

氧化白藜芦醇的降血糖作用

蒙富声¹, 过利敏^{2,3*}, 唐琼¹, 蒋直宏¹, 付婷芸¹, 冯汝相¹, 包晓玮^{1*}

(1. 新疆农业大学食品科学与药学学院, 新疆乌鲁木齐 830091) (2. 新疆农业科学院农产品贮藏加工研究所, 新疆乌鲁木齐 830091) (3. 新疆农产品加工与保鲜重点实验室, 新疆乌鲁木齐 830091)

摘要: 为了探究氧化白藜芦醇(OXY)的降血糖功效。通过体外实验评估 OXY 的抗氧化活性及关键消化酶抑制作用及其类型, 并构建高脂高糖饮食联合 STZ 注射诱导 T2DM 大鼠模型进行验证, 持续灌胃 28 d 观察并记录大鼠体质量数据及多项生理生化指标, 并对大鼠的肝和肾组织进行病理学观察。体外结果显示, OXY 对 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除的 IC₅₀ 分别为 7.139 和 16.59 μg·mL⁻¹; 对 α-淀粉酶呈剂量依赖性抑制, IC₅₀ 为 1.41 mg·mL⁻¹, 并以非竞争方式抑制 α-葡萄糖苷酶, IC₅₀=66.59 μg·mL⁻¹, K_i=60.82 μg·mL⁻¹。动物实验表明, 与模型组相比高剂量 OXY 干预后, FBG、FINS、TG、TC、LDL-C、AST、ALT、AGE、MDAs、AUC、HOME-IR 水平和 GSK-3β 相对基因表达量分别降低 32.1%、19.52%、25.13%、21.29%、32.71%、21.39%、28.9%、10.13%、31.37%、17.52%、39.32%、13.16% (*P*<0.05), GSH-Px、SOD 水平和 GYS2 相对基因表达量分别提升 40.2%、26.24%、18.37% (*P*<0.05); 组织病理学显示, OXY 改善肝细胞脂肪变性及炎症细胞浸润和肾小管上皮细胞空泡化。综上所述, OXY 具有降血糖功效和改善 T2DM 及相关症状的潜力, 可为其在天然产物的开发应用中提供理论基础。

关键词: 氧化白藜芦醇; α-葡萄糖苷酶; 降糖; 2 型糖尿病; 大鼠

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.6.0495

The Hypoglycemic Effect of Oxyresveratrol

MENG Fusheng¹, GUO Limin^{2,3*}, TANG Qiong¹, JIANG Zhihong¹, FU Tingyun¹, FENG Ruxiang¹, BAO Xiaowei^{1*}

(1.College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830091, China)
(2.Institute of Agricultural Products Storage and Processing, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, China)(3.Xinjiang Key Laboratory of Agricultural Products Processing and Preservation, Urumqi, 830091, China)

Abstract: In order to explore the hypoglycemic effect of oxyresveratrol (OXY). *In vitro* experiments were conducted to evaluate the antioxidant activity of oxidized resveratrol (OXY) and characterize its inhibitory mechanisms on key digestive enzymes. A type 2 diabetes mellitus (T2DM) rat model was subsequently established through high-fat/high-sucrose diet feeding combined with streptozotocin (STZ) injection for pharmacological validation. Daily oral administration was maintained for 28 consecutive days, during which body weight fluctuations, multiple physiological and biochemical parameters were systematically monitored and recorded. Histopathological examinations were performed on hepatic and renal tissues to assess organ-specific therapeutic effects. *In vitro* results showed that the half-maximal inhibitory concentrations (IC₅₀) of OXY for DPPH and ABTS⁺ radical scavenging were 7.139 and 16.59 μg·mL⁻¹, respectively. The inhibitory effects of OXY on α-amylase were found to be dose-dependent, with an IC₅₀ value of 1.41 mg·mL⁻¹. Additionally, the inhibition of α-glucosidase by OXY was determined to be non-competitive, with an IC₅₀ of 66.59 μg·mL⁻¹ and a K_i value of 60.82 μg·mL⁻¹. In animal experiments, it was demonstrated that, after intervention with high-dose OXY, the levels of fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), triglycerides (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), advanced glycation end products (AGE), malondialdehyde (MDAs), areas under the curve (AUC), homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR), and the relative gene expression level of GSK-3β were reduced by 32.1%, 19.52%, 25.13%, 21.29%, 32.71%, 21.39%, 28.9%, 10.13%, 31.37%, 17.52%, 39.32%, and 13.16%, respectively, compared with the model group (*P*<0.05). Meanwhile, the levels of glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD), and the relative gene expression level of GYS2 were increased by 40.2%,

收稿日期: 2025-04-09; 修回日期: 2025-05-29; 接受日期: 2025-06-03

基金项目: 新疆维吾尔自治区杰出青年科学基金项目(2024D01E11); 新疆农业科学院农业科技创新稳定支持专项课题(xjnkylwdzc-2023003-2); 国家科技部外国专家引进项目(G2023046003L)

作者简介: 蒙富声(1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品安全, E-mail: 1056364897@qq.com

通讯作者: 包晓玮(1969-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养与安全, E-mail: 408531623@qq.com; 共同通讯作者: 过利敏(1979-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 农产品深加工与功能营养评价研究, E-mail: guolm_xj@163.com

26.24%, and 18.37%, respectively ($P<0.05$). Histopathological examination revealed that OXY improved hepatic steatosis, inflammatory cell infiltration, and vacuolation of renal tubular epithelial cells. Collectively, OXY has been evidenced to exert hypoglycemic effects and mitigate T2DM-related pathological manifestations, which lays a theoretical groundwork for its phytopharmaceutical exploration in natural product-derived therapeutics.

Key words: oxyresveratrol; α -glucosidase; hypoglycemic effect; Type 2 diabetes mellitus; rats

糖尿病是一种以代谢紊乱为特征的慢性疾病,其核心病理机制为胰岛素分泌不足或作用障碍,导致血糖水平异常升高。长期高血糖状态可引发多系统并发症,包括视网膜病变、心血管功能异常、肝损伤及糖尿病足等^[1]。在糖尿病患者中,T2DM 患者占据主导地位,其发病率超过 90%^[2]。目前 T2DM 的临床治疗主要依赖胰岛素注射或口服降糖药物,如双胍类和 α -糖苷酶抑制剂,但这些疗法常伴随腹胀、腹泻等胃肠道不良反应^[3]。因此,寻找高效无副作用的天然降血糖物质对于改善 T2DM 治疗策略具有重要意义。

氧化白藜芦醇(Oxyresveratrol, OXY),分子式为 $C_{14}H_{12}O_4$,又名氧化芪三酚,为白藜芦醇 2'-羟基化的衍生物,主要存在于桑科、买麻藤科等植物中的一种多酚类化合物^[4]。植物多酚作为一类广泛分布于植物次生代谢产物中的功能性化合物,其生物活性特征表现为剂量效应依赖性,植物多酚其短期干预对健康指标的改善作用相对有限,但长期适量摄入对 T2DM 等慢性代谢性疾病具有潜在防治价值^[5]。传统草药在民族医学中用于治疗 T2DM 已有悠久历史,其安全性和经济性使其备受关注,而天然产物的化学多样性为协同调控 T2DM 的复杂病理过程提供了可能^[6]。据报道,OXY 具有多种生物学效应,包括降血糖^[7]、抗病原微生物^[8]、神经保护^[9]、抗炎^[10]及抗肥胖等作用^[11]。李永生等^[7]通过构建指纹图谱得出桑白皮含有 OXY 天然成分,并通过桑白皮乙醇提取物定量定性方法得到 OXY 对 α -葡萄糖苷酶有抑制相关性。目前研究多聚焦于白藜芦醇,OXY 研究报道少且具有局限性,缺乏关于 OXY 降血糖系统研究,因此进一步全面对 OXY 进行降血糖作用的研究,具有重要的科学意义和实践价值。

本研究先初步探究 OXY 的体外抗氧化能力,并分析其对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制效果及后者作用类型,以初步评价其降糖潜力。随后,采用 STZ 联合高脂高糖饮食构建 T2DM 大鼠模型,考察 OXY 对 T2DM 大鼠血糖调控、脂代谢紊乱、氧化应激状态、脏器组织病理及肝脏糖代谢基因的影响。旨在为 OXY 作为一种新型天然降糖化合物的开发与应用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 实验材料与动物

氧化白藜芦醇经公司从桑树根茎中提取、浓缩、分离和纯化等工艺后得到,由南京景竹生物科技有限公司提供,纯度 $\geq 98\%$,批号为 JZ20030125;实验动物为 SPF 级 90~110 g 雄性 SD 大鼠,购买于新疆医科大学实验动物中心,许可证号:SYXK(新)2023-0001。基础饲料:新疆医科大学,高脂高糖饲料:江苏美迪森生物医药有限公司。饲料营养成分均符合 GB 14924.3-2010《实验动物配合饲料营养成分》的要求。本研究涉及的动物实验方案已经通过新疆农业大学实验动物福利伦理委员会审核批准,批准号为:2023026。

1.1.2 试剂

2,2-二氮-双铵盐(ABTS)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、总 RNA 提取试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;4-硝基苯-a-D-吡喃葡萄糖苷(PNPG)、 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶、3,5-二硝基水杨酸试剂(DNS)、盐酸二甲双胍、链脲佐菌素(STZ),上海源叶生物科技有限公司;阿卡波糖(HPLC $\geq 98\%$)、可溶性淀粉,上海麦克林科技有限公司;维生素 C(Vc),东北制药集团股份有限公司;谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、晚期糖基化终末产物(AGEs)、总超氧化物歧化酶(SOD)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、空腹胰岛素(FINS)测定试剂盒,南京建成生物工程研究;苏木精伊红染液,武汉赛维尔生物科技有限公司;TransScript Green qPCR 试剂盒,北京全式金生物技术有限公司,所其他试剂均为国产分析纯。

