

柑橘皮黄酮降血糖作用的研究

肖更生, 万利秀, 徐玉娟, 陈卫东, 陈于陇, 吴继军, 傅曼琴
(广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 广东广州 510610)

摘要: 研究了柑橘皮黄酮对四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠的降血糖作用, 并探讨了其部分作用机制。结果表明: 给药10 d后, 中、高剂量组的柑橘皮黄酮能极显著降低糖尿病小鼠的血清血糖值, 提高其胸腺指数和脾指数, 增强血清及肝脏中SOD活性, 抑制MDA的产生, 降低血浆中TG、TC和LDL-C含量, 提高HDL-C含量, 说明增强机体免疫力、抗氧化作用和改善脂代谢紊乱可能是柑橘皮黄酮降血糖的作用机制之一, 为柑橘皮的开发利用提供理论依据。

关键词: 柑橘皮; 黄酮; 降血糖

文章篇号: 1673-9078(2013)4-698-701

Hypoglycemic Effect of Total Flavonoids from Citrus Peels on Diabetic Mice Model

XIAO Geng-sheng, WAN Li-xiu, XU Yu-juan, CHEN Wei-dong, CHEN Yu-long, WU Ji-jun, FU Man-qin
(Sericulture & Farm Product Processing Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Science, Guangzhou 510610, China)

Abstract: The hypoglycemic effect of total flavonoids extracted from citrus peels on diabetic white mice induced by alloxan was studied and the preliminary mechanism was discussed. Results showed that after intragastric administration of middle and high dosage of total flavonoids extracted from citrus peels for 10 days, the concentration of blood glucose of alloxan-induced diabetic mice reduced obviously. Compared with the model group, the spleen index, thymus gland index, and the activity of superoxides dismutase (SOD) in blood and liver of the diabetic mice were increased and the formation of the malondialdehyde (MDA) were inhibited. The contents of TG, TC, and LDL-C decreased greatly, while the content of HDL-C increased obviously. The results suggested that the improvement of immunity, antioxidation, and regulation of lipid metabolism disorders in alloxan-induced diabetic white mice may be one of the hypoglycemic mechanisms of total flavonoids extracted from citrus peels, which provided a theoretical basis to the development and utilization of citrus peels.

Key words: citrus peels; flavonoids; hypoglycemic effect

柑橘皮为芸香科植物柑橘 (*Citrus reticulata* Blanco) 及其栽培变种的干燥成熟果皮, 又名陈皮。柑橘皮中含有丰富的黄酮类物质, 具有抗氧化、抗炎、抗动脉硬化、抗癌、抑菌、降血脂等功效^[1-6]。我国是柑橘类生产大国, 但用于加工的柑橘还不到产量的10%, 每年有占柑橘加工量一半的皮渣废弃不用。不仅给企业造成了经济损失, 增加了生产成本, 而且给环境造成了负面影响。如果将这些丢弃的柑橘皮加以有效利用, 不仅可以减少环境污染, 还可以变废为宝, 增加企业的经济效益。

糖尿病(消渴症)是一类由遗传、环境、免疫等因素引起的、具有明显异质性的慢性高血糖症及其并发症所组成的综合症, 并非单一病因引起的单一疾病。最常见的临床表现为“三多一少”综合症, 即多饮、

多食、多尿和体重减轻。久病的患者可因营养障碍, 继发性感染心脑血管、肾脏、眼部、神经、皮肤、关节肌肉等并发症, 严重威胁到患者的生命安全。目前, 尚无理想的治疗方法, 传统磺酰脲类和双胍类降糖药, 久用具依赖性和毒副作用。近年来, 国内外已有关于黄酮降血糖作用的相关报道^[7-10], 但是对柑橘皮黄酮的降血糖功效的研究还未见报道。因此, 本文对柑橘皮黄酮的降血糖作用及其机制进行了初步探讨, 以期为其高效开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

柑橘皮: 购于农贸市场; 雄性昆明种小白鼠, 体重为18~22 g, 由南方医科大学实验动物中心提供; 普通饲料: 玉米73.5%, 麦麸20%, 鱼粉5%, 谷粉1%, 食盐0.5%, 由南方医科大学实验动物中心提供。

X-5大孔树脂, 购于南开大学化工厂; 四氧嘧啶, Sigma公司产品, 用0.9%生理盐水配制, 现配现用;

