政,保障公众身体健康和生命安全,2014年9月29日,国家食品药品监督管理总局(以下简称药监局)局务会议审议通过《食品安全抽样检验管理办法》(以下简称《办法》),于12月31日由药监局局长签署总局第11号令并公布,自2015年2月1日起施行。《办法》共七章五十三条,规定了食品安全抽样检验的原则、计划、抽样、检验、处理、法律责任等方面的内容。

在《办法》制订过程中,药监局坚持问题导向和制度创新,针对原来多环节多部门食品安全抽样检验工作存在的计划分散重复、内容交叉、数据缺乏有效利用等问题,确立了“统一制订计划、统一组织实施、统一数据汇总分析、统一结果利用”的总体思路。在充分调研论证的基础上,对食品安全抽样检验工作的计划、抽样、检验、复检、结果处理、信息发布等进行创新,进一步强化食品生产经营者的主体责任和检验机构诚实守信的义务,增强食品安全抽样检验工作的科学性、规范性,提高食品安全监管工作的权威性和有效性。

《办法》在以下几个方面进行了改革和创新:

一是强化食品生产经营者的主体责任。《办法》要求食品生产者应当依法配合药监部门组织实施的食品安全抽样检验工作,同时要求食品生产者收到不合格检验结论后,应当立即采取封存库存问题食品,暂停生产、销售和使用问题食品等措施控制食品安全风险。

二是强化食品检验机构的法律义务。《办法》规定承检机构应当对检验工作负责,按照食品检验技术要求开展检验工作,如实、准确、完整、及时地填写检验原始记录,保证检验工作的科学、独立、客观和规范。

三是强化监管部门的主动作为。《办法》规定在案件稽查、事故调查、应急处置工作中,抽样可不受抽样数量、抽样地点、被抽检企业是否具备合法资质等限制,检验结论的通报和报告可以不受《办法》规定时限的限制,可采用非食品安全标准

等规定的检验项目和检验方法分析查找食品安全问题的原因。

四是完善不合格检验结论的报告通报程序。《办法》规定检验结论不合格的,承检机构应当在检验结论作出后2个工作日内报告组织或者委托实施监督抽检的食品药品监管部门。抽样检验结论表明不合格食品可能对身体健康和生命安全造成严重危害的,药监部门和承检机构应当按照规定立即报告或者通报。检验结论表明不合格食品含有违法添加的非食用物质,或者存在致病性微生物、农药残留、兽药残留、重金属以及其他危害人体健康的物质严重超出标准限量等情形的,应当逐级报告至国家食品药品监督管理总局。

五是完善不合格检验结论的复检程序。《办法》规定被抽检的食品生产经营者和标称的食品生产者可自收到食品安全监督抽检不合格检验结论之日起5个工作日内,依照法律规定提出书面复检申请。复检机构应当在收到备份样品之日起10个工作日内作出复检结论。

六是简化真实性异议的处置程序。《办法》规定食品生产者对抽样产品真实性有异议的,应当自收到不合格检验结论通知之日起5个工作日内,向组织或者实施食品安全监督抽检的食品药品监管部门提出书面异议审核申请,并提交相关证明材料。

七是强化依法调查处理不合格检验结论的职责。《办法》要求地方食品药品监管部门收到监督抽检不合格检验结论后,应当及时对不合格食品及其生产经营者进行调查处理,督促食品生产者履行法定义务,并将相关情况记入食品生产者食品安全信用档案。

八是完善抽样检验信息的公布程序。《办法》要求国家和省级食品药品监管部门应当汇总分析食品安全监督抽检结果,并定期或者不定期组织对外公布。对可能产生重大影响食品安全监督抽检信息,县、市级食品药品监管部门发布信息前应当向省级食品药品监管部门报告。