

- 胞向成骨分化的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2005, 16 (3): 1-4.
- [11] 李熙灿, 谢学明, 黄春花, 等. 龟板提取物对大鼠骨髓间充质干细胞氧化损伤的修复及其抗脂质过氧化作用 [J]. 中草药, 2007, 38(7): 1043-1046.
- [12] 陈薇, 曾和平, 王春燕, 等. 中药龟板提取物化学成分及其调控鼠骨髓间充质干细胞 (rMSCs) 增殖活性的实验研究 [J]. 化学学报, 2007, 65(3): 265-270.
- [13] Conget P A, Minguell J J. Phenotypical and functional properties of human bone marrow mesenchymal progenitor cell [J]. *J Cell Physiol*, 1999, 181(1): 67-73.
- [14] Service R F. Tissue engineers build new bone [J]. *Science*, 2000, 289: 1498-1450.
- [15] Zeng H P, Wang T T, Yang X H, et al. 8-Hydroxyquinoline derivatives induced the proliferation of rat mesenchymal stem cells (rMSCs) [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14: 5446-5450.
- [16] Carvey P M, Ling Z D, Sortwell C E, et al. A clonal line of mesencephalic progenitor cells converted to dopamine neurons by hematopoietic cytokines: a source of cells for transplantation in Parkinson's disease [J]. *Exp Neurol*, 2001, 171(1): 98-108.
- [17] Conget P A, Minguell J J. Phenotypical and functional properties of human bone marrow mesenchymal progenitor cell [J]. *J Cell Physiol*, 1999, 181(1): 67-73.
- [18] Bruder S P, Jaiswal N, Haynesworth S E, et al. Growth kinetics, self-renewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation [J]. *J Cell Biochem*, 1997, 64(2): 278-294.
- [19] Ostuka E, Yamaguchi A, Hirose S, et al. Characterization of osteoblastic differentiation of stromal cell line ST2 that is induced by ascorbic acid [J]. *Am J Physiol*, 1999, 277(46): C132-C138.
- [20] Holick M F. Vitamin D: A millennium perspective [J]. *J Cell Biochem*, 2003, 88(2): 296.

委陵菜黄酮对正常小鼠及四氧嘧啶所致糖尿病小鼠血糖与血脂的影响

乔卫, 赵川, 卢滨, 张彦文, 段宏泉*

(天津医科大学药学院 基础医学研究中心, 天津 300070)

摘要:目的 研究委陵菜黄酮对正常小鼠及四氧嘧啶糖尿病模型小鼠血糖、血脂的影响。方法 以四氧嘧啶制备糖尿病小鼠模型, 糖尿病小鼠分别给予反式和顺式委陵菜黄酮, 按照不同剂量连续给药 15 d, 采血测量空腹血糖, 测定血清甘油三酯 (TG) 和总胆固醇 (TC) 水平, 并观察各组小鼠胰腺组织病理学的改变。结果 委陵菜黄酮可显著降低实验性糖尿病小鼠的血糖、TG 和 TC 水平, 且胰腺组织病理学较模型组均有不同程度的改善。结论 委陵菜黄酮对四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠具有降血糖和降血脂的作用, 但对正常小鼠的血糖、血脂没有影响。

关键词:委陵菜黄酮; 糖尿病; 血脂

中图分类号: R286.72

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)04-0612-03

委陵菜 *Potentilla chinensis* Ser., 别名翻白草、白头翁、痢疾草等, 属蔷薇科委陵菜属, 为多年生草本, 全草及根入药。有清热润燥, 凉血解毒, 止血消肿, 止痢之功效; 多用于治疗痢疾、疟疾、痈肿、各种出血^[1]。临床上多以其单方或复方治疗糖尿病, 此外委陵菜还有抗菌, 增强免疫的作用。

本课题组前期已经从委陵菜中分离筛选出具有抗糖尿病作用的活性成分: 椴树苷 (tiliroside^[2]), 委陵菜黄酮, 反式和顺式委陵菜黄酮, 即山柰酚-3-*O*-*D*-(6-*O*-*trans*-对羟基桂皮酰基) 葡萄糖苷和山柰酚-3-*O*-*D*-(6-*O*-*cis*-对羟基桂皮酰基) 葡萄糖苷^[3,4]。本实验拟研究这两种委陵菜黄酮对正常小鼠及四氧嘧啶所致糖尿病小鼠血糖、血脂的影响, 并