收稿日期: 2012-12-10

基金项目: 国家科技支撑计划课题(2012BAD31B03); 广东省教育部产学研结合项目(2011A090200078); 广东省农业科技项目(LNSG2010-14)

作者简介: 肖更生(1965-), 男, 研究员, 研究方向为农产品深加工

优降糖, 即格列苯脲片(Glibenclamide Tablets), 广东三才医药集团有限公司; 利舒坦血糖试纸及血糖仪, 美国 Abbott Diabetes Care 公司; 丙二醛 (MDA) 试剂盒、SOD试剂盒, 南京建成生物工程研究所; 甘油三脂 (TG) 试剂盒、总胆固醇 (TC) 试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇试剂盒 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 试剂盒, 均购于上海科华东凌诊断用品有限公司: 其它试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器

UV1800型可见分光光度计, 日本岛津仪器有限公司; HH-4数显恒温水浴锅, 金坛市富华仪器有限公司; DHG-9240A型电热恒温鼓风干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; RE-52AA旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; TDL-5型离心机, 上海安亭科学仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 柑橘皮总黄酮的制备

95%乙醇室温浸泡柑橘皮粉24 h, 抽滤, 减压浓缩至无醇味, 再用X-5大孔树脂纯化。纯化工艺如下: 上样液浓度0.57~1.14 mg/mL, 吸附和解吸速率均为1 mL/min, 解吸剂为50%乙醇。上样后, 先用蒸馏水洗至流出液无色, 再用50%乙醇洗脱, 收集乙醇洗脱液, 减压浓缩回收乙醇, 冷冻干燥后得柑橘皮总黄酮样品^[11], 备用。

1.3.2 柑橘皮总黄酮对四氧嘧啶致糖尿病小鼠的降血糖作用

小白鼠购回后预饲3 d, 随机取8只为正常对照组, 其余腹腔注射200 mg/kg四氧嘧啶, 注射前禁食12 h但不禁水, 3 d后对禁食12 h后的小鼠进行第一次尾静脉采血, 测定其血清血糖值。去除未造成糖尿病模型小鼠 (血糖值低于11.1 mM), 将造模成功的糖尿病小鼠随机分成5组: 糖尿病模型组, 每天灌胃0.9%生理盐水; 优降糖组, 每天灌胃4 mg/kg阳性对照药物优降糖; 低剂量组每天灌胃200 mg/kg的柑橘皮黄酮; 中剂量组每天灌胃400 mg/kg的柑橘皮黄酮; 高剂量组每天灌胃600 mg/kg的柑橘皮总黄酮。连续灌胃10 d。每天记录一次小鼠体重。灌胃10 d后, 对禁食12 h后的小鼠进行第二次尾静脉采血, 测定其血清血糖值。

1.3.3 组织匀浆制备

取低温保存的肝脏0.5 g, 用预冷生理盐水制成10%匀浆, 在4 °C的高速冷冻离心机中16000 r/min离心15 min, 上清液置4 °C冰箱待测。

1.3.4 统计学处理

实验结果用x (均值) ±s (标准差) 表示, 组间均数差异性比较采用单因素方差分析进行统计学处理, P<0.05表示差异显著, P<0.01表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 柑橘皮黄酮对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠体重的影响

在灌胃的10 d, 每天称量一次小鼠体重, 结果如图1所示。

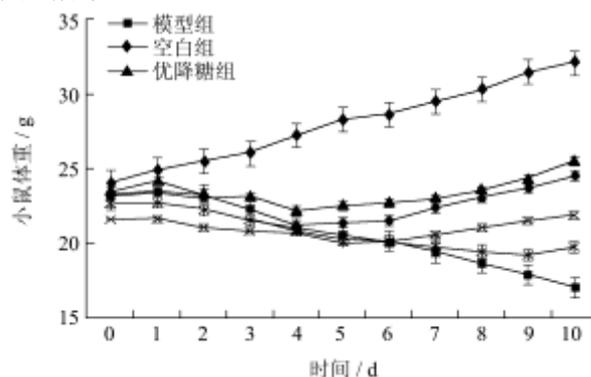


图1 柑橘皮总黄酮对四氧嘧啶致糖尿病小鼠体重的影响

Fig.1 Effects of total flavonoids from citrus peels on body weight of alloxan-induced diabetic mice