1.1.3 仪器

DHG-9140A 电热恒温鼓风干燥箱,上海一恒科技有限公司;PL-203 电子天平,梅特勒-托利多仪器上海有限

公司; DZKW-D-2 电热恒温水浴锅, 北京市永光明医疗仪器有限公司; SynergyH1 多功能酶标仪, 美国伯腾仪器有限公司; SB-5200DT 型超声波清洗机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; 三诺血糖仪, 三诺生物传感股份有限公司; MTP 型生物组织脱水机, 德国 SLEE 公司; BMJ-1 型生物组织包埋机, 中国天津天利航空机电有限公司; RM2235 型石蜡切片机, 德国 LEICA 公司; RS-18II 型生物组织染色机, 中国宏业仪器有限公司; MICROM CTM-6 生物组织封片机, 美国 Thermo SCIENTIFIC 公司, ABI 7500 荧光定量 PCR 仪, 美国 Applied Biosystems 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 DPPH 自由基清除率测定

参考 Sheng 等^[12]的方法稍作修改, 在 96 孔板中加入质量浓度 1.8125、3.625、7.5、15、30、60 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 待测样品 100 μL 与 DPPH 溶液 100 μL , 混合后, 以不含 DPPH 的无水乙醇作为空白对照, 在室温下避光反应 30 min, 在 517 nm 处测定吸光值, 用 Vc 作阳性对比, 每组 3 个平行。按如下公式 (1) 计算 DPPH 自由基的清除率:

$$C_1 = (1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3}) \times 100\% \quad (1)$$

式中:

C_1 ——DPPH 自由基清除率测定, %;

A_1 ——100 μL 样品+100 μL DPPH;

A_2 ——100 μL 样品+100 μL 溶剂;

A_3 ——100 μL DPPH+100 μL 溶剂。

1.2.2 ABTS+自由基清除率

参考石丽娟等^[13]的方法稍作修改, 在 96 孔板中加入质量浓度 3.625、7.5、15、30、60、120 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 待测样品 16 μL 与 ABTS 工作液 184 μL , 以蒸馏水为空白, 在室温下避光反应 5 min, 在 734 nm 波长下测定吸光值, Vc 作阳性对比, 每组 3 个平行, 按如下公式 (2) 计算 ABTS+自由基的清除率:

$$C_2 = (1 - \frac{A_4 - A_5}{A_6}) \times 100\% \quad (2)$$

式中:

C_2 ——ABTS+自由基清除率, %;

A_4 ——16 μL 样品+184 μL ABTS;

A_5 ——16 μL 样品+184 μL 溶剂;

A_6 ——16 μL 溶剂+184 μL ABTS。

1.2.3 体外 α -淀粉酶抑制活性测定

参照文献^[14]所述方法有所改动, 使用 3,5-二硝基水杨酸法测定 OXY 对 α -淀粉酶的抑制作用, 取 0.125、0.25、0.5、1、2、4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 质量浓度梯度的样液 20 μL , 与 20 μL α -淀粉酶溶液 (5 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$) 混匀, 用 PBS 补充体系至 200 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下水浴 15 min, 加入 0.5% 淀粉溶液 40 μL , 继续反应 10 min 后取出加入 100 μL DNS 试剂终止反应, 在沸水浴中作用 5 min 后取出, 迅速冷却并加入 1 mL 蒸馏水稀释。以阿卡波糖作为阳性对照, 利用酶标仪于 540 nm 处检测吸光度值 (A), 进行 3 次平行实验, 按如下公式 (3) 计算抑制率:

$$C_3 = (1 - \frac{A_9 - A_{10}}{A_7 - A_8}) \times 100\% \quad (3)$$

式中:

C_3 ——抑制率, %;

A_7 ——加酶不加样品反应后吸光度值;

A_8 ——不加酶不加样品反应后吸光度值;

A_9 ——加酶加样品反应后吸光度值;

A_{10} ——不加酶加样品反应后吸光度值。

1.2.4 体外 α -葡萄糖苷酶抑制活性测定

参考李德龙^[15]的方法稍作修改,取 20 μL 质量浓度分别为 6.25、12.5、25、50、100、200、400、800 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的样品溶液和 20 μL α -葡萄糖苷酶溶液混匀后,补充 PBS 缓冲溶液至 100 μL 混匀,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 下恒温 10 min 后,迅速加入底物 PNPG 溶液,并在 37 $^{\circ}\text{C}$ 继续反应 30 min,后加入 1% Na_2CO_3 溶液终止反应,在 405 nm 波长处的吸光度测定各反应体系。阿卡波糖作为阳性对照,进行 3 次平行实验,计算参照以上公式(3)。

1.2.5 α -葡萄糖苷酶动力学

参照文献^[16,17]所述方法有所改动,固定 PNPG 底物溶液质量浓度为 7.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,分别测定不同质量浓度(0、20、40、80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的样品对不同酶液质量浓度(0、0.25、0.5、0.75、1 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$)的酶促反应的初始速率,所采用的反应条件及体系与“1.2.4”节一致,以酶液的质量浓度为横轴,通过反应体系吸光度与反应时间的比值来确定反应速率(V),以反应速率为纵轴,绘制酶促反应动力学曲线。遵照以上步骤,从不同底物 PNPG 浓度(0.47、0.94、1.88、3.75、7.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)中设定酶液质量浓度为 1 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$,逐一测定不同质量浓度样品的反应初速度。实验重复三次,根据测得的数据,引入 Lineweave-Burk 方程, $1/v$ 为纵坐标作图,以 $1/[S]$ 为横坐标绘制 Lineweave-Burk 图。

1.2.6 T2DM 模型建立

将 SPF 级 90~110 g 雄性 SD 大鼠适应性饲养 2 w。随机选取 8 只大鼠作为正常对照组(NG),该组大鼠接受普通基础饲料喂养。其余大鼠喂食高脂高糖饲料,喂食 4 w 后,高脂高糖饲料组大鼠均腹腔注射链脲佐菌素 30 $\text{mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw})^{-1}$ 溶液,NG 组给予等体积柠檬酸缓冲液腹腔注射作对照。3 d 后尾静脉采血测空腹血糖(FBG),选取 $\text{FBG}\geq 11.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的大鼠作为 T2DM 模型大鼠^[18]。实验期间成模大鼠持续接受高脂高糖饮食干预,NG 维持基础饲料喂养。

1.2.7 分组给药及测体质量

根据血糖水平和体质量,将成功构建模型的大鼠随机分配至 4 个实验组,每组 7 只,糖尿病模型组(MG)灌胃生理盐水;二甲双胍阳性药组(PG)灌胃二甲双胍, 200 $\text{mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw})^{-1}$;氧化白藜芦醇低剂量组(L-OXY)灌胃 100 $\text{mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw})^{-1}$;氧化白藜芦醇高剂量组(H-OXY)灌胃 300 $\text{mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw})^{-1}$;另外的正常对照组(NG)灌胃生理盐水,每天灌胃一次,连续 28 天,定期更换垫料,每周监测大鼠体质量。

1.2.8 肝、肾脏器指数的测定

实验大鼠经麻醉处死后,立即分离获取肝组织和肾组织样本。采用无菌生理盐水进行组织表面冲洗,随后使用无菌滤纸吸除表面残留液体,精确称量组织以获取脏器重量。肝脏、肾脏的脏器指数按公式(4)计算。

$$B_1 = \frac{D_1}{D_2} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

B_1 ——脏器指数, %;

D_1 ——脏器重量, g;

D_2 ——大鼠重量, g。

1.2.9 空腹血糖与胰岛素水平检测

各组大鼠每 7 d 禁食不禁水 12 h,于次日上午尾静脉取血检测空腹血糖(FBG)。空腹血清胰岛水平(FIN S)使用试剂盒测量,并用公式(5)计算大鼠胰岛素抵抗指数(Homeostasis model assessment insulin resistance index, HOMA-IR)。

$$B_2 = \frac{D_3 \cdot D_4}{22.5} \quad (5)$$

式中:

B_2 ——胰岛素抵抗指数;

D_3 ——空腹血糖值;

D_4 ——空腹胰岛素值。

1.2.10 口服葡萄糖耐量试验

大鼠给药 26 d 后禁食 12 h，次日早晨给药 60 min 后，灌胃 2.0 g·kg⁻¹ 的葡萄糖剂量，各组大鼠分别在 0、0.5、1.0、1.5 和 2.0 h 时尾静脉取血测血糖。绘制血糖变化图，并按公式（6）计算葡萄糖耐量曲线下面积（Area under the curve, AUC）^[19]。

$$B_3 = \frac{(D_5 + D_6) \times 0.5 + (D_6 + D_7) \times 0.5 + (D_7 + D_8) \times 0.5 + (D_8 + D_9)}{2} \tag{6}$$

式中：
B₃——葡萄糖耐量曲线下面积（AUC）；
D₅——葡萄糖后 0 h 血糖值；
D₆——葡萄糖后 0.5 h 血糖值；
D₇——葡萄糖后 1 h 血糖值；
D₈——葡萄糖后 1.5 h 血糖值；
D₉——葡萄糖后 2.0 h 血糖值。

A、B、C、D、E 分别为 0、0.5、1.0、1.5 和 2.0 h 的血糖值。

1.2.11 试验指标检测

经样品干预 28 d 后，大鼠 12 h 禁食不禁水，采用心脏穿刺法采集全血样本，经分离血清后，分装保存于-80 ℃超低温冰箱直至检测。按照说明书流程测定血清生化指标中的 TC、TG、HDL-C、LDL-C、AGEs、AST、ALT、AKP、LDH、SOD、GSH-Px、MDA。

1.2.12 肝、肾组织病理学观察

将处理好的肝组织和肾组织样本置于 10%中性多聚甲醛固定液中，固定 24 h 后进行组织脱水处理，依次进行乙醇梯度脱水、二甲苯透明、石蜡包埋法制备组织块、组织切片、脱蜡、苏木精-伊红（HE）染色、最后用中性树胶封片，在光学显微镜下观察肝组织和肾组织形态学特征并进行图像采集分析。

