DOI:10.19789/j.1004-9398.2015.02.010

平卧菊三七提取物降血糖实验研究

门凤麟 王英锋* 祝 翔
(首都师范大学分析测试中心,北京 100048)

摘 要

目的:观察平卧菊三七提取物对四氧嘧啶型糖尿病小鼠的降糖作用. 方法:选用22~26 g雄性ICR小鼠,禁食时间16 h,腹腔注射200 mg/kg四氧嘧啶造模. 结果:连续给药14 d,各组均具有明显降糖效果,且能明显改善小鼠多饮多食症状. 结论:平卧菊三七提取物能很好地抑制糖尿病小鼠血糖升高,改善多饮多食症状,疗效与剂量无明显线性关系.

关键词:平卧菊三七,药理作用,降血糖作用.
中图分类号:R917

目前糖尿病在治疗上主要有注射胰岛素、口服磺酰脲类和双胍类降血糖药物等方法,但是所用药物都不同程度地存在副作用. 因此,开发和研究高效低毒,特别是从天然资源中找到既能治疗糖尿病又无副作用的药物,显得特别重要. 菊三七属Gynura Cass. 植物全世界约40种,主要分布于亚洲、非洲及澳大利亚. 可全草入药,有治疗跌打损伤、出血、大骨节病、消炎、抗疟、降血糖等功效. 国内外学者已对菊三七进行了一些化学研究,从中分离得到生物碱和甾体类化合物[1-5]. 菊三七属平卧菊三七 *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. 含有丰富的有机酸成分及黄酮类化合物,具有很好的抗病毒和增强人体免疫力功效,对乙型肝炎病毒、艾滋病病毒以及流感病毒有显著的抑制作用[6],此外,还具有降糖作用[7]. 但是应注意到该属很多植物中存在的双稠吡咯啶生物碱对动物和人的肝毒性和致癌作用[8].

目前国内外对菊三七属植物降糖作用鲜有研究. 本文旨在探讨平卧菊三七对糖尿病模型小鼠的降糖作用,为临床糖尿病的药物开发提供新的线索.

1 材料与方法

1.1 实验仪器

TE2101-L电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);超声波清洗机(昆山超声仪器有限公司);冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展有限公司).

1.2 实验试剂

0.9%氯化钠注射液(10 mL,含NaCl 0.09 g),批号:0C85D1(中国大冢制药有限公司);四氧嘧啶(5 g),批号:A7413(Sigma公司);盐酸二甲双胍片(0.25 g×100 Tab),批号:10071(北京双鹤药业股份有限公司);安稳免调码血糖仪、安稳免调码瓶装血糖试纸(三诺生物传感有限公司).

1.3 受试样品

平卧菊三七药材购自安国市场. 将干燥药材粉碎后过20目筛,物料比为1∶15,70%乙醇超声提取两次,每次1.5 h,减压浓缩,真空冷冻干燥,得干粉作为受试样品.

1.4 实验环境

动物对温度变化的代谢适应性,受健康状况、年龄、手术处理或药物使用因素等影响,环境温度不同时,药品和化学品对实验动物的毒性也有较大差异. 过冷或过热,都会影响实验动物的成模率和增加死亡率,影响实验结果的正确性. 本实验选择适宜的温度(25 ℃),在通风的环境下适应性饲养小鼠,自由摄食、饮水.

1.5 实验动物

因小鼠的生命周期短,易于人为控制遗传及环境条件,来源方便,故利用小鼠建立模型,开展生物

收稿日期:2014-05-09
* 通讯作者

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

医学实验. 本实验选择毛色光滑、活动自如、反应灵活、健康、无畸形的雄性 ICR 小鼠,SPF 级,体重 22 ~26 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供. 许可证号: SCXK(京) 2006-0009.

2 四氧嘧啶致小鼠糖尿病造模条件优化及稳定性考察

2.1 小鼠性别对造模影响

不同性别的动物对四氧嘧啶致糖尿病的敏感性有差异,现已有文献报道,但说法不一. 根据文献报道,在同等实验条件下,雌雄小鼠对造模敏感程度不同,雄性小鼠成模率比雌性小鼠高,但是二者死亡率差别不大[9]. 可归因于雌性小鼠生理原因,血糖值容易波动,测定时不稳定. 因此,选取雄性小鼠造模.