由图1可知, 治疗前糖尿病模型小鼠体重明显低于空白对照组; 灌胃后, 空白对照组小鼠体重持续上升, 糖尿病模型组小鼠体重逐渐下降, 各剂量组与优降糖组小鼠的体重均呈一定上升的趋势, 尤其是高剂量组与优降糖组变化趋势一致, 低、中剂量组糖尿病小鼠体重上升缓慢, 说明柑橘皮黄酮能改善四氧嘧啶糖尿病小鼠消瘦的症状。

2.2 柑橘皮黄酮对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠血糖浓度的影响

治疗前, 对禁食12 h后的正常及糖尿病小鼠进行第一次尾静脉采血, 测定给药前空腹血糖值; 连续灌胃10 d后, 对禁食12 h后的小鼠进行第二次尾静脉采血, 测定其空腹血糖值, 结果如表1所示。

表1 柑橘皮总黄酮对糖尿病模型小鼠血糖浓度的影响

Table 1 Effect of total flavonoids from citrus peels on the concentration of blood-glucose of diabetic mice

组别	动物只数/只	血糖浓度/mM	
		给药前	给药10 d后
空白组	8	3.63±0.17	2.52±0.13
模型组	8	12.33±0.68	17.10±1.13 **
优降糖组	8	14.70±0.77	10.72±0.79**
低剂量组	8	11.97±0.74	12.50±0.42
中剂量组	8	21.23±0.12	15.75±0.78**
高剂量组	8	13.14±3.12	11.58±1.71**

注: *表示与给药前血糖值相比有显著性差异 (P<0.05), **表示与给药前相比有极显著性差异 (P<0.01)。

由表1可以看出, 模型组由于没有经过治疗, 血糖

值极显著增加 ($P<0.01$)。灌胃10 d后,除低剂量组外,药物组、中剂量组、高剂量组均可极显著降低小鼠的血清血糖值,其降糖幅度分别是28.57%、25.81%、11.87%。中剂量组降糖效果优于高剂量组,这可能与黄酮类化合物的溶解度低影响胃肠道黏膜吸收有关[7]。

2.3 柑橘皮黄酮对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠脾指数和胸腺指数的影响

表2 柑橘皮总黄酮对糖尿病模型小鼠脾指数和胸腺指数的影响

Table 2 Effect of total flavonoids from citrus peels on the thymus and spleen indexes of diabetic mice

组别	动物只数	脾指数/(g/kg)	胸腺指数/(g/kg)
空白组	8	2.77±0.37**	1.02±0.39**
模型组	8	1.68±0.35	0.21±0.07
优降糖组	8	2.68±0.81**	0.89±0.28**
低剂量组	8	1.74±0.51	0.31±0.15*
中剂量组	8	2.52±0.81**	0.37±0.20**
高剂量组	8	2.51±0.77**	0.67±0.24**

注: *表示与模型组相比有显著性差异 ($P<0.05$), **表示与模型组相比有极显著性差异 ($P<0.01$)。

脾指数、胸腺指数分别是衡量胸腺和脾脏功能正常与否的重要指标。由表2可知,经过优降糖、低、中、高三个剂量组柑橘皮总黄酮治疗后,糖尿病小鼠的胸腺指数和脾指数均比模型对照组有所提高,其中中剂量组、高剂量组及药物组的脾指数极显著高于模型对照组,提示柑橘皮总黄酮可能通过增强四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠的免疫力而对糖尿病模型小鼠的康复产生积极的影响。

2.4 柑橘皮黄酮对四氧嘧啶诱导糖尿病模型小鼠血清SOD酶活和MDA含量的影响

表3 柑橘皮总黄酮对糖尿病小鼠血清中SOD酶活和MDA的影响

Table 3 Effect of total flavonoids on the activity of SOD and the content of MDA in blood serum of diabetic mice

组别	动物只数	SOD 酶活性/(U/mL)	MDA 浓度/mM
空白组	8	174.40±2.28**	4.37±0.21**
模型组	8	103.55±3.32	5.32±0.21
药物组	8	168.65±2.28**	4.68±0.55**
低剂量组	8	115.41±1.88*	5.13±1.22
中剂量组	8	137.33±2.67**	4.91±0.56**
高剂量组	8	149.23±7.63**	4.87±1.25**

注: *表示与模型组相比有显著性差异 ($P<0.05$), **表示与模型组相比有极显著性差异 ($P<0.01$)。

由表3可以看出,模型组的超氧化物歧化酶(SOD)活性极显著低于优降糖组和中、高柑橘皮总黄酮剂量组,丙二醛(MDA)含量极显著高于优降糖组、中剂

量和高剂量组。说明优降糖和中、高剂量组柑橘皮总黄酮均可及显著增强小鼠血清中SOD酶活性,降低脂质过氧化产物MDA含量。因此,抗氧化作用可能是柑橘皮总黄酮降血糖的机制之一。

