

苦瓜皂苷与南瓜多糖或苦荞黄酮联合作用改善 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢的研究

李毅腾^{1,2}, 王晓闻², 何庆峰¹, 尤玲玲¹, 肖萍¹, 崔艳¹, 冯超¹, 刘金福^{1,3}

(1. 天津农学院食品科学与生物工程学院, 天津 300384) (2. 山西农业大学食品科学与工程学院, 山西晋中 030801) (3. 天津市农副产品深加工技术工程中心, 天津 300384)

摘要: 本文主要运用主成分分析法 (PCA) 研究苦瓜皂苷、南瓜多糖和苦荞黄酮单一或联合作用对糖尿病糖脂代谢的改善作用。通过建立 2 型糖尿病大鼠模型, 对其灌胃提取物后的表征、体重、饮水量和摄食量进行比较, 表明三种提取物或提取物联合组对建立的 2 型糖尿病模型组的病症均有明显的改善作用。进一步运用 PCA 分析法筛选糖脂代谢指标, 并结合单维统计方法, 得出皂苷和多糖联合作用对谷丙转氨酶、脂联素和肌酐的改善作用显著优于任一单一组分 ($P < 0.05$), 对游离脂肪酸、肿瘤坏死因子的改善优于皂苷组 ($P < 0.05$), 同时对谷草转氨酶的改善作用优于多糖组 ($P < 0.05$); 而皂苷和黄酮联合作用可使谷丙转氨酶的改善效果优于单一成分 ($P < 0.05$), 肌酐改善优于皂苷组 ($P < 0.05$), 脂联素和胰岛素改善优于黄酮组 ($P < 0.05$)。由此可知, 通过本研究可证实活性成分的联合作用对 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢具有更加突出的改善效果。

关键词: 2 型糖尿病; 苦瓜皂苷; 南瓜多糖; 苦荞黄酮; 联合作用; 糖脂代谢

文章编号: 1673-9078(2015)9-14-19

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.9.003

Effect of Bitter Melon Saponins with Buckwheat Flavones or Pumpkin

Polysaccharides on Glucose and Lipid Metabolism in Type-2 Diabetic Rats

LI Yi-teng^{1,2}, WANG Xiao-wen², HE Qing-feng¹, YOU Ling-ling¹, XIAO Ping¹, CUI Yan¹, FENG Chao¹, LIU Jin-fu^{1,3}

(1.College of Food Science and Bioengineering, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China)

(2.College of Food science and engineering, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030801, China)

(3.Tianjin Engineering and Technology Research Center of Agricultural Products Processing, Tianjin 300384, China)

Abstract: Using principal component analysis (PCA), the improvement in glucose and lipid metabolism of type-2 diabetic rats was investigated with the use of bitter melon (*Momordica charantia*) saponins in combination with buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) flavones (BSBF) or pumpkin (*Cucurbita moschata*) polysaccharide (BSPP). A rat model of type 2 diabetes mellitus was established and the three extracts were administered by gavage. Subsequently, body weights as well as food and water intake in all groups were compared. The results showed that individual extracts or combinations significantly ameliorated the symptoms of type 2 diabetes. Furthermore, the indicators for glucose and lipid metabolism were screened via the PCA method and single-dimensional statistics were combined in the analysis. Combined saponins (BS) and polysaccharide (PP) significantly improved levels of alanine aminotransferase (ALT), adiponectin (ADPN), and creatinine (CRE) compared with that of individual extracts ($p < 0.05$). The effect of this combination on free fatty acids and tumor necrosis factor was improved compared with the BS group, while the effect on ALT was better than that on the PP group. The combination of BS and flavones resulted in improvement of ALT, CRE, ADPN, and insulin compared with individual extracts, BS group, as well as flavone group. In summary, the results of this study show that the combined effect of active ingredients produces more improvement of glucose and lipid metabolism in type-2 diabetic rats.

Key words: type 2 diabetes; bitter melon (*Momordica charantia*) saponins; buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) flavones; pumpkin (*Cucurbita moschata*) polysaccharides; combined effect; glucose and lipid metabolism

收稿日期: 2014-11-26

基金项目: 天津市科技支撑计划项目 (13ZCZDNC01800)

作者简介: 李毅腾 (1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品营养与安全

通讯作者: 刘金福 (1961-), 男, 教授, 研究方向: 天然产物与功能食品

人们对天然植物中所含有的多种生物活性成分改善 2 型糖尿病动物模型糖脂代谢的机理有诸多报道, 近年来大量的试验研究结果表明苦瓜、南瓜和苦荞中所含的苦瓜皂苷, 南瓜多糖、苦荞黄酮对建立的糖尿病模型具有明显的改善糖脂代谢紊乱的效果。在

