槐花总黄酮对大鼠糖尿病模型血清胰岛素、瘦素和 C-肽水平的影响

苗明三¹, 李彩荣², 陈元朋¹(1.河南中医学院, 郑州 450008; 2.河南省中药发展工程技术研究中心, 郑州 450001)

摘要: 目的 探讨槐花总黄酮对链脲佐菌素性大鼠糖尿病模型血清胰岛素、瘦素和 C-肽水平的影响。方法 以舌下静脉注射链脲佐菌素 60 mg·kg⁻¹ 制备大鼠糖尿病模型, 随机分为 5 组: 槐花总黄酮高(600 mg·kg⁻¹)、中(300 mg·kg⁻¹)、低(150 mg·kg⁻¹)剂量组、二甲双胍组(208 mg·kg⁻¹)和模型组(给予同体积生理盐水)。另取健康大鼠设为空白对照组, 给予同体积生理盐水。每天给药 1 次, 连续给药 30 d, 于第 10, 20, 30 天分别测空腹血糖值, 第 30 天测血清胰岛素、胰岛素抗体、瘦素和 C-肽水平。结果 模型组从实验开始至第 30 天血糖水平显著升高, 第 30 天血清瘦素水平显著升高, 血清胰岛素水平及 C-肽水平显著降低, 说明链脲佐菌素大鼠糖尿病模型制备成功。与模型组比, 槐花总黄酮各剂量组第 20, 30 天可显著降低模型大鼠血糖水平, 第 30 天可显著升高血清胰岛素水平和 C-肽水平, 显著降低血清瘦素水平。结论 槐花总黄酮对链脲佐菌素性大鼠糖尿病模型有良好的治疗作用, 可使血清葡萄糖及瘦素水平显著降低, 血清胰岛素水平和 C-肽水平显著升高。

关键词: 槐花总黄酮; 糖尿病模型; 胰岛素抗体; 瘦素; C-肽

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2011)10-0896-03

Effects of Total Flavonoids of Sophorae Flos on the Levels of Insulin, Leptin and C-Peptide in Serum in Diabetic Rat Model

MIAO Mingsan¹, LI Cairong², CHEN Yuanpeng¹(1.Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China; 2.Henan Engineering and Research Center for TCM, Zhengzhou 450001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of total flavonoids of Sophorae Flos (TFSF) on the levels of insulin in serum, leptin and C-peptide in diabetic rats which was established by streptozotocin. **METHODS** The diabetic rat model was established by injected with 60 mg·kg⁻¹ streptozotocin, and then randomized into 5 groups: large dosage TFSF group(600 mg·kg⁻¹), middle dosage TFSF group(300 mg·kg⁻¹), small dosage TFSF group(150 mg·kg⁻¹), metformin group(208 mg·kg⁻¹), and model group. Control group was set up with healthy normal rats. All the rats were administrated once a day for 30 days. Blood glucose in the limosis were measured on the 20, 30 day and then rats were sacrificed. The levels of insulin, insulin antibody, leptin, C-peptide in orbital blood were measured. **RESULTS** Compared with control group, the level of blood sugar and leptin in model group increased obviously, the level of insulin and C-peptide decreased obviously. It illustrated that the diabetic model was established successfully. Compared with model group, the level of blood sugar in TFSF groups obviously decreased after 20 or 30 days, the level of insulin and C-peptide increased obviously after 30 days, while the level of leptin decreased obviously. **CONCLUSION** TFSF has good hypoglycemic effect on the diabetic rats established by injection of streptozotocin. It can decrease the level of blood sugar and leptin, and increase the level of insulin and C-peptide significantly.

KEY WORDS: total flavonoids of Sophorae Flos; diabetic model; insulin antibody; leptin; C-peptide

槐花为豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥花蕾及花, 性苦、微寒; 归肝、大肠经, 有凉血止血、清肝泻火之功效。现代研究表明, 槐花中的主要活性物质为黄酮类化合物, 有很好的抗炎、止血、降压、扩张冠状动脉等作用^[1-2], 也有报道槐花可用于糖尿病白内障的治疗^[3], 民间也有多食槐花对糖尿病有益之说。为探讨槐花对糖尿病的治疗作用及其作用机制, 本实验研究了槐花总黄酮(total flavonoids of Sophorae Flos, TFSF)对链脲佐菌素性大鼠糖尿病模型的影响。