1.2.13 实时荧光定量 PCR

实时荧光定量 PCR 检测大鼠肝脏中 GYS2 和 GSK-3β 的 mRNA 表达。将大鼠肝脏组织完全裂解后，通过试剂盒提取肝脏组织总 RNA，逆转录为 cDNA 后进行 PCR 反应，PCR 反应体系设置为 20 μL，包括上下游引物各 0.5 μL、模板 cDNA 2 μL、去离子水 7 μL、2×TransScript Green qPCR SuperMix 10 μL。PCR 扩增程序为：95 ℃预变性 30 s，95 ℃变性 5 s，55 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 30 s，整个过程进行 45 次循环。引物序列见表 1。每个反应设置 3 个重复，以β-actin 为内参进行归一化，采用 2^{-ΔΔCt} 法计算样品中各基因的相对表达量。

表 1 荧光定量 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences for fluorescence quantitative PCR		
基因名称	上游引物（5'-3'）	下游引物（5'-3'）
β-actin	GCTATGTGGCTCTTGACTTCG	AGCTCAGTAACAGTCCGCCTAGA
GYS2	CTGCCCTACCACGACCAAG	GGACCAGCCTGCCACTCAT
GSK-3β	GCTGTGTGTTGGCTGAATTGTTG	TTTGCTCCCTTGTTGGTGTTC

1.3 统计学分析

实验重复 3 次，采用 SPSS 27.0 版本软件进行数据统计与分析，计量数据通过平均值加减标准差（x±s）的形式进行表述。为评估各组之间的差异，采用了单因素方差分析和多重比较方法，若 P<0.05，则认为差异具有统计学显著性。并运用 GraphPad Prism 9.5 软件制作统计图表。

2 结果与讨论

2.1 抗氧化的测定

2.1.1 DPPH 自由基清除能力的测定

结果如图 1 所示，随着质量浓度的逐步提升，OXY 与 Vc 展现出的 DPPH 自由基清除能力均呈现增强趋势，

其中 OXY 在 $1.82\sim60\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 存在着良好的剂量-效应关系($P<0.05$),通过线性拟合可算出 OXY 和 Vc 清除 DPPH 自由基的半抑制浓度 (IC_{50}) 分别为 7.139 、 $5.072\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。在 $60\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, OXY 清除率最高达到 90.09% 。李俊^[20]从菠萝蜜当中提取分离纯化得到 OXY 具有一定的清除 DPPH 自由基的能力,得到结果 IC_{50} 值为 $20.86\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 本实验结果更好可能是纯度方法差异原因,其 OXY 本身分子结构中含有多个酚羟基可供电子,这表明 OXY 具有较好的 DPPH 自由基清除能力。

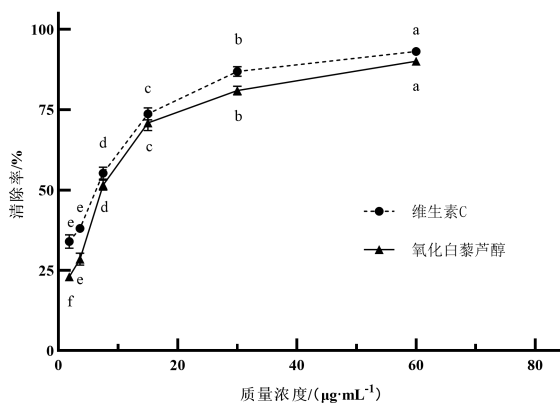


图1 OXY 对 DPPH 自由基的清除效果

Fig.1 The scavenging effect of OXY on DPPH free radicals

注: 同一样本中不同小写字母表示其质量浓度与抑制率之间差异显著, $P<0.05$ 。图 1~4 同。

2.1.2 ABTS+自由基清除能力的测定

结果如图 2 所示, OXY 和 Vc 对 ABTS^+ 自由基具有清除效果, 其中 OXY 在 $3.63\sim60\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 存在剂量效应 ($P<0.05$), 在 OXY 质量浓度为 $120\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的条件下, 其展现出的最高清除效率达到了 97.13% 。OXY 对 ABTS^+ 自由基的 IC_{50} 为 $16.59\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 低于 Vc 的 IC_{50} 值为 $19.17\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。与陈莹等^[21]合成研究的 OXY 清除 ABTS^+ 阳离子自由基的 IC_{50} 值为 $0.17\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 相比, 本试验中植物提取的 OXY 抑制效果更好, 可能本身是天然成分的 OXY 比合成的较好, OXY 具有共轭双键与 ABTS^+ 自由基相结合, 这表明 OXY 具有较好的 ABTS^+ 自由基清除能力。

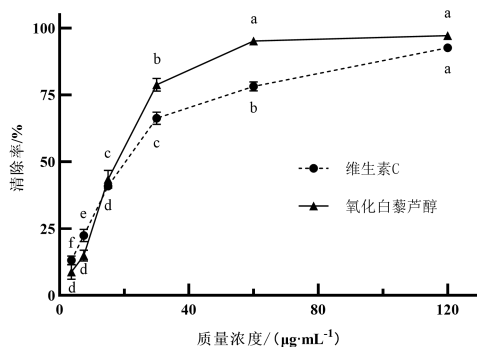
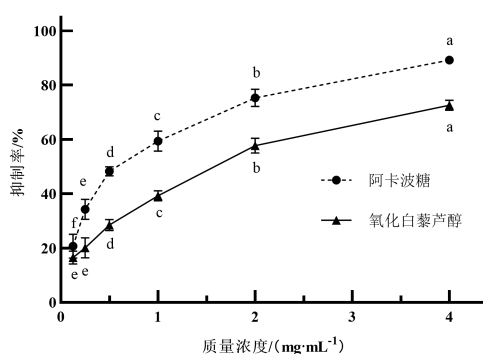


图2 OXY 对 ABTS+自由基的清除效果

Fig.2 The clearance effect of OXY on ABTS+free radicals

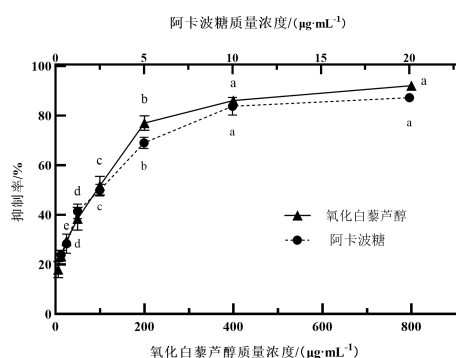
2.2 OXY 对 α -淀粉酶的抑制作用强度

如图 3 所示, OXY 和阿卡波糖在质量浓度 $0.25\sim4\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内时, 其抑制率存在明显的剂量效应($P<0.05$), 这是因为多酚化合物可以通过疏水缔合或与极性基团形成氢键与酶相互作用, 从而改变酶的结构并影响其活性。当质量浓度为 $4\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, OXY 和阿卡波糖的抑制率分别达到 72.57% 、 87.18% , 其两者 IC_{50} 值分别为 1.41 和 $0.58\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。史明威等^[22]研究了多酚类化合物的绿原酸对 α -淀粉酶的抑制活性, $5\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的质量浓度时抑制率为 66.1% , 其 IC_{50} 值为 $4.2\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 与同是多酚的 OXY 抑制结果相似, 表明了 OXY 对 α -淀粉酶具有抑制作用。

图3 OXY和阿卡波糖对 α -淀粉酶的抑制作用Fig.3 Inhibition of α -amylase by OXY and acarbose

2.3 OXY 对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用强度

如图4所示,不同质量浓度下的OXY对 α -葡萄糖苷酶有抑制作用,其中OXY在25~400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 存在剂量效应($P<0.05$),随着质量浓度的升高,OXY对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果愈加明显。当OXY为800 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,抑制率达到最大为92.10%。通过线性拟合得 IC_{50} 为66.59 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,阳性对照阿卡波糖 IC_{50} 值为3.057 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。马利华等^[23]研究了槐花多酚对 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 为9.16 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,表明同是多酚化合物的OXY表现出较好的 α -葡萄糖苷酶抑制作用,有望作为一种潜在的 α -葡萄糖苷酶抑制剂。

图4 OXY和阿卡波糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用Fig.4 Inhibition of α -glucosidase by OXY and acarbose

2.4 OXY 对 α -葡萄糖苷酶的抑制动力学

对酶抑制剂的OXY进行动力学研究,以揭示OXY对 α -葡萄糖苷酶的抑制机制。如图5所示,四条回归曲线以直线展示,不同浓度的直线均穿过原点,其直线斜率随着OXY质量浓度的增加而降低,这些结果说明OXY对 α -葡萄糖苷酶的作用方式属于可逆型抑制,能够有效降低 α -葡萄糖苷酶催化底物PNPG生成对硝基苯酚的速率,不是使酶完全失活。可逆型抑制通过非共价相互作用的方式与酶实现了可逆性结合,引发酶活性的下降进而导致其催化效能的减弱^[24]。

如图6展示的是OXY对 α -葡萄糖苷酶作用所得的Lineweaver-Burk结果。当底物处于0.47~7.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 质量浓度时,不同反应体系抑制剂质量浓度的直线在X轴相交。且随着抑制剂质量浓度的递增,直线的斜率增大,而米氏常数 K_m 恒定不变,最大反应速率 V_{max} 呈逐渐下降趋势,这揭示了OXY对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用符合非竞争性抑制类型。常用降糖药阿卡波糖是一种竞争性抑制剂,其会与底物竞争酶的活性位点,这使得其抑制效果易受底物浓度变化影响^[25]。而相反,属于非竞争性抑制的OXY可作用于酶的非活性位点,并不与底物在活性位点产生竞争关系,其抑制效能不受底物浓度波动干扰。且非竞争性抑制可在不影响酶与底物亲和力的前提下,实现