2.2 小鼠体重对造模成功率的影响

雄性 ICR 小鼠 20 只,分为两组,18 ~22 g 小鼠 10 只、22 ~26 g 小鼠 10 只,腹腔注射 200 mg/kg 新鲜配制的四氧嘧啶生理盐水溶液,72 h 后,测定血糖值. 取血糖值大于 16.5 mmol/L 的小鼠,实验结果显示: 两组小鼠成模率基本一致,但是,16 ~20 g 小鼠饲养一周后死亡率较高. 因此选取体重 22 ~26 g 的小鼠.

2.3 禁食时间对造模成功率的影响

雄性 ICR 小鼠 30 只,体重 22 ~26 g,分为三组,各组小鼠禁食时间依次为 8 h、12 h、16 h,每组小鼠腹腔注射 200 mg/kg 新鲜配制的四氧嘧啶生理盐水溶液,72 h 后取血测定血糖值,取血糖值大于16.5 mmol/L 的小鼠,三组的成模率分别为: 40%、65%、80%. 实验结果表明: 在相同条件下,禁食时间对造模影响较大. 随着禁食时间的延长,造模小鼠平均血糖值增高,成模率增高. 结果表明,禁食时间16 h为宜.

2.4 禁食时间对血糖浓度的影响

选取 12 只经四氧嘧啶造模成功的 ICR 雄性小鼠,分别对其禁食 4 h、6 h、8 h、12 h,测定血糖浓度(每日只采血一次),结果发现,禁食后会出现不同程度假阳性情况,分别为 1 只,3 只,4 只,10 只. 为保证结果真实可靠,将测定血糖前的禁食时间定为 4 h.

3 平卧菊三七粗提物对四氧嘧啶糖尿病模型小鼠的降血糖作用

3.1 糖尿病动物模型的建立及分组给药

雄性 SPF 级 ICR 小鼠 120 只,体重 22 ~26 g. 实验前禁食不禁水. 12 h 后,除空白组 10 只腹腔注射等容积生理盐水外,其他小鼠腹腔注射四氧嘧啶(200 mg/kg) 造糖尿病模型. 注射后小鼠自由饮食,72 h 后,剪尾取血 0.1 ~0.2 mL,按葡萄糖测定试纸方法测各鼠血糖水平,筛选出血糖水平大于 16.5 mmol/L的小鼠 70 只,即成糖尿病模型.

取四氧嘧啶造糖尿病模型小鼠 70 只,按血糖水平值大小随机分为 7 组,灌胃给药: 阳性组每天灌胃二甲双胍 300 mg/kg; 醇提物高剂量组每天灌胃 400 mg/kg; 醇提物中剂量组每天灌胃 300 mg/kg; 醇提物低剂量组每天灌胃 200 mg/kg; 空白组和模型组每天灌胃吐温 -80 水溶液(2%). 每天给药 1 次,连续给药 14 d.

3.2 平卧菊三七提取物对四氧嘧啶糖尿病模型小鼠饮水量的影响

给药后的 5 ~14 d 每天记录各组小鼠饮水量. 结果显示: 与模型组相比,盐酸二甲双胍和平卧菊三七提取物对四氧嘧啶糖尿病模型小鼠的多饮症状有明显的改善作用($P<0.001$).

表 1 平卧菊三七提取物对四氧嘧啶糖尿病模型小鼠饮水量的影响($n=10$)

组别	灌胃剂量	每只每日饮水量(g)
正常组	吐温 -80 水溶液	5.96 ±0.34
模型组	吐温 -80 水溶液	37.70 ±7.46▲▲▲
阳性组	300 mg/kg 二甲双胍	22.51 ±3.58***
醇提物低剂量组	200 mg/kg 醇提物	26.40 ±3.45***
醇提物中剂量组	300 mg/kg 醇提物	24.57 ±2.71***
醇提物高剂量组	400 mg/kg 醇提物	27.97 ±4.67***

**$P<0.01$, ***$P<0.001$ 给药组 vs 模型组; ▲▲ $P<0.01$, ▲▲▲ $P<0.001$ 模型组 vs 空白组

3.3 平卧菊三七提取物对四氧嘧啶糖尿病模型小鼠摄食量的影响

给药后的 5 ~14 d 每天记录各组小鼠摄食量,结果显示: 与模型组相比,盐酸二甲双胍和平卧菊三七提取物对四氧嘧啶糖尿病模型小鼠的多食症状有明显的改善作用($P<0.001$).