1 材料

1.1 动物

Wistar 大鼠, II 级, ♂, 体重 180~200 g, 由河北省实验动物中心提供, 实验动物合格证号: SYXK(冀)2008-0026。

1.2 药品与试剂

TFSF(河南省中药发展工程技术研究中心提供, 含量>70%, 批号 060708); 链脲佐菌素(美国 Sigma 公司); 盐酸二甲双胍[上海医药(集团)有限公司信谊制药总厂, 批号 060310]; 血糖试剂盒(浙

基金项目: 河南省国际科技合作计划项目(104300510011); 郑州市国际合作与交流计划(10GJHZ518)

作者简介: 苗明三, 男, 博士, 教授 Tel: (0371)65962546 E-mail: miaomingsan@163.com

江东瓯生物工程有限公司, 批号 2006060350); 胰岛素(INS)放射免疫分析药盒(北京科美东雅生物技术有限公司, 批号 20060308); 瘦素(leptin)放射免疫分析药盒(中国人民解放军总医院科技开发中心, 批号 070126); C-肽(C-P)放射免疫分析药盒(RIA, 北京科美东雅生物技术有限公司, 批号 20070125); 胰岛素抗体(INS-Ab)放射免疫分析药盒(北京科美东雅生物技术有限公司, 批号 20070125)。

1.3 仪器

UV-2000 分光光度计[尤尼柯(上海)仪器有限公司]; TGL-16G 高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器有限公司); FA(N)/JA(N)系列电子天平(上海民桥精密仪器有限公司生产); Sn-895B 型智能放免 γ 测量仪(上海原子核研究所四环仪器一厂)。

2 方法与结果

取大鼠 100 只, 禁食 12 h 后, 其中 90 只舌下静脉注射链脲佐菌素 $60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (用 pH 为 4.2 的枸橼酸缓冲液配制), 另 10 只设为空白对照组, 舌下静脉注射等体积的枸橼酸缓冲液^[4-5]。第 10 天尾部取血测空腹血糖值, 选取血糖值 $11.1\sim 20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 并具有明显多饮、多食、多尿症状的大鼠 50 只, 按血糖值随机均分为 5 组, 分别为 TSFS 高、中、低剂量($600, 300, 150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组、模型组和二甲双胍组($208 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。TSFS 组及二甲双胍组分别给予相应的药物, 模型组与空白对照组给予同体积生理盐水, 每天给药 1 次, 连续给药 30 d。分别于给药的第 10, 20, 30 天尾部取血, 按血糖试剂盒说明书测空腹血糖值, 结果见表 1; 于最后 1 次测血糖前 1 天禁食 12 h, 灌药 2 h 后, 大鼠眼眶取血, 离心得血清, 分别按试剂盒说明书测血清胰岛素、胰岛素抗体、C 肽和瘦素水平, 结果见表 2、表 3。

由表 1 可知, 与空白对照组比, 模型组从实验开始至实验第 30 天, 血糖水平均显著升高 ($P<0.01$), 说明链脲佐菌素大鼠糖尿病模型制备成功。与模型组比, 在给药第 10 天, 各给药组血糖降低不明显; 在给药第 20 天, 高剂量 TSFS 组和二甲双胍组均可显著降低模型大鼠血糖水平 ($P<0.01$), 中剂量 TSFS 组可明显降低血糖水平 ($P<0.05$); 在给药第 30 天, 高、中剂量 TSFS 组和二甲双胍组可显著降低模型大鼠血糖水平 ($P<0.01$), 低剂量 TSFS 组可明显降低血糖水平

($P<0.05$)。高、中剂量 TSFS 组大鼠血糖水平稍高于二甲双胍组血糖水平, 但无显著性差异。

表 1 TSFS 对链脲佐菌素致大鼠糖尿病模型血糖水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab 1 Effect of TSFS on the level of blood glucose in diabetic rat model injected with streptozotocin ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	血糖/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$		
	第 10 天	第 20 天	第 30 天
空白对照组	4.982±0.766	4.735±1.094	4.860±0.718
模型组	17.755±2.492 ¹⁾	18.484±2.355 ¹⁾	19.766±2.754 ¹⁾
二甲双胍组	15.663±2.090	13.585±2.061 ³⁾	11.548±1.992 ³⁾
高剂量 TSFS 组	16.619±2.692	14.852±3.186 ³⁾	13.130±2.937 ³⁾
中剂量 TSFS 组	17.477±2.640	15.429±3.126 ²⁾	13.744±2.832 ³⁾
低剂量 TSFS 组	17.828±2.442	17.549±1.974	17.113±1.919 ²⁾