2.5 柑橘皮黄酮对四氧嘧啶诱导糖尿病模型小鼠肝脏中SOD酶活和MDA含量的影响

表4 柑橘皮总黄酮对糖尿病小鼠肝脏中SOD酶活和MDA的影响

Table 4 Effect of flavonoids on the activity of SOD and the content of MDA in the liver of diabetic mice

组别	动物只数	SOD 酶活性/(U/mL)	MDA 浓度/mM
空白组	8	626.00±15.83 **	3.07±0.43 **
模型组	8	492.85±20.85	9.02±0.97
优降糖组	8	575.51±36.34 **	6.45±0.99 **
低剂量组	8	508.39±25.23 *	8.66±0.84 **
中剂量组	8	545.72±9.74 **	8.39±0.49 **
高剂量组	8	553.63±3.28**	7.34±0.22 **

注: *表示与模型组相比有显著性差异 ($P<0.05$), **表示与模型组相比有极显著性差异 ($P<0.01$)。

肝脏是影响机体糖代谢的重要器官,肝脏功能的好坏对糖尿病的发生及病情发展有极为重要的影响。由表4结果可知,经四氧嘧啶诱导发生糖尿病后,在没有任何药物治疗的情况下,模型对照组小鼠机体的抗氧化机能受到严重破坏,主要表现在肝脏SOD活性急剧下降和MDA的大量生成。与模型对照组相比,优降糖组、柑橘皮黄酮各剂量组模型小鼠肝脏中SOD活性显著上升,MDA含量有不同程度的下降,说明柑橘皮黄酮能提高SOD酶的活性,减少肝脏中MDA的生成量。

2.6 柑橘皮黄酮对四氧嘧啶诱导糖尿病模型小鼠血脂水平的影响

糖尿病大多伴随机体脂代谢紊乱,即血浆中甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)和低密度脂蛋白(LDL-C)含量升高,高密度脂蛋白(HDL-C)含量降低。柑橘皮黄酮对四氧嘧啶诱导糖尿病模型小鼠的TG、TC、LDL-C以及HDL-C含量的影响如表5所示,优降糖组和各剂量组黄酮均能极显著降低四氧嘧啶诱导糖尿病模型小鼠的TG及TC含量 ($P<0.01$),极显著升高其HDL-C含量 ($P<0.01$),优降糖组和高剂量组柑橘皮总黄酮能极显著降低糖尿病模型小鼠的LDL-C含量 ($P<0.01$),而低剂量组柑橘皮总黄酮对糖尿病模型小鼠的LDL-C含量影响不显著,没有统计学意义 ($P>0.05$)。总之,造模后,糖尿病模型小鼠TG、TC、LDL-C极显著升高,HDL-C极显著降低,而经各剂量组黄酮治疗后,TG、TC、LDL-C明显降低,HDL-C显著升高,说明柑橘皮黄酮对改善糖尿病小鼠的脂代

谢紊乱具有有益的作用。

表5 柑橘皮总黄酮对糖尿病模型小鼠血脂水平的影响

组别	动物只数	TG/mM	TC/mM	HDL-C/mM	LDL-C/mM
空白组	8	0.63±0.03**	2.49±0.06 **	2.42±0.04**	1.20±0.01**
模型组	8	1.31±0.04	3.34±0.05	1.59±0.04	1.75±0.02
优降糖组	8	0.66±0.07**	2.56±0.13**	2.04±0.03**	1.26±0.01**
低剂量组	8	1.06±0.04**	3.10±0.15**	1.79±0.05**	1.69±0.01
中剂量组	8	0.83±0.02**	3.04±0.06**	1.85±0.03**	1.63±0.07*
高剂量组	8	0.70±0.04**	2.91±0.10**	1.98±0.04**	1.49±0.01**

注：*表示与模型组相比有显著性差异 (P<0.05)，**表示与模型组相比有极显著性差异 (P<0.01)。

3 讨论

糖尿病引起体内代谢紊乱的原因与自由基代谢平衡失调有关。体内自由基积累及自由基清除酶活性降低,生物大分子的结构和功能被自由基攻击破坏,脂质过氧化产物分解产生的MDA水平增加,均引起组织过氧化损伤。因此,通过补充外源性抗氧化剂(中药)辅助调整与治疗自由基失衡,将是修复机体氧化性损伤,预防和治疗由自由基增加所致疾病的新热点。四氧嘧啶是自由基活化剂,使机体过氧化生成活性氧自由基增加,使细胞产生脂质过氧化作用,破坏胰岛组织,选择性地损伤胰岛B细胞的DNA,引起胰岛B细胞的死亡,胰岛素合成受阻,致动物实验性糖尿病发生^[12]。