对酶最大反应速率的调低。这表明非竞争性抑制能够依据需求对酶活性更为精准的调控。

解离常数 K_i 是评估酶抑制剂复合物亲和力强弱的指标。较小的 K_i 值表明酶与抑制剂之间的结合更为紧密，这种紧密结合会导致抑制剂的抑制效果更为显著。如图 7 所示，利用不同质量浓度抑制剂所得双倒数斜率为依据，对抑制剂质量浓度进行二次绘图分析得 K_i 为 $60.82\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，钱敏^[26]发现蚕豆中结合态多酚对 α -葡萄糖苷酶抑制类型为非竞争性抑制， $K_i=2.03\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，OXY 的抑制常数 K_i 小于蚕豆结合态多酚对 α -葡萄糖苷酶的 K_i 值，表明 OXY 和 α -葡萄糖苷酶结合紧密，效果好于蚕豆结合态多酚。

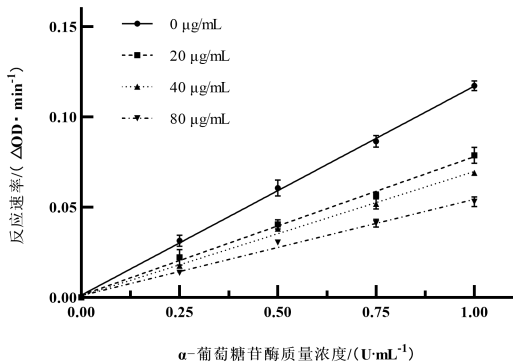


图 5 OXY 对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用类型

Fig.5 Types of inhibitory effects of OXY on α - glucosidase

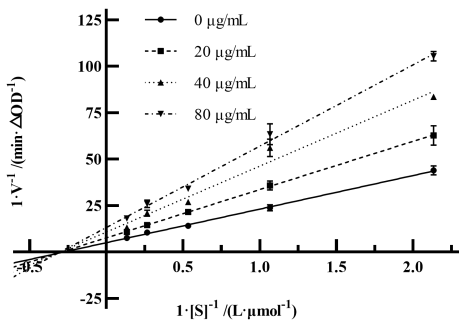


图 6 OXY 对 α -葡萄糖苷酶作用的双倒数曲线图

Fig.6 Double reciprocal curve of OXY's effect on α - glucosidase

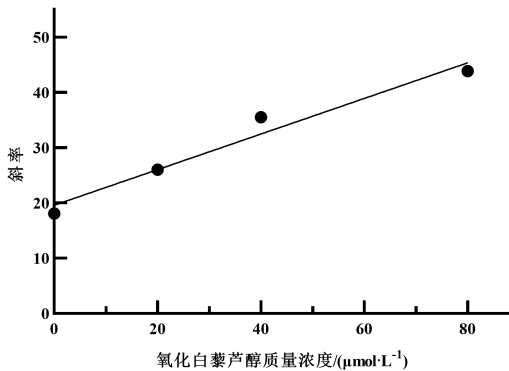


图 7 OXY 对 α -葡萄糖苷酶的抑制动力学斜率($V_{\max}\cdot K_m^{-1}$)对抑制剂质量浓度的二次坐图

Fig.7 Quadratic plot of the inhibition kinetics slope ($V_{\max}\cdot K_m^{-1}$) of OXY on α - glucosidase versus inhibitor mass concentration

2.5 OXY 对 T2DM 大鼠体质量的影响

造模成功后 T2DM 大鼠通常表现出一些典型的体质量变化，随着 T2DM 病程的进展，患者常出现体质量下降，这一现象主要归因于胰岛素抵抗（IR）导致的葡萄糖利用障碍。由于 IR 状态，机体无法有效利用葡萄糖作为

能量来源, 转而通过加速脂肪分解和蛋白质代谢来维持能量供应, 最终导致体质量显著降低^[27]。如表 2 所示, T2DM 大鼠随着病情的加重体质量持续下降, 这可能与 T2DM 血糖高时消耗脂肪来提供能量有关。T2DM 大鼠在建模后体质量呈下降趋势, 造模 21 d 后, MG 组与保持体质量增长的 NG 组形成极显著性差异 ($P<0.01$)。28 d 后, 与干预前体质量相比, PG 组、L-OXY 组和 H-OXY 组大鼠的体质量分别减少了 4.59%、9.73%和 6.29%, 表明 OXY 干预后可以使 T2DM 大鼠的体质量减轻症状得到了一定程度的缓解。

表 2 OXY 对 T2DM 大鼠体质量的影响

Table 1 The effect of OXY on body weight of T2DM rats					
组别	体质量/g				
	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d
NG 组	400.6±23.68	414.5±32.94	452.4±24.86	469.4±27.37	491±29.89
MG 组	423.5±40.33	395.2±39.27	378.2±46.76	368.9±43.03**	362.9±41.45**
PG 组	431.3±32.63	415.8±29.36	409.3±25.66	406.3±29.50	411.5±42.48#
L-OXY 组	420.4±47.64	397.6±53.38	386.2±50.73	382.6±56.38	379.5±50.08
H-OXY 组	442.3±28.53	427.9±30.09	418.8±27.55	413.3±32.42	414.5±31.77#

注: 与正常对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ 。下同。

2.6 OXY 对 T2DM 大鼠肝脏和肾脏器指数的影响

机体的生理稳态维持依赖于各组织器官的协同作用, 长期摄入高脂膳食可导致内分泌系统功能失调, 引起代谢相关激素分泌紊乱。T2DM 病理状态下, 肝脏和肾脏作为主要代谢器官承受过度的功能负荷, 这种持续性代谢压力可能导致肝肾功能损伤、器官体积增大等病理改变, 同时, 实验观察发现, T2DM 大鼠的脏器质量指数显著升高, 这一现象与代谢紊乱导致的器官代偿性增生密切相关^[28]。如图 8 所示, 与 NG 组相比, MG 组大鼠的脏器指数呈现极显著性升高 ($P<0.01$), 这一结果表明 T2DM 可导致肝肾组织发生病理性改变。经过 28 d 的样品干预后, OXY 组与 MG 组比较, OXY 组表现出显著的脏器指数改善 ($P<0.05$), 其中 L-OXY 组的肝指数和肾指数分别降低了 9.15%和 9.32%, 而 H-OXY 组则分别降低了 15.80%和 13.27%。Wang 等^[29]研究表明天然产物对 T2DM 小鼠肝脏指数有显著下降, 肾脏指数各剂量组均有不同程度降低, 减轻了对 T2DM 小鼠脏器组织的影响。这证实了 OXY 能够有效缓解糖尿病引起的肝肾组织损伤, 且呈现剂量依赖性保护作用。

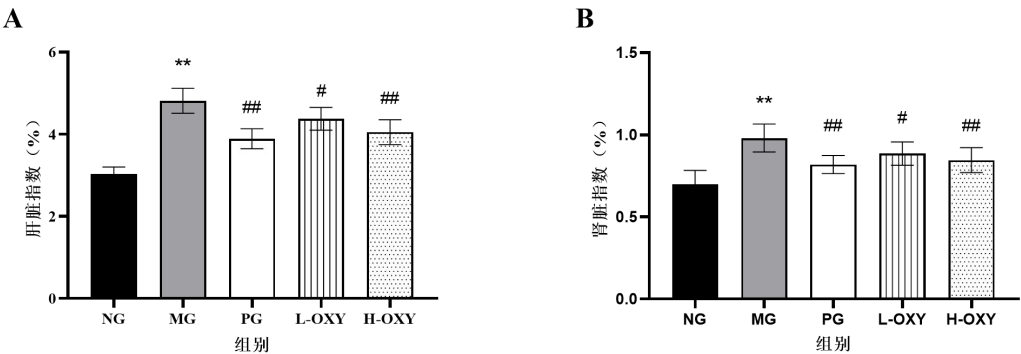


图 8 OXY 对 T2DM 大鼠肝脏指数 (A) 和肾脏指数 (B) 的影响

Fig.8 The effect of OXY on liver index (A) and kidney index (B) in T2DM rats

注: 与正常对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$, ## $P<0.01$, 下同。

2.7 OXY 对 T2DM 大鼠空腹血糖的影响

FBG 可以直观地体现机体的血糖水平, 是糖尿病诊断的重要指标之一^[30]。表 3 说明, 在初始分组后, MG 组与 PG、L-OXY、H-OXY 组大鼠 FBG 无显著差异 ($P>0.05$), 均在 $17\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上。在进行样品干预后, 二甲双胍、OXY 各组大鼠血糖值均有不同程度的降低, 且随着干预时间的增长, 大鼠高血糖浓度持续性下降。在干预 28 d 后, L-OXY 和 H-OXY 组大鼠平均血糖值与 T2DM 组相比均有显著差异 ($P<0.01$), 分别下降了 33.81%和

15.67%。

Li 等^[31]研究表明发芽绿豆多酚中、高剂量组空腹血糖值实验结束时较模型组明显降低，发芽绿豆多酚在干预期间改善 T2DM 小鼠的血糖水平。结果表明 OXY 可以有效降低 T2DM 大鼠血糖浓度，且 OXY 高剂量降血糖效果显著。

表 3 OXY 对 T2DM 大鼠空腹血糖值的影响

Table 3 The effect of OXY on fasting blood glucose levels in T2DM rats

组别	剂量 /(g·kg ⁻¹)	FBG/(mmol·L ⁻¹)				
		0 d	7 d	14 d	21 d	28 d
NG 组	-	3.80±0.63	4.23±0.28	4.11±0.30	4.15±0.4	3.99±0.37
MG 组	-	17.01±2.03**	17.88±1.80**	17.29±2.37**	19.54±1.90**	20.29±2.23**
PG 组	0.2	17.86±4.16	18.15±2.24	16.16±1.67	13.43±1.24 ^{##}	12.06±0.90 ^{##}
L-OXY 组	0.1	20.00±3.10	19.48±1.97	18.25±1.73	17.8±1.60	17.11±1.43 ^{##}
H-OXY 组	0.3	18.53±2.80	17.91±2.70	16.05±1.65	14.31±1.25 ^{##}	13.43±1.00 ^{##}