降脂、降糖作用机制方面表现出多靶点、多通路的特点,因此反映在各项生理指标变化上不尽相同^[1,2]。但国内外学者对于苦瓜皂苷与南瓜多糖或苦荞黄酮联合作用对2型糖尿病大鼠糖脂代谢的改善效果和机理报道较少。

由于与糖脂代谢相关的生理指标或靶点较多,每种植物活性成分作用途径多样,在数据处理分析方面我们希望在单维统计方法基础上加入一种多元统计分析方法,即主成分分析法(Principal Component Analysis, PCA),设法将原来变量重新组合成一组新的彼此没有任何关系的若干个综合变量,同时又根据实际需要从中取出几个较少的综合变量尽可能多地反映出原来变量信息的统计方法^[3]。达到舍弃掉细微的、没有排序的差异,保留最大的、有排序的差异,得到只有少数几个主成分的数学模型,并使数据变得简单而且方便去理解和页面展示的目的^[4]。因此,本研究希望通过单维分析结合多元统计的方法,探究和比较苦瓜皂苷、南瓜多糖和苦荞黄酮提取物单一成分或联合使用对2型糖尿病大鼠糖脂代谢改善的作用,同时也为多成分、多靶点的联动分析提供借鉴。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要材料

苦荞黄酮,购于开鲁县昶辉生物技术有限责任公司。SPF级SD大鼠,购于北京军事医学科学院实验动物中心;高脂饲料(含78.8%基础饲料、10%猪油、10%蛋黄粉、1%胆固醇、0.2%胆盐)、基础饲料,购于北京军事医学科学院实验动物中心。

1.1.2 主要试剂

胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、肌酐(CRE)、尿素氮(BUN)测定试剂盒,购于英科新创(厦门)科技有限公司;胰岛素(INS)、游离脂肪酸(FFA)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、脂联素(APND)测定试剂盒,购于北京索莱宝科技有限公司。唐一泰降糖胶囊(主要成分为苦瓜、桑叶、玉竹、葛根提取物,其中每100g含总黄酮451mg,总皂甙2.32g,粗多糖9.48g),购于天津市王顶堤药店;链脲霉素(STZ),纯度 $\geq 98\%$,购于Sigma公司;人参皂苷Rg1标准品(纯度 $\geq 98\%$)购于上海同田生物技术有限公司;芦丁标准品(纯度 $\geq 98\%$)购于上海豪曼生物科技有限公司。

1.1.3 主要仪器

魅力全自动生化仪,美国MD仪器公司;752型可见分光光度计,上海菁华科技仪器有限公司;血糖仪,北京怡成生物电子技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 苦瓜皂苷、南瓜多糖及苦荞黄酮提取物的制备

苦瓜皂苷提取物采用醇提法制备^[5],经AB-8型大孔吸附树脂纯化后纯度为58.5%。提取物中皂苷含量通过以人参皂苷Rg1为标准品,采用香草醛-冰乙酸-高氯酸紫外显色法进行测定^[5]。

南瓜多糖提取物采用水提醇沉的方法制备^[6],纯度为48.3%。多糖含量为提取物中总糖含量和还原糖含量之差。其中南瓜多糖和还原糖含量测定分别采用蒽酮比色法和3,5-二硝基水杨酸比色法。

购买的苦荞黄酮样品经AB-8型大孔吸附树脂纯化后纯度可达72.3%。黄酮含量采用以芦丁为标准品,分光光度法进行测定^[7]。

1.2.2 2型糖尿病模型的建立和分组

64只健康SPF级SD雄性大鼠,体重约110-130g。适应性饲养一周后,随机分为8组,每组8只。分别为正常组、高糖组、市售降糖药组、苦瓜皂苷组、南瓜多糖组、苦荞黄酮组、苦瓜皂苷与南瓜多糖联合组、苦瓜皂苷与苦荞黄酮联合组。正常组饲喂基础饲料,其余各组饲喂高脂饲料,4周后除正常组外,其余各组均禁食不禁水24h,腹腔注射链脲霉素(STZ)35mg/kg,继续给予高脂饲料一周,一周后禁食24h,测定空腹血糖,血糖值大于11.2mmol/L为高血糖模型大鼠,将未成模大鼠剔除每组改为6只高糖大鼠,继续喂养高脂饲料,并进行提取物的灌胃。

正常组和高糖模型组给予蒸馏水灌胃四周,其余各组每日分别灌胃:400mg/kg市售降糖药、400mg/kg苦瓜皂苷、500mg/kg南瓜多糖、400mg/kg苦荞黄酮、400mg/kg苦瓜皂苷与500mg/kg南瓜多糖、400mg/kg苦瓜皂苷与400mg/kg苦荞黄酮灌胃。