表 2 平卧菊三七提取物对四氧嘧啶糖尿病模型小鼠摄食量的影响($n=10$)

组别	灌胃剂量	每只每日吃食量(g)
正常组	吐温 -80 水溶液	5.55 ±0.84
模型组	吐温 -80 水溶液	10.64 ±1.58▲▲▲
阳性组	300 mg/kg 二甲双胍	7.32 ±0.81***
醇提物低剂量组	200 mg/kg 醇提物	7.55 ±0.74***
醇提物中剂量组	300 mg/kg 醇提物	7.74 ±0.85***
醇提物高剂量组	400 mg/kg 醇提物	8.80 ±1.33**

**$P<0.01$, ***$P<0.001$ 给药组 vs 模型组; ▲▲ $P<0.01$, ▲▲▲ $P<0.001$ 模型组 vs 空白组

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3.4　平卧菊三七提取物对四氧嘧啶糖尿病模型小鼠血糖的影响

各组小鼠第 14 天末次给药 1 h 后,小鼠剪尾取血(已禁食 4 h) ,按血糖试纸方法测各组小鼠血糖水平. 各给药组与模型组进行组间比较并观察高、中、低剂量的提取物是否具有降糖作用.

各小鼠腹腔注射四氧嘧啶 72 h 后,血糖值均增高至 16.6 mmol/L 以上,各给药组给药前血糖水平与空白组有显著差异($P<0.001$) ,说明造模成功. 连续灌胃给药 14 d 后,各组血糖水平组间比较结果见表 3: 给药两周后,各给药组血糖水平较模型组有显著差异($P<0.01$) ,说明平卧菊三七提取物能明显抑制四氧嘧啶糖尿病模型小鼠血糖的升高.

表 3　乙醇提取物对四氧嘧啶糖尿病模型小鼠血糖的影响($n=10$)

组别	灌胃剂量	造模血糖 mmol/L	14d 后血糖 mmol/L
正常组	吐温 -80 水溶液	8.93 ±0.65	9.20 ±0.73
模型组	吐温 -80 水溶液	22.90 ±2.13▲▲▲	27.14 ±1.41▲▲▲
阳性组	300 mg/kg 二甲双胍	23.00 ±2.19	19.97 ±3.54***
醇提物低剂量	200 mg/kg 醇提物	22.40 ±2.23	24.16 ±2.53**
醇提物中剂量	300 mg/kg 醇提物	23.12 ±2.64	21.93 ±4.58**
醇提物高剂量	400 mg/kg 醇提物	23.19 ±2.47	24.27 ±3.28**

**$P<0.01$, ***$P<0.001$ 给药组 vs 模型组; ▲▲ $P<0.01$, ▲▲▲ $P<0.001$ 模型组 vs 空白组

4　讨　论

综合上述,短期用药,阳性药盐酸二甲双胍能明显抑制四氧嘧啶糖尿病模型小鼠血糖的升高,并能改善糖尿病小鼠多饮多食症状; 平卧菊三七提取物也能很好地抑制四氧嘧啶糖尿病小鼠血糖的升高,改善多饮多食症状,疗效与剂量无明显线性关系. 关于平卧菊三七的药用机理以及开发应用有待进一步研究.

参　考　文　献

[1] Takahira M, Kondo Y, Kusano G, et al. Four new al pha-3-hydroxy spirost-5-ene derivatives from Gynu rajaponica Makino [J]. Tetrahedron Lett, 1977, 54 (41): 3647 - 3650.

[2] 袁珊琴, 顾国明, 魏同泰. 菊叶三七生物碱成分的研究 [J]. 药学学报, 1990, 25 (3): 191 - 197.