2.8 OXY 对 T2DM 大鼠口服葡萄糖耐量试验的影响

口服葡萄糖耐量试验（OGTT）是一种重要的临床检测方法，用于评估机体对血糖水平的调节能力。通过监测外源性葡萄糖，其负荷后的血糖动态变化，能够有效反映胰岛β细胞分泌胰岛素的功能状态，因此可作为评价外周组织胰岛素敏感性的重要指标^[32]。如图 9A 所示，在补充葡萄糖 30 分钟内，所有组别大鼠血糖均呈现迅速上升趋势。MG 组表现出显著的葡萄糖耐量受损特征，在口服葡萄糖负荷后，血糖浓度迅速攀升至峰值 24.13 mmol·L⁻¹，且呈现缓慢的下降趋势，在 2 小时观察期内未能恢复至空腹基线水平。如图 9B 所示，通过 AUC 发现，NG 组的 AUC 值显著低于 MG 组（*P*<0.01），这一结果证实 T2DM 大鼠存在严重的糖代谢紊乱。与 MG 组相比较，H-OXY 组能够显著降低 AUC 面积（*P*<0.05），降低了 17.52%，表明 OXY 能够提高糖尿病大鼠的葡萄糖耐受能力。

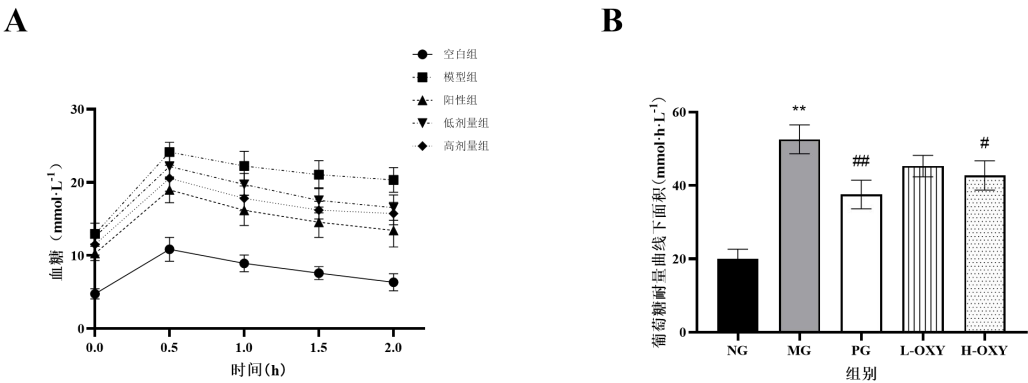


图 9 OXY 对 T2DM 大鼠 OTGG (A) 和 AUC (B) 的影响

Fig.9 The effect of OXY on OTGG (A) and AUC (B) in T2DM rats

2.9 OXY 对 T2DM 大鼠血清胰岛素及其相关指数影响

胰岛素分泌不足和产生 IR 是 T2DM 主要病因，当 FBG 持续处于高水平状态时，会引发 FINS 的代偿性升高，进而导致胰岛素敏感性降低。随着胰岛β细胞功能逐渐衰竭，FINS 分泌水平下降，最终形成胰岛素抵抗状态^[33]。如图 10A 所示，MG 组大鼠空腹胰岛素水（FINS）平显著高于 NG 组，表现出高胰岛素症状。样品干预后，与 MG 组相比，PG、L-OXY 和 H-OXY 处理组大鼠空腹胰岛素水平分别下降了 25.94%、14.48%和 19.52%；OXY 的各剂量组对 T2DM 大鼠血清胰岛素水平均有不同程度降低（*P*<0.05）。胰岛素抵抗稳态模型评估（HOMA-IR）是评价胰岛素敏感性的重要指标，其数值升高反映了胰岛素介导的葡萄糖摄取和代谢效率降低。这种胰岛素抵抗状态导致肝细胞和肌细胞对葡萄糖的转运能力下降，糖原合成减少，最终引起外周血糖水平持续升高，所以 HOMA-IR 指数的异常变化与 T2DM 的发生发展密切相关^[34]。如图 10B 所示，MG 组的 HOMA-IR 较 NG 组呈现

极显著性升高 ($P<0.01$)，这一变化表明 MG 组存在胰岛素分泌功能相对缺陷和胰岛素抵抗 (IR) 状态。结合 FINS 结果，证实成功建立了 T2DM 胰岛素抵抗大鼠模型。样品干预后实验表明，L-OXY 组和 H-OXY 组的 HOMA-IR 值均较 MG 组显著下降 ($P<0.05$)，分别降低了 35.51% 和 39.32%，表明 OXY 干预可有效改善胰岛素抵抗状态。

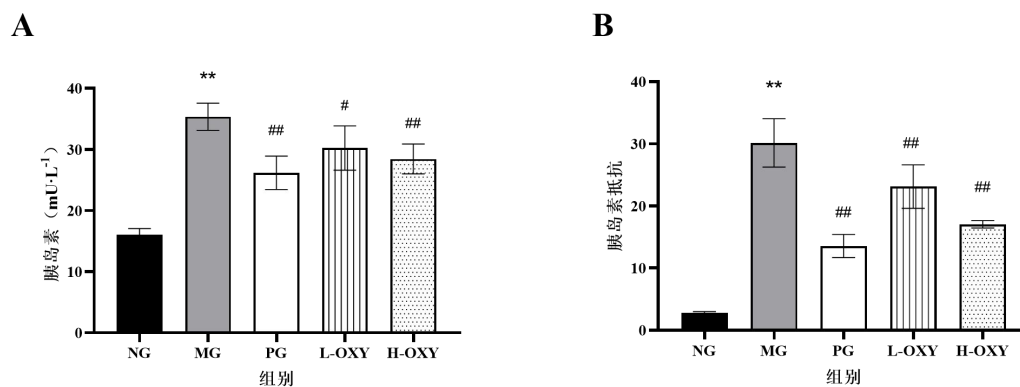


图 10 OXY 对 T2DM 大鼠 FINS 水平 (A) 和 HOMA-IR (B) 的影响

Fig.10 The effect of OXY on FINS levels (A) and HOMA-IR (B) in T2DM rats

2.10 OXY 对 T2DM 大鼠血脂代谢的影响

糖代谢异常时，胰岛素抵抗和分泌不足会抑制脂蛋白脂肪酶活性和损害脂肪组织功能，从而导致脂肪合成增加、脂肪分解减少，而引起血脂水平升高^[35]。由图 11 可知，MG 组大鼠血清中 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 含量均较 NG 组存在显著性差异 ($P<0.05$)，说明糖尿病大鼠脂代谢异常。H-OXY 组大鼠的 TG、TC 和 LDL-C 含量均显著低于 MG 组 ($P<0.05$)，分别降低了 25.13%，21.29%，32.71%，HDL-C 含量与 MG 组无显著差异 ($P>0.05$)。Yang 等^[36]研究表明桑黄里的多酚物质对 T2DM 小鼠血清 TG、HDL-C 和 LDL-C 水平有显著下降，降低了 T2DM 模型小鼠的脂质水平。以上表明 OXY 对 T2DM 大鼠血脂代谢异常的改善具有显著疗效。

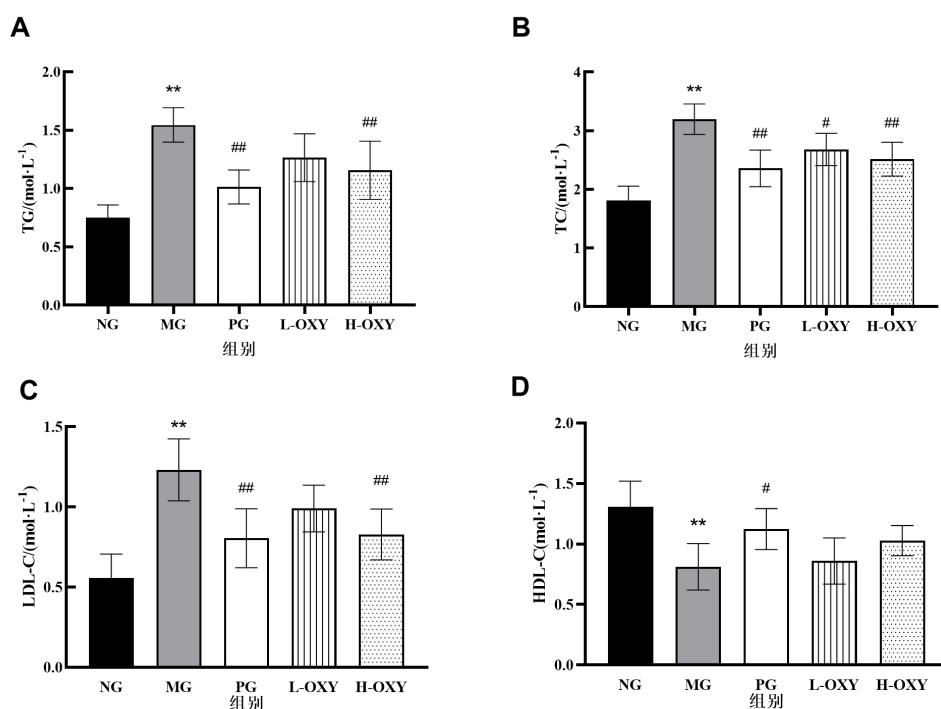


图 11 OXY 对 T2DM 大鼠 TC (A)、TG (B)、LDL-C (C)、HDL-C (D) 浓度的影响

Fig.11 The effect of OXY on the concentrations of TC (A), TG (B), LDL-C (C), and HDL-C (D) in T2DM rats