1.2.3 表征观察和指标测定

每日观察动物皮毛、呼吸、四肢活动等情况。每3d记录1次体重、进食量及饮水量。末次给药后禁食12h,称重,测定葡萄糖耐量,断颈处死。

葡萄糖耐量(OGTT)试验:末次给药后禁食12h,尾部取血用血糖仪测定空腹血糖值(FBG),然后各组经口给予葡萄糖2.5g/kg,测定灌胃葡萄糖后0、0.5、1、2h的血糖值。并按式1-1、1-2方法分别计算血糖下面积(AUC)和稳态模型的胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。

$$\text{血糖下面积 (AUC)} = (\text{空腹血糖值} + 0.5\text{h血糖值}) \times 0.5 / 2 + (0.5\text{h血糖值} + 2\text{h血糖值}) \times 1.5 / 2 \quad (1)$$

$$\text{稳态模型的胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR)} = \frac{\text{空腹胰岛素 (FINS)} \times \text{空腹葡萄糖 (FBG)}}{22.5} \quad (2)$$

血清指标测定: 末次给药禁食 12 h, 乙醚麻醉后, 摘眼球取血, 所取血液 4 °C 静置 20 min, 4000 r/min 离心 20 min, 吸出上清液即为血清, 用全自动生化仪测定 TC、TG、HDL、LDL、AST、ALT、CRE、BUN 的含量; 用试剂盒测定 INS、FFA、TNF-α、APND 的含量。

1.2.4 数据处理

本文在数据处理过程中, 综合考察了主成分分析常用的数据处理模式, 利用 SIMCA 软件进行主成分 PCA 分析。同时利用软件 SPSS13.0 进行统计学分析, 组间均数比较用 t 检验, P<0.05 表示差异具有显著性并采用标记字母法对方差分析结果进行标注^[8]。

2 结果

2.1 表征观察及体重、饮水量、摄食量测定

正常组大鼠活泼好动, 毛色光泽, 动作敏捷。注射 STZ 后, 大鼠出现“多饮、多食、多尿”, 消瘦等症状, 且皮毛粗乱, 精神萎靡, 反应迟钝。给予提取物灌胃后, 大鼠精神状态好转, 皮毛恢复光泽, “三多一少”的典型症状均有所缓解。

适应性喂养后, 正常组饲喂基础饲料, 其余饲喂高脂饲料。前 4 周, 各组大鼠体重和摄食量随大鼠生长均稳步上升, 每 3 d 测定一次饮水量, 每只大鼠饮水量平均值约为 90 mL/d, 组间无明显差异 (P>0.05)。第 5 周除正常组外其余各组腹腔注射 STZ (35 mg/kg) 建立高糖模型大鼠, 可观测到除正常组外其余各组体重均不同程度下降, 饮水量急剧增多, 后 4 周各组通过提取物的灌胃, 体重、饮水量和摄食量变化趋势与高糖组相比, 明显改善了糖尿病所引起的体重降低和饮水、摄食量的增加。

2.2 空腹血糖和葡萄糖耐量的测定

对 2 型糖尿病大鼠模型的空腹血糖和葡萄糖耐量进行测定, 可直观观察提取物对 2 型糖尿病大鼠的改善效果。

由图 1 所示, 高糖组葡萄糖耐量较正常组严重受损, 而提取物的灌胃可对耐量有不同程度的调节作用。进一步分析血糖下面积可知, 高糖模型组和各提取物组的血糖下面积显著高于正常组 (P<0.05), 但提取物组与高糖组比较有显著降低趋势 (P<0.05), 且两成分联合组的作用效果显著优于单一成分组 (P<0.05)

(图 2)。同时分析高糖组和各提取物组空腹血糖值可知, 虽然各提取物灌胃后空腹血糖值与正常组比较具有显著差异性 (P<0.05), 但是其与高糖组比较仍可显著降低空腹血糖值 (P<0.05)。

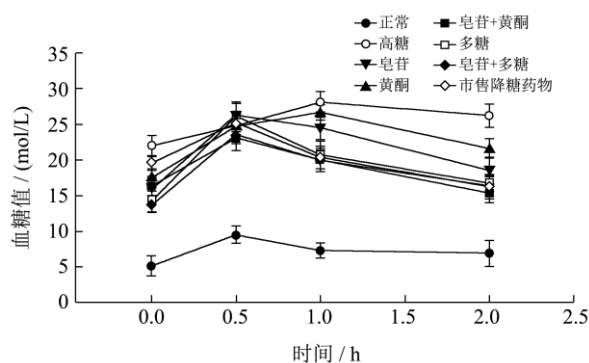


图 1 各组大鼠糖耐量测定 (x̄±s n=6)