探讨其作用机制, 以阐明委陵菜的物质基础。

1 材料

1.1 实验动物: 昆明种小鼠, 雌雄兼用, (24 ± 2) g, 由军事医学科学院实验动物中心提供, 许可证号 SCXK(军) 2002-001。实验前在实验室适应饲养 1 周, 室温 (22 ± 2) °C, 相对湿度 65% ~ 70%。日光照 12 h, 自由饮食、摄水。

1.2 药品、试剂与仪器: 顺式和反式委陵菜黄酮, 自制, 高效液相色谱法测定其质量分数分别为 94.7%、98.4% (峰面积归一化法), 四氧嘧啶 (Sigma 公司), 盐酸二甲双胍片 (天津太平洋制药公司, 批号 061104)。甘油三酯 (TG) 试剂盒、总胆固醇 (TC) 试剂盒 (中生北控生物科技有限公司)。血糖

收稿日期: 2009-06-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30772635); 天津市自然科学基金资助项目 (07GCZDJ05100)

作者简介: 乔卫 (1968—), 女, 天津人, 副教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事中药药理学研究。

Tel: (022) 23529181 E-mail: qiaowei@tjmu.edu.cn

仪(美国强生 ONETOUCH Ultra),低速自动平衡离心机(河北省安新县离心机厂),UV-240 紫外分光光度计(日本岛津)。

2 方法

2.1 四氧嘧啶糖尿病小鼠模型的建立^[3]:将小鼠禁食(不禁水)约 12 h 后,尾 iv 新配制的四氧嘧啶溶液 70 mg/kg,60 h 后再禁食(不禁水)12 h,剪尾尖取血,用血糖仪测血糖值,血糖值大于 11.1 mmol/L 的小鼠为实验性糖尿病模型。

2.2 动物分组及给药方法:实验动物共分为 9 组。其中糖尿病模型小鼠,按血糖值分层随机分成 7 组,给药组分别给予反式委陵菜黄酮(1.6、0.8、0.4、0.1 mg/kg)、顺式委陵菜黄酮(0.4 mg/kg)、盐酸二甲双胍(125 mg/kg),模型组给予蒸馏水(10 mL/kg)。另取正常小鼠,随机分为两组,一组给予反式委陵菜黄酮(0.4 mg/kg),另外一组为对照组。各组连续 ig 给药 15 d。

2.3 测定指标及方法:末次给药前禁食不禁水,

12 h 后,剪尾尖取血,血糖仪测血糖值。眼眶静脉丛取血,离心 10 min,取血清,按试剂盒方法测定血清中 TC 和 TG 的浓度。处死动物后剖开腹腔,分离取出胰腺组织,10% 福尔马林液固定,常规染色,光镜下进行病理组织学检查。

2.4 统计学分析:数据以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示,采用单因素方差分析进行组间检验,数据由 SPSS 15.0 软件处理。

3 结果

3.1 对四氧嘧啶所致糖尿病小鼠体质量的影响:从表 1 可以看出,四氧嘧啶造模后,模型组小鼠体质量与对照组相比显著减轻。给药 15 d 后,反式委陵菜黄酮 4 个剂量组和顺式委陵菜黄酮组小鼠的体质量虽比模型组高,但无显著差异,说明委陵菜黄酮不能显著影响实验性糖尿病小鼠的体质量。