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$
Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$

表 2 TSFS 对链脲佐菌素致大鼠糖尿病模型血清胰岛素和胰岛素抗体水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab 2 Effect of TSFS on the level of PGI and INS-Ab in diabetic rat model injected with streptozotocin ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	胰岛素/ $\times 10^{-3} \mu\text{IU}\cdot\text{mL}^{-1}$	胰岛素抗体/%
空白对照组	47.280±8.471	3.285±0.653
模型组	26.850±4.809 ¹⁾	3.495±0.693
二甲双胍组	37.320±6.064 ³⁾	2.612±0.722 ²⁾
高剂量 TSFS 组	35.741±7.439 ³⁾	3.412±0.855
中剂量 TSFS 组	33.052±5.101 ²⁾	3.248±0.385
低剂量 TSFS 组	28.907±6.725	3.475±0.616

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$
Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$

表 3 TSFS 对链脲佐菌素致大鼠糖尿病模型血清瘦素和 C-肽水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab 3 Effect of TSFS on the level of leptin and C-P in diabetic rat model injected with streptozotocin ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	瘦素/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	C-肽/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$
空白对照组	0.645±0.180	0.109±0.034
模型组	1.517±0.346 ¹⁾	0.043±0.016 ¹⁾
二甲双胍组	0.849±0.469 ³⁾	0.061±0.017 ²⁾
高剂量 TSFS 组	0.950±0.453 ³⁾	0.095±0.036 ³⁾
中剂量 TSFS 组	0.870±0.314 ³⁾	0.174±0.266 ³⁾⁴⁾
低剂量 TSFS 组	0.860±0.467 ³⁾	0.071±0.019 ³⁾

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$; 与二甲双胍组比较, ⁴⁾ $P<0.01$
Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$; compared with metformin group, ⁴⁾ $P<0.01$

由表 2 可知, 与空白对照组比, 模型组胰岛素水平显著降低 ($P<0.01$), 说明糖尿病模型制备成功。与模型组比, 高剂量 TSFS 组和二甲双胍组可

显著升高血清胰岛素水平($P<0.01$), 中剂量 TSFS 组可明显升高血清胰岛素水平($P<0.05$)。二甲双胍组可明显降低血清胰岛素抗体水平($P<0.05$), 高、中剂量 TSFS 组大鼠胰岛素水平稍低于二甲双胍组水平, 但无显著性差异。

由表 3 可知, 与空白对照组比, 模型组血清瘦素水平显著升高($P<0.01$)、血清 C-肽水平显著降低($P<0.01$), 说明糖尿病模型制备成功。与模型组比, 高、中、低剂量 TSFS 组和二甲双胍组均可显著降低血清瘦素水平($P<0.01$); 高、中、低剂量 TSFS 组均可显著升高血清 C-肽水平($P<0.01$), 二甲双胍组可明显升高血清 C-肽水平($P<0.05$)。TSFS 各剂量组大鼠瘦素水平稍高于二甲双胍组, 但无显著性差异; 中剂量 TSFS 组大鼠 C-肽水平显著高于二甲双胍组($P<0.01$), 高、低剂量 TSFS 组大鼠 C-肽水平与二甲双胍组比较无显著差异。

3 讨论

糖尿病属中医“消渴”范畴, 以多饮、多食、多尿、身体消瘦, 或尿浊、尿有甜味为特征。现代医学认为糖尿病是一种由多种病因引起的慢性代谢性疾病。链脲佐菌素在体内代谢后可产生 $O_2\cdot$ 和 NO 自由基, 造成胰岛 β 细胞损伤, 从而可成功建立糖尿病模型^[4-5]。该模型更接近人类糖尿病, 被广泛应用^[6]。胰岛素、血清 C-肽都是反映胰岛素细胞分泌功能的重要指标; 瘦素是由肥胖基因(OB)产生的一种内分泌激素, 与胰岛素抵抗关系密切。由于 C-肽与胰岛素抗体无交叉反应, 不受胰岛素抗体的干扰, 其数值更客观、更直接、更准确地反映了胰岛 β 细胞功能。