Fig.1 Determination of glucose tolerance in rats

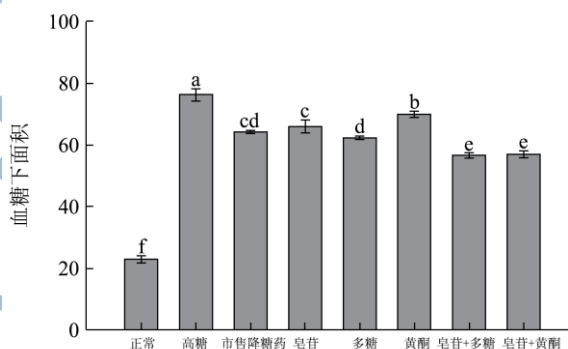


图 2 各组大鼠糖耐量测定对 AUC 的影响 (x̄±s n=6)

Fig.2 Effect of glucose tolerance on AUC in each group

注: 同一肩注不同字母者表示比较组之间有显著差异 P<0.05 (字母顺序按平均数由大到小依次对应), 同一肩注含有相同字母者表示比较组之间无显著差异 P>0.05。

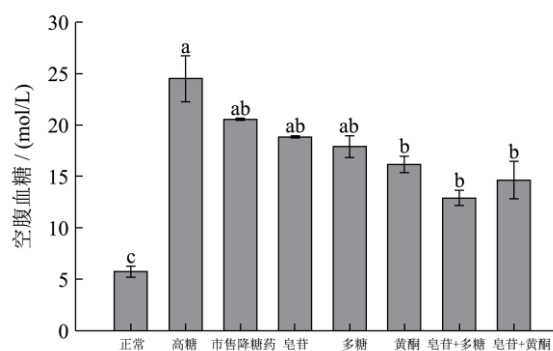


图 3 各组大鼠空腹血糖测定 (x̄±s n=6)

Fig.3 Determining fasting plasma glucose level of rats in each group

注: 同一肩注不同字母者表示比较组之间有显著差异

P<0.05 (字母顺序按平均数由大到小依次对应), 同一肩注含有相同字母者表示比较组之间无显著差异 P>0.05。

2.3 苦瓜皂苷和南瓜多糖或苦荞黄酮单独和联合作用对 2 型糖尿病大鼠的糖脂代谢指标测定结果的单维统计分析

表 1 为大鼠糖脂代谢相关生理指标的测定结果, 分析可知高糖组的各项指标与正常组对比有显著性的差异 (P<0.05), 表明造模后的糖尿病大鼠糖脂代谢紊乱, 对机体造成多重损害和影响。通过 4 周活性成分的灌胃, 其各项指标与高糖组相比有显著性差异

(P<0.05), 其中部分指标可恢复到正常水平即无显著性差异 (P>0.05)。证实了苦瓜皂苷、南瓜多糖和苦荞黄酮提取物对于 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢的生理指标具有明显的改善调节作用。苦瓜皂苷与南瓜多糖联合作用对 ALT、CRE 和 APDN 三个指标的改善作用优于各单一成分组 (P<0.05), 指标 AST 的水平显著低于多糖组 (P<0.05), 对 FFA 和 TNF-α 调节作用优于皂苷组 (P<0.05)。同时, 苦瓜皂苷与苦荞黄酮联合作用使得 ALT 改善效果显著优于单一成分组 (P<0.05), CRE 调节作用优于皂苷组, APDN 和 INS 水平显著高于黄酮组 (P<0.05)。通过对与糖脂代谢相关的代谢指标分析, 可进一步说明皂苷与多糖或黄酮联合使用对 2 型糖尿病的改变效果更为突出。

表 1 各组大鼠糖脂代谢相关指标测定结果 (x̄±S n=6)