2.11 OXY 对 T2DM 大鼠肝功能指标及 AGEs 影响

研究发现, T2DM 中高血糖状态可引起糖基化终末产物 (AGE) 的累积^[37]。由图 12C 可知, 与 NG 组相比, MG 组血清的 AGEs 均显著增加 ($P<0.05$), 说明 T2DM 大鼠建模成功。与 MG 组比较, 样品干预后 H-OXY 组大鼠血清中 AGEs 浓度均显著降低 ($P<0.01$), 下降了 10.13%。肝脏作为机体的主要代谢器官和胰岛素作用的关键靶点, 在维持代谢稳态中发挥核心作用。评估肝细胞完整性和功能状态的重要生物标志物包括谷草转氨酶 (AST) 和谷丙转氨酶 (ALT)。当肝细胞膜通透性增加或细胞结构受损时, 这些酶会从胞质释放进入血液循环, 导致血清 AST 和 ALT 活性显著升高, 这一现象常被用作诊断肝损伤的敏感指标^[38]。由图 12A 和图 12B 可知, 与 NG 相比, MG 组的血清 AST 和 ALT 水平均呈现显著性升高 ($P<0.05$), 证实 T2DM 可导致肝细胞功能损伤。样品干预后, PG 组和 H-OXY 组均能显著降低 AST 和 ALT 活性 ($P<0.01$), 其中 H-OXY 组对两种酶活性的抑制作用更为显著 ($P<0.01$), 下降了 21.39% 和 28.90%, 而 OXY 低剂量组 (L-OXY) 仅对 AST 活性表现出显著降低效果 ($P<0.05$), 下降了 24.95%。这些结果表明, OXY 能够有效改善 STZ 诱导的肝细胞损伤, 对糖尿病相关肝损伤具有潜在的保护作用。

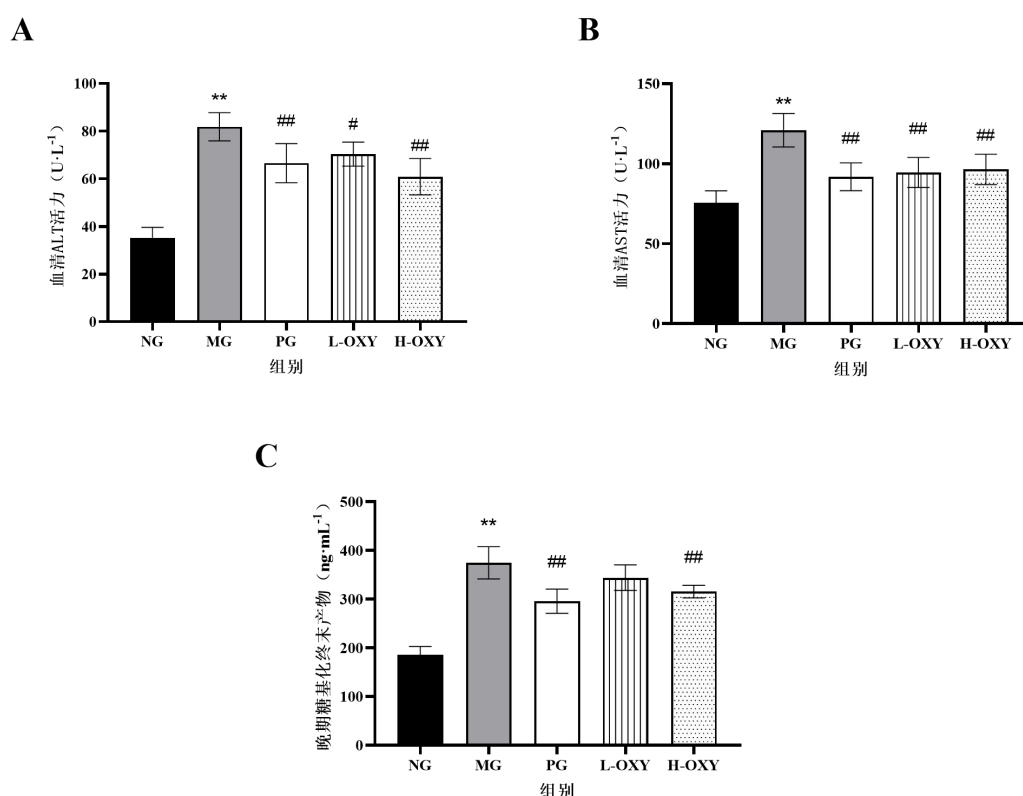


图 12 OXY 对 T2DM 大鼠 ALT (A)、AST (B)、AGEs (C) 水平的影响

Fig.12 The effect of OXY on the levels of ALT (A), AST (B), and AGEs (C) in T2DM rats

2.12 OXY 对 T2DM 大鼠抗氧化指标影响

氧化应激在糖尿病发病机制中扮演重要角色, 其与脂代谢紊乱共同构成恶性循环, 脂质代谢异常可促进自由基大量生成, 削弱机体的抗氧化防御能力, 同时导致过氧化产物异常积累, 进而诱发组织特异性氧化应激反应。当机体遭受氧化应激时, GSH 储备会耗竭, 而 SOD 作为关键抗氧化酶, 能够催化超氧阴离子转化为过氧化氢和水。血清中 MDA 水平的升高是脂质过氧化的重要标志, 反映了机体氧化损伤程度, 这一系列氧化应激相关事件最终可能促进糖尿病的发生发展^[39,40]。如图 13 所示, 与 NG 组相比, MG 组大鼠血清中的 SOD 活性和 GSH 水平均呈现显著性降低 ($P<0.05$), 而脂质过氧化标志物 MDA 浓度显著升高 ($P<0.05$)。以上表明了 MG 组大鼠的酶促和非酶促抗氧化防御系统功能均受到严重损害, 导致氧化应激水平显著增加。样品干预后, L-OXY 组和

H-OXY 组均能显著提升 SOD 活性, 分别提升了 42.35%和 26.24%, 降低 MDA 含量($P<0.05$), 分别降低了 15.96%和 31.37%, 在血清 GSH 水平上 H-OXY 组较 MG 组提高了 40.20% ($P<0.05$)。这些发现证实, OXY 能够有效改善糖尿病相关的氧化应激损伤, 增强机体的抗氧化能力。

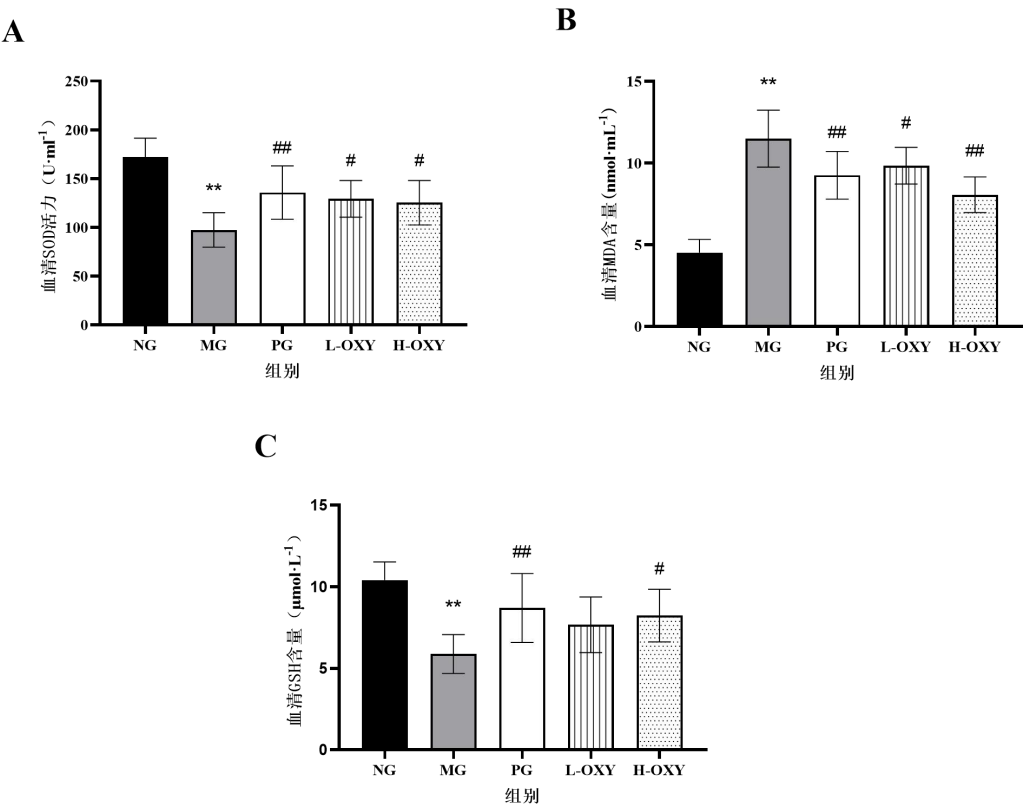


图 13 OXY 对 T2DM 大鼠 SOD (A)、MDA (B)、GSH-PX (C) 水平的影响

Fig.13 The effect of OXY on the levels of SOD (A), MDA (B), and GSH-PX (C) in T2DM rats