二甲双胍为降血糖药, 可降低 2 型糖尿病患者空腹及餐后高血糖, 其主要是增加周围组织对胰岛素的敏感性, 增加胰岛素介导的葡萄糖利用, 二甲双胍不但有降血糖作用, 还可能有减轻体重和降低高胰岛素血症的效果。糖尿病为慢性代谢性疾病, 化药治疗糖尿病虽起效快, 但存在肝损害、胃肠道反应等副作用, 长期服用化药具有明显的不良反应, 同时也存在一定程度的耐药性。已报道黄酮类化合物具有抗氧化和清除自由基作用, 黄酮类化合物可降低糖尿病大鼠血清过氧化脂质含量, 增强谷胱甘肽过氧化物酶的活力, 抑制脂质过氧化反应, 对抗四氧嘧啶所致的胰岛 β 细胞损伤, 促进胰岛 β 细胞修复和再生, 而且黄酮类化合物有刺激胰岛素释放、促进胰岛素与靶

细胞上专一受体结合, 增加外周糖的利用等机制而发挥降低血糖的作用^[7-9]。

本实验研究表明, TSFS 对链脲佐菌素造成的糖尿病模型有很好改善作用, 可显著降低模型大鼠血糖, 其降血糖作用与二甲双胍比较无显著性差异; 且在降糖的同时, 可显著升高血清胰岛素水平和 C-肽水平, 显著降低瘦素水平, 其中升高 C-肽水平作用显著优于二甲双胍组; 但对胰岛素抗体的调节作用不明显。提示 TSFS 可以刺激胰岛 β 细胞分泌 C-肽(C-P)与胰岛素, 改善糖尿病症状; 同时调节肥胖基因分泌瘦素, 调节进食以及促进能量的消耗代谢。TSFS 可较好改善糖尿病症状, 不具有化药在降糖同时带来的不良反应, 且槐花作为药食同源食品, 可日常服用, 在糖尿病防治方面具有明显优势; 槐花是中原一带名优土特产, 本研究为槐花资源的综合开发利用提供了实验基础。

REFERENCES

- [1] HUANG M. Study on pharmacological effect of Huaihua oral solution compound [J]. Guangxi J Tradit Chin Med(广西中医药), 2000, 23(3): 51-53.
- [2] LI R R, YUAN S T, XIAO Y Q. Research on chemical composition pharmacological effects and processing of Chinese medicine *Sophora japonica* [J]. China Academic Journal Electronic Publishing House(中国中医药信息杂志), 2002, 9(6): 77-82.
- [3] VARMA S D, KINOSHITA J H. Inhibition of lens aldose reductase by flavonoids-their possible role in the prevention of diabetic cataracts [J]. Biochem Pharmacol, 1976, 25(22): 2505-2513.
- [4] MIAO M S, MIAO Y, JI X N, et al. Cytopathic effect of ZMLS on the kidney, abdominal salivary gland, thoracic gland tissue of diabetic rat induced by streptozocin [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学杂志), 2007, 24(3): 171-173.
- [5] MIAO M S, SUN Y H, SHI J J, et al. Effect of ZMLS about the biochemical on diabetic rat [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2006, 22(3): 80-81.
- [6] MIAO M S, SUN Y H. Effects of saponin extracted from *Zea Mays L* (ZMLS) on pathogenic diabetic mouse model caused by administration of alloxan and glucose [J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2007, 22(3): 181-183.
- [7] WANG X J. Study on the relationship between insulin resistance and leptin in type 2 diabetes mellitus patients [J]. J Nanhua Univ(Medical Edition)(南华大学学报: 医学版), 2008, 36(5): 659-661.
- [8] WANG X M, ZOU Z J. The effects of flavonoids from *Potentilla discolor* Bunge. on the levels of insulin and insulin antibody in serum in diabetes mice [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2008, 19(2): 338-339.
- [9] MIAO M S, SUN L M, MIAO Y Y. Effects of pueraria lobata isoflavones on diabetes mellitus combined with cerebral ischemic reperfusion mouse [J]. J Med Forum(医药论坛杂志), 2005, 26(23): 11-16.

收稿日期: 2010-09-13