Table 1 Indicators for glucose and lipid metabolism of rats in each group

	正常	高糖	市售降糖药	皂苷	多糖	黄酮	皂苷+多糖	皂苷+黄酮
INS	2.17±0.03 ^a	1.7±0.17 ^d	2.09±0.04 ^{ab}	1.9±0.05 ^{bc}	1.91±0.06 ^{bc}	1.85±0.09 ^c	2.05±0.02 ^{ab}	2.09±0.09 ^{ab}
IR	0.55±0.04 ^b	1.85±0.27 ^a	1.51±0.04 ^a	1.59±0.04 ^a	1.53±0.47 ^a	1.31±0.33 ^a	1.17±0.08 ^a	1.36±0.41 ^a
TC	2.18±0.22 ^d	7.73±0.50 ^a	3.00±0.14 ^{bcd}	3.30±0.44 ^{bc}	3.7±0.3 ^b	3.53±0.35 ^{bc}	2.77±0.38 ^{bcd}	2.63±0.47 ^{cd}
TG	0.73±0.25 ^b	2.53±0.31 ^a	1.15±0.21 ^b	1.67±0.29 ^{ab}	1.57±0.67 ^{ab}	1.57±0.71 ^{ab}	0.93±0.32 ^b	1.07±0.55 ^b
HDL	1.44±0.09 ^b	0.92±0.05 ^a	1.96±0.30 ^b	1.67±0.13 ^b	1.83±0.21 ^b	1.82±0.42 ^b	1.91±0.16 ^b	1.94±0.28 ^b
LDL	0.37±0.24 ^b	1.77±0.22 ^a	0.36±0.01 ^b	0.80±0.11 ^b	0.80±0.12 ^b	1.11±0.75 ^b	0.77±0.07 ^b	0.64±0.46 ^b
AST	102.15±19.13 ^d	1060.17±131.74 ^a	608.8±7.21 ^{bc}	631.33±25.81 ^{bc}	824.67±122.08 ^b	617.47±50.50 ^{bc}	435.47±182.27 ^c	482.27±3.71 ^c
ALT	48.70±13.55 ^c	946.33±78.49 ^a	619.55±4.74 ^b	827.57±125.28 ^a	817.13±90.79 ^a	856.4±44.15 ^a	568.7±17.52 ^b	616.73±17.90 ^b
CRE	35.5±1.91 ^d	64.33±2.52 ^a	46.5±0.71 ^c	52.33±4.04 ^b	51.67±2.08 ^b	47.33±0.58 ^c	36.00±1.73 ^d	42.67±1.53 ^c
BUN	5.5±1.94 ^c	14.4±1.4 ^a	9.6±1.56 ^b	10.2±2.01 ^b	10.7±1.15 ^b	9.67±1.02 ^b	8.73±1.11 ^b	9.2±1.08 ^b
FFA	30.97±1.84 ^{cd}	48.9±2.70 ^a	29.2±0.51 ^d	38.9±0.93 ^b	31.50±3.48 ^{cd}	36.72±2.17 ^b	28.96±1.83 ^d	35.32±2.26 ^{bc}
TNF-α	20.94±0.61 ^{cd}	27.69±0.20 ^a	22.46±0.31 ^{bcd}	24.27±0.74 ^b	22.68±1.07 ^{bcd}	24.03±1.33 ^{bc}	20.76±2.29 ^d	21.33±1.6 ^{bcd}
APDN	10.76±0.55 ^{bc}	6.19±0.73 ^c	12.78±0.13 ^a	10.20±0.3 ^c	7.81±0.96 ^d	7.02±0.93 ^{de}	12.01±0.79 ^{ab}	11.49±0.71 ^{abc}

注: 同一行肩注不同字母者表示比较组之间有显著差异 P<0.05 (字母顺序按平均数由大到小依次对应), 同一行肩注含有相同字母者表示比较组之间无显著差异 P>0.05。

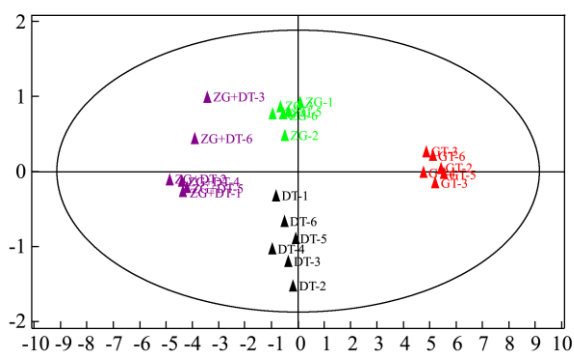


图 4 血清糖脂代谢指标 PCA 得分图 (高糖组、皂苷组、多糖组、皂苷+多糖组)

Fig.4 PCA score plot for serum indicators of glucose and lipid metabolism (GT, ZG, DT, ZG+DT)

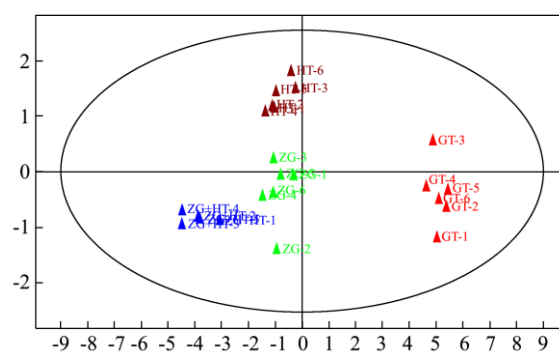


图 5 血清糖脂代谢指标 PCA 得分图 (高糖组、皂苷组、黄酮组、皂苷+黄酮组)

Fig.5 PCA score plot for the serum indicators of glucose and lipid metabolism (GT, ZG, HT, ZG+HT)