3.2 对四氧嘧啶所致糖尿病小鼠血糖的影响:从表 1 可以看出,糖尿病小鼠经委陵菜黄酮治疗 7 d 后,仅反式委陵菜黄酮 1.6 mg/kg 组与模型组比较,空

表 1 各组给药前后小鼠体质量和空腹血糖比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of body weight and fasting blood glucose of mice in all groups by pre- and post- administration ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	动物/ 只	体质量/g			血糖值/(mmol·L ⁻¹)		
			给药前	给药后 7 d	给药后 15 d	给药前	给药后 7 d	给药后 15 d
反式委陵菜黄酮	1.6	9	24.03 ± 2.76	28.21 ± 2.64	28.16 ± 3.16	29.59 ± 3.49	24.53 ± 2.91*	20.72 ± 3.26**
	0.8	10	24.10 ± 3.80	26.92 ± 3.85	27.54 ± 3.80	28.87 ± 5.01	25.38 ± 3.87	21.68 ± 4.66**
	0.4	10	22.61 ± 2.34	27.09 ± 2.88	27.79 ± 3.43	29.02 ± 5.45	25.64 ± 5.48	22.43 ± 4.01*
	0.1	10	22.75 ± 3.02	27.59 ± 4.42	26.85 ± 5.46	29.79 ± 3.00	27.11 ± 3.09	24.56 ± 3.34
顺式委陵菜黄酮	0.4	9	24.23 ± 2.56	28.07 ± 4.26	27.26 ± 4.73	29.38 ± 3.14	25.69 ± 3.52	22.16 ± 5.01*
模型	-	10	24.25 ± 1.63	27.41 ± 2.35	26.23 ± 3.52	28.69 ± 4.19	27.46 ± 2.73	26.41 ± 4.17
二甲双胍	125	10	24.24 ± 3.77	27.88 ± 3.13	27.94 ± 3.51	29.80 ± 2.22	25.23 ± 2.38	23.00 ± 3.59*
反式委陵菜黄酮(正常小鼠)	0.4	10	27.55 ± 4.46*	32.00 ± 5.50**	33.37 ± 4.62**	6.54 ± 2.53**	4.93 ± 1.09	4.68 ± 1.27**
对照	-	10	28.95 ± 4.42**	33.40 ± 4.20**	35.25 ± 5.20**	5.22 ± 0.51**	6.12 ± 1.14	6.74 ± 1.51**

与模型组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01; 与反式委陵菜黄酮(0.1 mg·kg⁻¹)组比较: P < 0.05

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs model group; P < 0.05 vs *P. chinensis* flavones (0.1 mg·kg⁻¹) group

腹血糖显著降低(P < 0.05),其余各组均无显著差异。糖尿病小鼠经委陵菜黄酮治疗 15 d 后,与给药前空腹血糖相比均显著降低(P < 0.05、0.01);反式委陵菜黄酮各剂量组与模型组比较空腹血糖亦显著降低(P < 0.05、0.01),并且反式委陵菜黄酮的降血糖作用呈现一定的剂量相关性。正常小鼠经反式委陵菜黄酮作用后,与对照组及同组给药前比较均无显著差异,说明反式委陵菜黄酮对正常小鼠的血糖水平不产生影响。

3.3 对四氧嘧啶所致糖尿病小鼠血脂的影响:从表 2 可以看出,给药后,反式委陵菜黄酮 4 个剂量组和顺式委陵菜黄酮组的 TC 和 TG 水平与模型组比较均有显著差异(P < 0.01、0.05)。反式委陵菜黄酮各剂量组随着剂量增加和水平呈现逐步

降低的趋势。而给药后反式委陵菜黄酮 4 个剂量组和顺式委陵菜黄酮组同二甲双胍组的两个指标比较均无显著差异,说明在一定程度上,委陵菜黄酮可以达到盐酸二甲双胍在降低 TC 和 TG 方面的效果。并且两个指标分别与对照组比较均无显著差异,说明作用效果显著,可以部分纠正糖尿病造成的脂代谢异常,使糖尿病小鼠的 TC 和 TG 达到正常小鼠的水平。正常小鼠给药组同对照组及同组给药前比较均无显著差异,说明反式委陵菜黄酮对正常小鼠的 TC 和 TG 水平不产生影响。

3.4 病理学检查结果:对照组切片胰岛数目较多,轮廓规则整齐,胰岛内细胞排列整齐,胞浆饱满,细胞界限清楚,胰岛内充满蓝色的细胞分泌颗粒,细胞排列紧凑、整齐分布均匀。模型组切片胰岛数目较

表 2 委陵菜黄酮对正常小鼠和糖尿病小鼠血清 TC 和 TG 水平的影响 (x ±s)

Table 2 Effects of *P. chinensis* flavones on TC and TG in serum of normal mice and diabetic mice (x ±s)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	动物/ 只	TC/ (mmol · L ⁻¹)	TG/ (mmol · L ⁻¹)
反式委陵菜黄酮	1.6	9	3.14 ± 0.28 **	1.16 ± 0.59 **
	0.8	10	3.28 ± 0.93 **	1.20 ± 1.08 **
	0.4	10	3.37 ± 0.83 **	1.37 ± 0.66 *
	0.1	10	3.46 ± 1.63 **	1.55 ± 1.60 *
顺式委陵菜黄酮	0.4	9	3.80 ± 1.01 **	1.27 ± 0.57 *
模型	-	10	6.38 ± 2.69	2.53 ± 2.16
二甲双胍	125	10	4.28 ± 1.22 **	1.04 ± 0.52 **
反式委陵菜黄酮(正常小鼠)	0.4	10	2.35 ± 0.50 **	0.96 ± 0.53 **
对照	-	10	2.51 ± 0.52 **	0.77 ± 0.42 **