[3] Helmut W. Two pyrrolizidine alkaloids from Gynura scandens [J]. Phytochemistry, 1982, 21(11): 2767 - 2768

[4] Erhard R, Alexandra E, Helmut W. Pyrrolizidine alkaloids from Gynura divaricate [J]. Plant Med, 1996, 62 (4): 386

[5] Matheson J R, Robins D J. Pyrrolizidine alkaloids from Gynura sarmentosa [J]. Fitoterapia, 1992, 63(6): 557 - 561.

[6] Hoe S Z, Lee C N, Mok S L, et al. Gynura procumbens Merr. decreases blood pressurein rats by vasodilatation via inhibition of calcium channels [J]. Clinics, 2011, 66(1): 143 - 150.

[7] Zhang X F, Tan B K. Effects of an ethanolic extract of Gynura procumbens on serum glucose cholesterol and triglyceride levels in normal and streptozotocin induced diabetic rats [J]. Singapore Med J, 2000, 41(1) : 9 - 14.

[8] 史清水, 袁惠南. 菊三七研究概况 [J]. 中草药, 1991, 22(8): 377 - 380.

[9] 刘秀英, 胡怡秀. 糖尿病模型所用小鼠研究概况 [J]. 国外医学(卫生学分册) , 2008(06): 333 - 337.

Hypoglycemic Effect of Extractive from Gynura *procumbens* (Lour.) Merr. on Alloxan-induced Diabetic Mice

Men Fenglin　Wang Yingfeng　Zhu Xiang

(The Analysis Test Center, Capital Normal University, Beijing　100048)

Abstract

Objective: To investigate the hypoglycemic effect of extractive from Gynura procumbens (Lour.) Merr. in

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

alloxan-induced diabetic mice. Method: A hyperglycemia animal model is established by treating male ICR mice (weighed 22 ~ 26 g) with 200 mg/kg alloxan after fasting for 16 h. Results: After 14 consecutive days, each group have significant hypoglycemic effect, and can improve polyphagia and polydipsia of the mice. Conclusion: Extractive from Gynura procumbens (Lour.) Merr had significant hypoglycemic action and improved polyphagia and polydipsia of diabetic mice. Curative effect and dosage had no significant linear relationship.

Key words: Gynura procumbens (Lour.) Merr, pharmacologic action, hypoglycemic effect.

(上接第 32 页)

座等形式的科普活动并不能很好地吸引学生,它们普遍的形式单一、内容乏味,学生群体却更喜欢轻松活泼、寓教于乐的科普形式. 讲述科学家故事的舞台剧,可亲身体验的新技术,甚至是一场科普电影都将能很好的吸引中学生的参与.

参 考 文 献

[1] Scribner S, Cole M. Cognitive Consequences of Formal and Informal Education [J]. Science, 1973, 182: 553 - 559.

[2] Coombs P H, Ahmed M. Attacking Rural Poverty: How Non-formal Education Can Help [M]. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1974.

[3] 张艳红,钟大鹏,梁新艳. 非正式学习与非正规学习辨析 [J]. 电化教育研究, 2012, (2): 24 - 28.

[4] 中国科普研究所. 中国科普报告 [M]. 北京: 科学普及出版社, 2002.

[5] 任福军. 中国公民科学素质报告(第二辑) [M]. 北京: 科学普及出版社, 2011.

A Survey on Middle School Students' Outside School Science Education

Wang Jingying[1] Liu Qing[2]

(1. Physics Department of Capital Normal University, Beijing 100048;
2. The Affiliated International School of Shenzhen University, Shenzhen 518060)

Abstract

This Survey is focused on middle school students' outside school science education from three facts, which are ways of getting scientific knowledge and information, use of outside school science education facility, ways of participation in informal science education. We choose six middle schools in Beijing, and the result indicates the status is not optimistic. The internet and TV plays an important role in getting scientific knowledge and information, and students have a good use of zoo and arboretum including science and technology museum, planetarium, but their participation and interest are not satisfying.

Key words: students of middle school, outside school science education, informal science education.

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net