2.4 苦瓜皂苷和南瓜多糖或苦荞黄酮单独和联合作用对 2 型糖尿病大鼠的糖脂代谢指标测定结果的主成分分析

分别对高糖组、皂苷组、多糖组、黄酮组及皂苷多糖、皂苷黄酮联合组中 TC、TG、HDL、LDL、FBG、AST、ALT、CRE、BUN、INS、FFA、TNF- α 、APDN 和 IR 糖脂代谢指标, 进行 PCA 分析。得分图和各指标权重分析结果分别见图 4、图 5 和表 2 所示。

得分图的任一坐标表示一个对应的样本, 两点间距离反映两个样本间相似程度, 一组样本形成聚类表示该组样本存在特定代谢模式。由图 4、图 5 可知, 高糖组、皂苷组、多糖组(或黄酮组)和皂苷多糖组(或皂苷黄酮组) 4 个样本分别聚为 4 类, 说明同组中糖脂代谢相关指标差别不大, 而不同组中糖脂代谢指标存在差异。高糖组集中分布于坐标图右侧, 通过灌胃, 皂苷组、多糖组及黄酮组明显远离高糖组, 说明提取物使得样本糖脂代谢产生了变化, 并且皂苷多糖及皂苷黄酮联合组较高糖组组间差异更加显著, 说明两种成分联合作用对 2 型糖尿病糖脂代谢的改善效果更为突出。

表 2 各组分代谢指标的主成分特征向量表

Table 2 Eigenvectors of principal components for the metabolic indicators in each group

	皂苷	多糖	黄酮	皂苷多糖	皂苷黄酮
TC	0.286	0.289	0.303	0.272	0.275
TG	0.261	0.245	0.25	0.266	0.256
HDL	-0.282	-0.282	-0.279	-0.268	-0.262
LDL	0.281	0.288	0.189	0.27	0.262
FBG	0.273	0.233	0.266	0.271	0.264
AST	0.277	0.255	0.292	0.263	0.271
ALT	0.194	0.219	0.226	0.268	0.268
BUN	0.262	0.274	0.288	0.264	0.266
CRE	0.269	0.281	0.3	0.272	0.272
IR	0.242	0.276	0.291	0.26	0.27
INS	0.265	0.269	0.246	0.267	0.267
TNF- α	0.284	0.283	0.29	0.265	0.271
APDN	-0.28	-0.246	0.208	0.266	0.269
FFA	0.277	0.288	0.3	0.271	0.268

根据对皂苷组、多糖组、黄酮组及皂苷多糖、皂苷黄酮联合组对 2 型糖尿病糖脂代谢中代谢指标的主成分所占权重分析可知(表 2), 生理指标 TC、TNF- α 、HDL、LDL、APDN 所占权重较大, 对活性成分皂苷

改善糖尿病代谢指标的贡献较大; 多糖和黄酮组分权重指标贡献较大指标分别为 TC、LDL、FFA、HDL、TNF、CRE 及 TC、FFA、CRE。但是在苦瓜皂苷和南瓜多糖或苦荞黄酮联合使用时, 分析各代谢指标所占权重较单一成分有所差异, 如在皂苷多糖联合组中加强了对 CRE、GLU、ALT 改善作用, 生理指标 HDL 和 TNF- α 则对皂苷多糖联合组的贡献值较小, 但是二者均可作为皂苷或多糖单独使用改善糖尿病糖脂代谢的主要指标进行分析; 在分析皂苷和黄酮联合组主成分所占权重分析中得到了相似了结果, 皂苷黄酮联合使用对糖脂代谢的改善可能与加强对 TNF- α 、ALT 调节作用有关。

3 讨论

本试验采用高脂饮食结合注射小剂量 STZ 的方法, 成功诱导建立了 2 型糖尿病大鼠模型。成模大鼠出现“多饮、多食、多尿”, 体重下降的典型 2 型糖尿病症状。通过给予 2 型糖尿病大鼠各提取物灌胃后, 精神状态好转, 皮毛恢复光泽, 缓解了糖尿病所引起的“三多一少”的典型症状。同时对 2 型糖尿病大鼠 FBG、OGTT 和 AUC 直观指标进行测定, 发现各提取物组与模型组相比均可降低空腹血糖浓度 (FBG)、葡萄糖耐量值 (OGTT) 和血糖下面积 (AUC), 其中提取物联合作用组对 AUC 改善效果显著优于单一作用组 ($P < 0.05$)。因此, 可直观的说明活性成分提取物对 2 型糖尿病大鼠的糖脂代谢紊乱起到了一定程度的纠正作用, 且两种活性成分的联合作用效果优于单一组分。