2.13 大鼠肝脏病理学观察

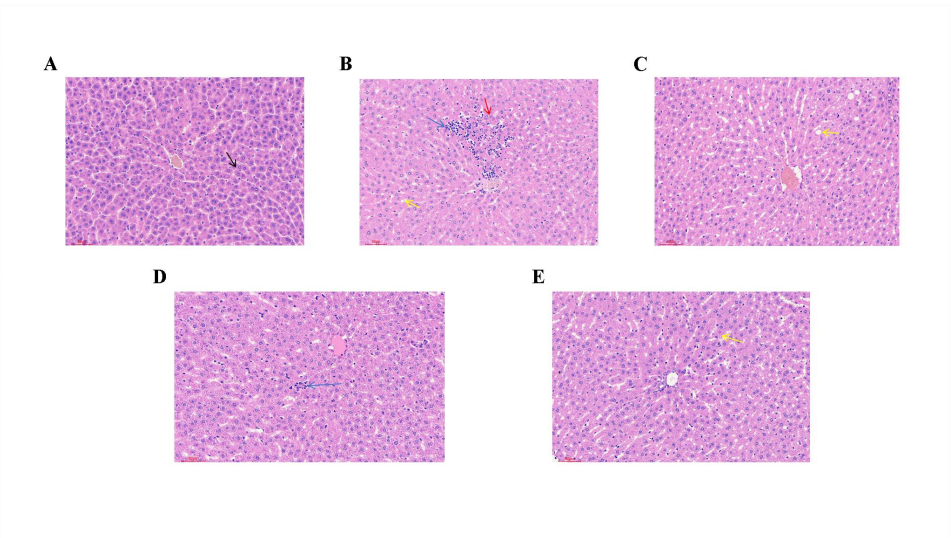


图 14 大鼠肝脏组织 HE 染色图 (×200)

Fig.14 HE staining image of rat liver tissue (×200)

注: A~E 分别代表 NG 组、MG 组、PG 组、L-OXY 组、H-OXY 组, 图 15 同。

肝脏损伤与氧化应激之间存在密切的病理生理联系, 引发氧化应激反应, 这是导致高血糖和高血脂等代谢异

常的重要病理机制之一^[41,42]。如图 14 所示, NG 组(图 A)肝小叶以中央静脉为轴心, 肝细胞呈放射状排列, 如黑色箭头所示, 肝细胞形态完整, 未观察到细胞变性、坏死或炎性细胞浸润等病理改变, 表明肝脏组织处于正常生理状态。MG 组(图 B)可见肝肝细胞脂肪变性(黄色箭头), 肝索紊乱(红色箭头), 周围较多炎细胞浸润(蓝色箭头), 说明 T2DM 大鼠肝脏组织遭受损伤。经过 4 w 的样品干预后以上现象有所缓解, PG 组和 H-OXY 组(图 C 和图 E)如黄箭头所示, 可见肝细胞脂滴情况有所减少, 肝索排列变得清晰, 炎症细胞浸润现象有所减轻; L-OXY 组(图 D)如蓝箭头所示, 有少量炎症细胞浸润。综上所述, OXY 能有效缓解 T2DM 大鼠肝脏的损伤, 对 T2DM 造成肝脏的损伤具有一定的改善作用。

2.14 大鼠肾脏病理学观察

持续性的血糖代谢异常可激活肾组织内多元醇代谢途径, 肾小管间质区域在炎症因子浸润及氧化应激作用下, 逐渐发生细胞外基质重塑和间质纤维化病变, 会演变成为糖尿病并发症^[43]。如图 15 所示, NG 组(图 A)肾脏组织学结构完整, 可见皮质内肾小球与肾小管排列紧密, 如黑箭头所示, 肾小管上皮细胞胞质均匀, 饱满, 未见明显异常。与 NG 相比, MG 组(图 B)如黄箭头所示, 可见肾小管上皮细胞空泡化, 体积增大, 如蓝箭头所示, 附近间质内还可见炎症细胞浸润。经 4 w 用药干预后这种现象有所改善, PG 组(图 C)肾脏病变可见明显好转, 如黄和蓝箭头分别所示, 仅见极少量的肾小管上皮细胞空泡化和间质内炎症细胞浸润。L-OXY 组(图 D)肾脏病变较 MG 组有所好转, 如黄箭头分所示, 空泡化的肾小管上皮细胞数量减少, 间质内仍存有少量淋巴细胞浸润。H-OXY 组(图 E)相较于 MG 组可见好转, 如蓝箭头所示, 肾小管上皮细胞空泡化已近乎不可见, 但间质内仍存有少量炎症细胞浸润。

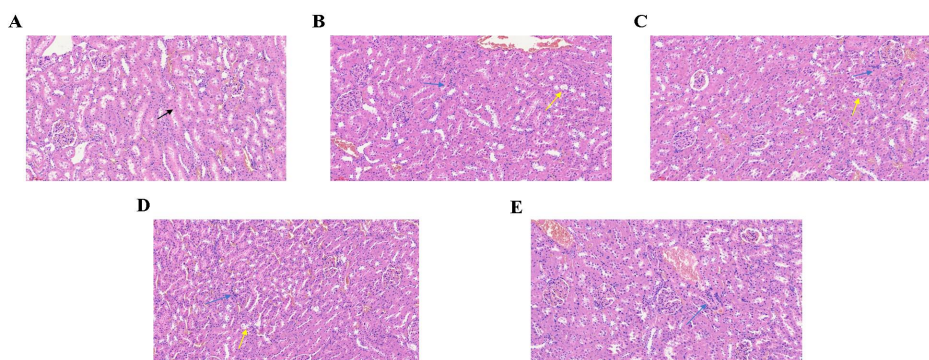


图 15 大鼠肾脏组织 HE 染色图 (×200)

Fig.15 HE staining image of rat kidney tissue (×200)

2.15 OXY 对 T2DM 大鼠肝脏糖代谢相关基因表达的影响

糖原合成酶 2 (*GYS2*) 是维持机体葡萄糖稳态的核心调控因子, 其在能量代谢平衡中具有关键作用。该酶通过催化糖原生物合成的限速步骤, 直接影响肝脏对血糖的储存能力。作为胰岛素信号通路中的调控因子, 糖原合成酶激酶-3 β (*GSK-3 β*) 的功能已被证实与 T2DM 的发生发展密切相关, *GSK-3 β* 基因的异常激活可通过抑制糖原合成酶活性, 干扰胰岛素受体底物磷酸化, 加剧外周组织摄取葡萄糖障碍, 最终引发胰岛素抵抗和糖代谢紊乱^[44,45]。如图 16 所示, 与 NG 组相比, MG 组大鼠的 *GYS2* 和 *GSK-3 β* 基因相对表达量分别显著下降和升高 ($P<0.05$), 说明胰岛素抵抗作用影响了 *GYS2* 基因相对表达量和 *GSK-3 β* 基因相对表达量正常表达。与 MG 组相比较, 样品干预组的大鼠肝脏 *GYS2* 基因相对表达量有所上升, *GSK-3 β* 基因相对表达量有所下降, 其中 H-OXY 组 *GYS2* 基因相对表达量上升了 18.37%, H-OXY 组大鼠肝脏组织的 *GYS2* 基因表达水平显著上调 ($P<0.05$)。 *GSK-3 β* 基因相对表达量下降了 13.16%, H-OXY 组大鼠肝脏组织的 *GSK-3 β* 基因表达水平显著下调 ($P<0.05$)。邓娜^[46]在青稞的多酚提取物的降血糖研究中, 表明青稞的多酚上调 *GYS2* 的基因表达, 通过调节信号通路方式调节糖代谢, 促进

葡萄糖的消耗,起到降血糖的功效。以上结果表明 OXY 可以调节 T2DM 大鼠肝脏组织中的 *GYS2* 和 *GSK-3 β* 基因的表达以此来促进葡萄糖的消耗,进而改善糖代谢异常。

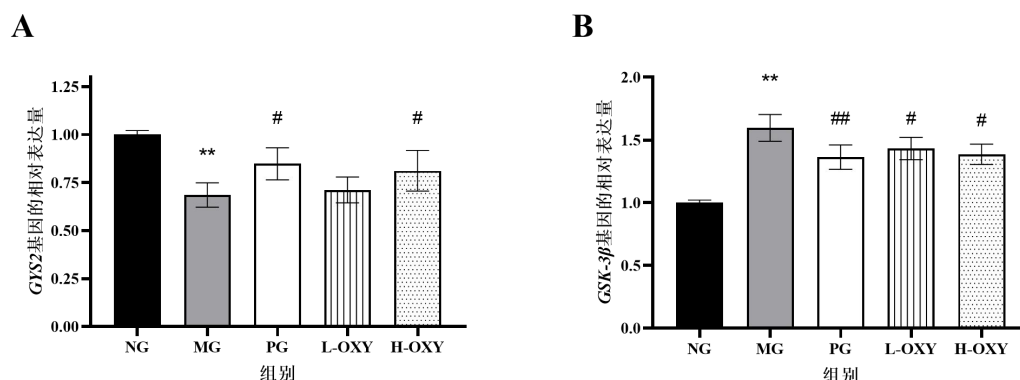


图 16 OXY 对 T2DM 大鼠肝脏 *GYS2* (A) 和 *GSK-3 β* (B) 的 mRNA 表达水平影响

Fig.16 Effect of OXY on mRNA expression levels of *GYS2* (A) and *GSK3- β* (B) in the liver of T2DM rats

3 结论

综上所述,体外实验结果表明,OXY 具有抗氧化活性,能够有效清除 DPPH 自由基和 ABTS⁺阳离子自由基,同时表现出对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制活性,其中对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用表现为非竞争性抑制模式。当前,阿卡波糖和伏格列波糖等作为 T2DM 的一线治疗药物,主要通过竞争性抑制机制发挥作用。相比之下,OXY 作为 α -葡萄糖苷酶的非竞争性抑制剂,展现出了一定的潜在优势。体内实验进一步证实,OXY 干预能够改善 T2DM 模大鼠的体质量变化和晚期糖基化终末产物水平,有效调节糖脂代谢紊乱,维持血糖稳态,并改善氧化应激状态。组织病理学分析、脏器指数评估和肝功能指标检测结果表明,OXY 能够显著减轻 T2DM 引起的肝肾组织损伤。并发现其通过调节肝脏相关降血糖基因表达来改善糖代谢紊乱。体内外实验结果结合分析,减少了实验误差,提升研究的可靠性与说服力,更全面表明 OXY 具有作为降血糖活性成分的开发潜力。然而,其具体的作用机制仍需深入探索。后续研究将聚焦于分子生物学层面,系统阐明 OXY 改善糖尿病的分子机制,为其降糖作用的深入研究和资源开发利用提供理论依据。