本实验结果显示,实验性糖尿病小鼠灌胃柑橘皮黄酮后,空腹血糖明显下降;血清和肝脏中具有抗氧化作用的SOD活性明显升高;而脂质过氧化产物MDA水平降低;衡量脾脏和胸腺功能的脾、胸腺指数显著提高;提示柑橘皮黄酮的降血糖作用与抑制体内氧自由基的产生、增强抗氧化能力、加速自由基的清除以及增强免疫力有关。

心血管疾病特别是冠心病是糖尿病的严重并发症,是糖尿病患者的主要死因。而脂代谢紊乱是糖尿病并发冠心病的重要因素,因此纠正脂代谢紊乱是治疗糖尿病的重要手段。脂代谢紊乱指的是,血浆中TG、TC和LDL-C含量升高,而被称为“好胆固醇”的HDL-C含量降低。试验发现,糖尿病小鼠血清TC、TG和LDL-C显著升高,HDL-C显著降低,而经各剂量组柑橘皮总黄酮治疗后,TC、TG、LDL-C明显降低,HDL-C显著升高,说明柑橘皮总黄酮对改善糖尿病小鼠的脂代谢紊乱具有有益的作用。因此,柑橘皮总黄酮的降血糖作用可能与其降血脂作用有关。

4 结论

柑橘皮黄酮可极显著降低四氧嘧啶糖尿病小鼠的血糖水平,其作用机理可能与增强机体免疫力、提高抗氧化作用以及改善脂代谢紊乱有关,为柑橘皮的开发利用提供理论依据。

参考文献

- [1] 王卫东,赵志鸿,张小俊,等.陈皮提取物中黄酮类化合物及抗氧化的研究[J].食品工业科技,2007,28(9):98-100
- [2] Da Silva Emim J A, Oliveira A S, Lapa A J. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice [J]. Journal of pharmacy and Pharmacology, 1994, 46(2): 118-122
- [3] Cha J Y, Cho Y S, Kim I, et al. Effect of hesperetin, a citrus flavonoid, on the liver Triacylglycerol content and phosphatidate Phosphohydrolase activity in orotic acid-fed rats [J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2001, 56(4): 349-358
- [4] Koyuncu H, Berkarda B, Baykut F, et al. Preventive effect of hesperidin against inflammation in CD-1 mouse skin caused by tumor promoter [J]. Anticancer Research, 1999, 19(4B): 3237-3241
- [5] Kawaguchi K, Kikuchi S, Hasunuma R, et al. Suppression of infection-induced endotoxin shock in mice by a Citrus flavanone naringin[J]. Planta Medica, 2004, 70(1): 17-22
- [6] Kurowska E A, Mantney J A. Hypolipidemic effects and absorption of citrus polymethoxylated flavones in hamsters with diet-induced hypercholesterolemia [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(10): 2879-2886
- [7] 高荫榆,罗丽萍,王应想,等.薯蓣黄酮降血糖作用研究[J].食品科学,2005,26(3):218-220
- [8] 胡忠泽,杨久峰,谭志静.柿叶黄酮对糖尿病小鼠降血糖作用及机制探讨[J].营养学报,2006,28(6):540-541
- [9] Shu X S, Lv J H, Tao J, et al. Antihyperglycemic effects of

- total flavonoids from *Polygonatum odoratum* in STZ and alloxan-induced diabetic rats [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2009, 124: 539-543
- [10] 苏东林,单杨,李高阳.柑橘皮里功能性物质种类及其提取工艺的研究进展[J].现代食品科技,2007,3:90-94
- [11] 张喜梅,李琳,陈玲,等.葛根总黄酮提取工艺研究[J].现代食品科技,2008,24(1):42-45
- [12] Takasu N, Komiya I, Asawa T, et al. Streptozocin- and alloxan-induced H₂O₂ generation and DNA fragmentation in pancreatic islets. H₂O₂ as mediator for DNA fragmentation [J]. Diabetes, 1991, 40(9): 1141-1145

现代食品科技