进一步利用单维统计分析方法结合主成分分析的模式识别技术 (PCA), 可初步说明单一活性组分或活性成分联合使用对改善 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢的潜在机制。由单维统计得出苦瓜皂苷和南瓜多糖的联合使用对 CRE、ALT 和 APDN 的改善效果显著优于单一组分 ($P < 0.05$), 对 TNF- α 和 FFA 的调节作用优于皂苷组 ($P < 0.05$), 而 AST 的变化同样表明联合组作用效果优于多糖组 ($P < 0.05$); 同时分析可知, 皂苷或多糖单独或联合作用对 TC 和 INS 改善效果差异不显著 ($P > 0.05$), 但是其联合作用可使 TC 和 INS 两项指标恢复到正常水平, 即差异不显著 ($P > 0.05$), 也可以证明苦瓜皂苷和南瓜多糖联合使用对改善 2 型糖尿病大鼠的糖脂代谢效果更加突出(表 1)。尽管各提取物组对代谢指标 INS、TC、TG、HDL、LDL、AST、ALT、CRE、BUN、FFA、TNF- α 、APDN 的改善作用与模型组比较具有显著性, 但是通过对主成分权重指标分析发现当皂苷多糖联合使用时, 对改善糖脂代谢

紊乱贡献较大的前三个指标为 CRE、FBG、ALT，而 TC、TNF- α 、HDL 和 TC、LDL、FFA 则分别为皂苷和多糖改善糖尿病病症的主要贡献者（表 2）。表明当皂苷和多糖联合作用时，可使 2 型糖尿病所引起的肾脏和肝脏的损伤得到明显的恢复，从而使 CRE、ALT 恢复到正常水平；另外可通过对 FBG 的改善，增强机体中脂肪和骨骼肌对葡萄糖的摄取，抑制肠对葡萄糖的吸收和肝糖原的合成，恢复蛋白损伤和促进糖原生成、利用和储存^[9]，从而达到控制血糖水平，降低高血糖对于机体的毒害作用。而苦瓜提取物或南瓜提取物则可能是通过提高 TC 代谢和排泄，从而改善脂代谢和恢复肝脏功能^[10]。另外苦瓜皂苷或南瓜多糖降低 TNF- α 或 FFA 的含量则有利于改善脂肪因子引起的胰岛素抵抗和脂代谢紊乱引起的脂肪分解和游离脂肪酸释放所引起的氧化应激反应和炎症反应^[11]。

同样对于皂苷与黄酮联合作用的 PCA 模式识别与单维统计分析的结果来看，单维统计数据证实联合作用在指标 ALT 的调节作用优于单一成分（ $P < 0.05$ ），对 CRE 改善作用联合组优于皂苷组（ $P < 0.05$ ），同时联合组与黄酮组比较可更显著的提高 INS 水平（ $P < 0.05$ ）；而 TC、TNF- α 和 APDN 这三个指标尽管联合作用与单一成分作用之间未显现出差异（ $P > 0.05$ ），但联合作用与单一组分作用相比更接近于正常水平。进一步运用 PCA 分析方法，对单一组分或联合作用改善脂代谢的机制初步分析可知，苦荞黄酮可以抑制胆固醇在肠内的吸收，并具有提高胆固醇运转到肝脏，促进其降解和排泄的功能，从而使得机体外周组织中 TC 含量降低^[12]，另外黄酮还具有促进外周靶细胞、靶器官对葡萄糖的利用，改善肾功能的作用，这一点从 CRE 指标的改善可以得到印证^[13]。但是皂苷和黄酮联合作用时，不仅与苦荞黄酮具有相似的作用，另外对于 TNF- α 的突出贡献，可以推测皂苷和黄酮联合作用后对于细胞因子的调节作用增强，起到改善胰岛素抵抗和保护胰岛细胞的作用^[14]，从而对 2 型糖尿病大鼠的脂代谢调节起到强化的效果。

可见苦瓜皂苷与南瓜多糖或苦荞黄酮联合作用对 2 型糖尿病的脂代谢生化指标或靶点上均优于单一组分，且 3 种植物活性成分单独作用和联合作用在降脂、降糖方面作用的靶点和通路也不尽相同。

4 结论

本文首先通过测定葡萄糖耐量（FBG）、血糖下面积（AUC）等直观指标证明苦瓜皂苷与南瓜多糖或苦荞黄酮提取物对 2 型糖尿病大鼠脂代谢的改善效果优于单一组分，进一步针对脂代谢中主要的生理

指标采用单维统计分析结合主成分分析的方法同样说明活性成分的联合作用对糖尿病的治疗作用更加显著。同时对联合作用的增效机制进行初步分析表明，其对糖尿病有更加明显的改善作用不仅与多成分联合使用增效作用有关，还可能通过作用不同的靶点通路起到增效或协同的作用。因此，本课题组将在后续试验中对联合组分调节脂代谢的具体机制进行更加深入的研究与探讨。