与模型组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01

与对照组比较: P < 0.05 P < 0.01

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs model group

P < 0.05 P < 0.01 vs control group

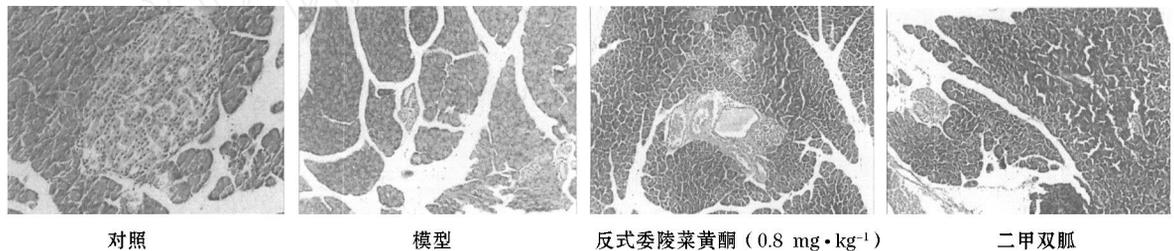


图 1 委陵菜黄酮对糖尿病小鼠胰腺组织病理改变的影响

Fig. 1 Effects of *P. chinensis* flavones on pathological changes of pancreas tissue of diabetic mice

肌,说明委陵菜黄酮可降低血糖,同时也可改善血糖升高引起的脂代谢异常,可以使 TG 和 TC 浓度恢复至正常水平。反式与顺式委陵菜黄酮同剂量(0.4 mg/kg)比较,降血糖及降 TG 和 TC 作用相似,但两组比较没有统计学上的差异,说明顺反异构并不是影响药效的因素,且在药材中反式委陵菜黄酮的量远高于顺式委陵菜黄酮的量,因此更具有研究价值。此外,病理学检查结果显示,委陵菜黄酮可明显对抗病理性糖尿病模型小鼠胰岛细胞萎缩,减轻胰岛细胞病理损伤,提示委陵菜黄酮对糖尿病模型的胰岛损伤有保护作用。综上所述,说明委陵菜黄酮作为抗糖尿病先导化合物具有广阔的应用开发前景,其抗糖尿病作用机制有待于更深入地研究。

少,胰岛内形态欠规则,细胞排列紊乱,有细胞缺失、塌陷、排列不规则。委陵菜黄酮各组切片胰岛数量有所增多,体积增大,形状规正,胰岛细胞增多,排列整齐,均有不同程度的好转。二甲双胍组胰岛形态得到改善,大致同委陵菜黄酮组切片。见图 1。

4 讨论

糖尿病是一种常见的内分泌代谢病,其病因较为复杂。近年来,研究证实,糖尿病的发病与脂质代谢异常有关^[5,6]。因此,纠正糖脂代谢紊乱是治疗糖尿病及其并发症的重要手段。本实验中糖尿病模型组小鼠的血糖、血脂显著升高,说明糖脂代谢紊乱的存在。

实验结果表明,委陵菜黄酮具有显著的降低血糖、TG 和 TC 水平的作用,效果等同于盐酸二甲双

参考文献:

- [1] 冉先德. 中华药海 [M]. 哈尔滨:哈尔滨出版社, 1996.
- [2] Kuroyanagi M, Fukuoka M, Yoshihira K, et al. Confirmation of the structure of Tiliroside, an acylated kaempferol glycoside, by ¹³C-Nuclear Magnetic resonance [J]. *Chem Pharm Bull*, 1978, 26(11): 3594-3596.
- [3] 赵川, 乔卫, 张彦文, 等. 委陵菜抗糖尿病有效部位及有效成分的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(6): 680-682.
- [4] 段宏泉, 刘普, 乔卫, 等. 委陵菜黄酮化合物提取分离方法和应用 [P]. 中国:200610015591.5, 2008-02-13.
- [5] Lawrence J M, Reld J, Taylor G J, et al. The effect of high dose atorvastatin therapy on lipids and lipoprotein subfractions in overweight patients with type 2 diabetes [J]. *Atherosclerosis*, 2004, 174(1): 141-149.
- [6] 贺星, 田红, 徐颂, 等. 糖尿病治疗药物的研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2009, 24(3): 129-133.