参考文献

- [1] NEUWAHL S J, ZHANG P, CHEN H, et al. Patient health utility equations for a type 2 diabetes model [J]. *Diabetes Care*, 2021, 44(2): 381-389.
- [2] DI S, HAN L, AN X, et al. In silico network pharmacology and in vivo analysis of berberine-related mechanisms against type 2 diabetes mellitus and its complications [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 276: 114180.
- [3] ARAKI E, TANAKA A, INAGAKI N, et al. Diagnosis, Prevention, and treatment of cardiovascular diseases in people with type 2 diabetes and prediabetes-a consensus statement jointly from the Japanese circulation society and the Japan diabetes society- [J]. *Circulation Journal*, 2020, 85(1): 82-125.
- [4] 陈春,黎家妍,黄泽鹏,等.氧化白藜芦醇对鲜切苹果及果汁褐变的影响[J].食品工业科技,2019,40(20):285-289.
- [5] MENG S, CAO J, FENG Q, et al. Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 2013(1): 801457.
- [6] EAWSAKUL K, ONGTANASUP T, NGAMDOKMAI N, et al. Alpha-glucosidase inhibitory activities of astilbin contained in *Bauhinia strychnifolia* Craib. stems: an investigation by in silico and in vitro studies [J]. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 2023, 23(1): 25.
- [7] 李永生,杨媛媛,胡静,等.桑白皮 α -葡萄糖苷酶抑制活性效应成分指数构建[J].现代中药研究与实践,2022,36(2):52-56.
- [8] LEE J H, KIM Y G, RAORANE C J, et al. The anti-biofilm and anti-virulence activities of trans-resveratrol and oxyresveratrol against uropathogenic *Escherichia coli* [J]. *Biofouling*, 2019, 35(7): 758-767.

- [9] DU H, MA L, CHEN G, et al. The effects of oxyresveratrol abrogates inflammation and oxidative stress in rat model of spinal cord injury[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2018, 17(3): 4067-4073.
- [10] WONGWAT T, SRIHAPHON K, PITAKSUTHEEPONG C, et al. Suppression of inflammatory mediators and matrix metalloproteinase (MMP)-13 by *Morus alba* stem extract and oxyresveratrol in RAW 264.7 cells and C28/I2 human chondrocytes [J]. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 2020, 10(2): 132-140.
- [11] PAN M H, KOH Y C, LEE T L, et al. Resveratrol and oxyresveratrol activate thermogenesis via different transcriptional coactivators in high-fat diet-induced obese mice [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(49): 13605-13616.
- [12] SHENG Y, MA Z, WANG X, et al. Ethanol organosolv lignin from different agricultural residues: Toward basic structural units and antioxidant activity [J]. *Food Chemistry*, 2022, 376: 131895.
- [13] 石丽娟,阿布力米提·伊力,阿吉艾克拜尔·艾萨,等.罗布麻叶总多酚纯化工艺及抗氧化活性研究[J].*医药导报*,2015,34(2):235-239.
- [14] KONG F, QIN Y, SU Z, et al. Optimization of extraction of hypoglycemic ingredients from grape seeds and evaluation of α -glucosidase and α -amylase inhibitory effects *in vitro* [J]. *Journal of Food Science*, 2018, 83(5): 1422-1429.
- [15] 李德龙.桑不同入药部位降糖有效成分及对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性研究[D].乌鲁木齐:新疆医科大学,2021.
- [16] 董宇豪,陈春,扶雄.桑葚、百香果、柚子及火龙果复合果汁协同抑制 α -葡萄糖苷酶的作用及机制[J].*现代食品科技*,2022,38(2):87-93.
- [17] 王伟,崔妍,郑明珠,等.矢车菊素-3-O-葡萄糖苷对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制动力学[J].*食品科学*,2023,44(16):185-191.
- [18] POTTER K J, BONHOURE A, BOUDREAU V, et al. Marginal association of fasting blood glucose with the risk of cystic fibrosis-related diabetes [J]. *Ann Endocrinol (Paris)*, 2023,84(2): 265-271.
- [19] 杨兵.拐枣多糖的分离纯化和结构解析及其降血糖活性研究[D].重庆:西南大学,2020.
- [20] 李俊.氧化白藜芦醇抗氧化活性及其体内外生化变化机制研究[D].广州:华南农业大学,2020.
- [21] 陈莹,周华,晏日安.氧化白藜芦醇的合成工艺改进及其抗氧化活性[J].*食品与发酵工业*,2023,49(19):152-159.
- [22] 史明威,张梦玥,初鸿,等.绿原酸对 α -淀粉酶的抑制作用及其分子对接模拟[J].*食品科学技术学报*,2023,41(4):135-143.
- [23] 马利华,郁曼曼.槐花多酚降糖作用的研究[J].*食品科技*,2019,44(3):211-215.
- [24] 严飞腾.贮藏时间对单丛茶品质及体外活性的影响[D].广州:华南理工大学,2023.
- [25] SEVMEZLER S, ÇOL S, EMIRIK M, et al. Versatile synthesis of rac-and meso-hydroxymethyl cyclohexenoids containing phenyl groups: α -/ β -glucosidase activities, inhibition kinetics and molecular docking studies[J]. *European Journal of Organic Chemistry*, 2022, 2022(13): e202200165.
- [26] 钱敏.蚕豆多酚的组成结构及其生理活性功能研究[D].南京:南京农业大学,2018.
- [27] KAMIJO Y, ISHII H, YAMAMOTO T, et al. Potential impact on lipoprotein subfractions in type 2 diabetes [J]. *Clinical Medicine Insights: Endocrinology and Diabetes*, 2019, 12: 1179551419866811.
- [28] 党娅,尤丽,杨彬彦.蓝莓花青素对 2 型糖尿病小鼠肝、肾损伤的改善作用[J].*食品工业科技*,2022,43(20):387-394.
- [29] WANG Y, ZENG T, LI H, et al. Structural characterization and hypoglycemic function of polysaccharides from *Cordyceps cicadae* [J]. *Molecules*, 2023, 28(2): 526.
- [30] CHEN Y, ZHANG X, YUAN J, et al. Association of body mass index and age with incident diabetes in Chinese adults: a population-based cohort study [J]. *BMJ Open*, 2018, 8(9): e021768.
- [31] LI B, SHEN X, SHEN H, et al. Effect of optimized germination technology on polyphenol content and hypoglycemic activity of mung bean [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2023, 10: 1138739.
- [32] LI H, FANG Q, NIE Q, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic mechanism of tea polysaccharides on type 2 diabetic rats via gut microbiota and metabolism alteration [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(37): 10015-10028.
- [33] 程秋敏,刘江建.马来酸罗格列酮对 2 型糖尿病治疗的药理学分析[J].*糖尿病新世界*,2022,25(6):103-106.
- [34] 陈珍.达格列净或吡格列酮联合二甲双胍治疗 2 型糖尿病的临床价值[J].*名医*,2023,1:159-161.
- [35] 郭雪莹,朱梓宁,郑绍琴,等.邓老御膳膏对 2 型糖尿病大鼠的影响[J].*中药新药与临床药理*,2023,34(4):473-479.
- [36] YANG K, ZHANG S, GENG Y, et al. Anti-inflammatory properties *in vitro* and hypoglycaemic effects of phenolics from cultivated fruit body of *Phellinus baumii* in type 2 diabetic mice [J]. *Molecules*, 2021, 26(8): 2285.
- [37] SINGH I, ISSAR T, POYNTEN A M, et al. Evaluation of the impact of advanced glycation end-products on peripheral neuropathy outcomes in type 2 diabetes [J]. *Biomedicines*, 2024, 12(11): 2518.

- [38] OBI P E, EZEORAH C C, ODOH U E, et al. Effect of ethanol leaf extract of *Clerodendrum splendens* (G. Don)(Verbenaceae) on some biochemical parameters of Alloxan-induced diabetic Wistar rats [J]. *Phytomedicine Plus*, 2022, 2(1): 100147.
- [39] JAMAL G S, NASSER B M, AL-ABBASI F A, et al. Fustin ameliorates hyperglycemia in streptozotocin induced type-2 diabetes via modulating glutathione/Superoxide dismutase/Catalase expressions, suppress lipid peroxidation and regulates histopathological changes [J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2021, 28(12): 6963-6971.
- [40] JEZEK P, JABUREK M, PLECITA-HLAVATA L. Contribution of oxidative stress and impaired biogenesis of pancreatic β -cells to type 2 diabetes [J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2019, 31(10): 722-751.
- [41] HAZEM R M, IBRAHIM A Z, ALI D A, et al. Dapagliflozin improves steatohepatitis in diabetic rats via inhibition of oxidative stress and inflammation [J]. *International Immunopharmacology*, 2022, 104: 108503.
- [42] 吴永康,胥亮,黄珞洋,等.高溶氧水对高糖高脂模型小鼠异常血糖的保护作用[J].现代食品科技,2024,40(7):1-7.
- [43] WANG W R, YANG Y Z, XING Y, et al. The trans-differentiation promotion of parietal epithelial cells by magnesium isoglycyrrhizinate to improve podocyte injury induced by high fructose consumption [J]. *Phytomedicine*, 2024, 135: 156242.
- [44] A S, WU H, WANG X, et al. Value of glycogen synthase 2 in intrahepatic cholangiocarcinoma prognosis assessment and its influence on the activity of cancer cells [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(2): 12167.
- [45] GAO Y, YU H, LIU Y, et al. *GSK-3 β* activation mediates apolipoprotein E4-associated cognitive impairment in type 2 diabetes mellitus: A multicenter, cross-sectional study [J]. *Journal of Diabetes*, 2024, 16(1): e13470.
- [46] 邓娜.青稞全谷物降血糖活性及作用机制研究[D].广州:华南理工大学,2021.