参考文献

- [1] 李健,黄艳,陈姝娟,等.苦瓜皂苷生物活性的研究进展[J].食品研究与开发,2008,29(3):144-146
LI Jian, HUANG Yan, CHEN Zhu-juan, et al. The research progress on biological activities of momordicosides [J]. Food Research and Development, 2008, 29(3): 144-146
- [2] 毕新颖,王建南,姜玲玲,等.南瓜多糖的多重生理效应研究进展[J].生物学杂志,2014,31(1):78-81
BI Xin-ying, WANG Jian-nan, JIANG Ling-ling et al. Research progress of multiple physiological effects of pumpkin polysaccharide [J]. Journal of Biology, 2014, 31(1): 78-81
- [3] 阿基业.代谢组学数据处理方法-主成分分析[J].中国临床药理学与治疗学,2010,15(5):481-489.
A Ji-ye. Principal Component analysis of Metabonomics data processing method [J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2010, 15 (5): 481-489
- [4] 宋江峰,李大婧,刘春泉,等.甜糯玉米软罐头主要挥发性物质主成分分析和聚类分析[J].中国农业科学,2010,43(10):2122-2131
SONG Jiang-feng, LI Da-jing, LIU Chun-quan, et al. Principal Components Analysis and Cluster Analysis of Flavor Compositions in Waxy Corn Soft Can [J]. Chinese Agricultural Science, 2010, 43 (10): 2122-2131
- [5] 张玉婵.苦瓜皂苷的提取及活性成分的防癌和降血糖作用的研究.[D].新疆:石河子大学,2010
ZHANG Yu-chan. Study on the saponins extraction from *Momordica charantia* L. and the action on anti-cancer and anti-diabetic of the active ingredients [D]. Xinjiang: Shihezi University, 2010
- [6] 谢果,张强国.用正交试验优选葛根总黄酮的提取工艺研究[J].重庆科技学院学报(自然科学版),2006,1:48-51
XIN Guo, ZHANG Qiang-guo. With Orthogonal Test Study on extraction process of total flavonoids *Pueraria* [J]. Journal of Chongqing University of Science and Technology (Natural Sciences Edition), 2006, 1: 48-51

- [7] 彭红,黄小茉,欧阳友生.南瓜多糖的提取工艺及其降糖作用的研究[J].食品科学,2002,23(8):260-262
PENG Hong, HUANG Xiao-MO, OU YANG You-Sheng. Study on Extraction and hypoglycemic effect of pumpkin polysaccharide [J]. Journal of Food Science, 2002, 23(8): 260-262
- [8] 明道绪.生物统计附实验设计[M].北京:中国农业出版社,2008
MING Dao-xun. Biostatistics Attached Experimental Design [M]: Beijing:China Agriculture Press, 2008
- [9] Wang ZQ, Zhang XH, Yu Y, et al. Bioactives from bitter melon enhance insulin signaling and modulate acyl carnitine content in skeletal muscle in high-fat diet-fed mice [J]. J. Nutr. Biochem., 2011, 22(11): 1064-1073
- [10] Venugopalan Rajesh, Perumal Perumal, Ponnala Aruna. Hypolipidemic and antioxidant activity of grape skin extract and resveratrol on rats fed with high-fat diet [J]. Orient. Pharm. Exp. Med., 2013, (13): 11-20
- [11] Roman-Ramos R, Almanza-Perez JC, Fortis-Barrera A, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of a hypoglycemic fraction from Cucurbita ficifolia Bouché in streptozotocin-induced diabetes mice [J]. Am. J. Chin. Med., 2012, 40(1): 97-110
- [12] 秦灵灵,徐墩海,刘铜华.天然药物中黄酮类化合物抗糖尿病作用机制研究进展[C].第十四次全国中医糖尿病大会论文集,河南郑州:2012:224-230
QIN Ling-ling, XU Tun-hai, LIU Tong-hua. Study on the anti-diabetic effect mechanism of flavonoids in natural medicine [J]. Fourteenth National Chinese Medicine Diabetes Congress Proceedings, Henan Zhengzhou: 2012: 224-230
- [13] Lee CC, Hsu WH, Shen SR, et al. Fagopyrum tataricum (buckwheat) improved high-glucose-induced insulin resistance in mouse hepatocytes and diabetes in fructose-rich diet-induced mice [J]. Exp. Diabetes. Res. ID375673
- [14] Chu JX, Wang ZL, Han SY. The Effects of Total Flavonoids from Buckwheat Flowers and Leaves on Renal Damage and PTP1B Expression in Type 2 Diabetic Rats [J]. Iran. J. Pharm. Res.,2011,10(3):511-517