

黑莓籽对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠的影响

张 伟,尹震花,康文艺*

(黄河科技学院,河南郑州 450063)

摘 要:通过尾静脉注射四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠模型,测定血糖、肝糖元以及血清中 TG、TCH、MDA 和 SOD 的变化,观察黑莓籽石油醚、乙酸乙酯和正丁醇部位以及黑莓籽油对糖尿病小鼠血糖、脂质代谢和氧化应激的影响。结果表明,石油醚部位低剂量组能显著的升高肝糖元的含量($p < 0.05$),降低 TG ($p < 0.01$)、TCH ($p < 0.05$) 和 MDA 的含量($p < 0.05$);乙酸乙酯部位高剂量组能显著的升高肝糖元的含量($p < 0.05$),降低 TG ($p < 0.05$) 和 TCH 含量($p < 0.05$);乙酸乙酯部位中剂量组能显著性的升高肝糖元的含量($p < 0.01$),降低 TG ($p < 0.05$) 和 TCH 含量($p < 0.05$),升高 SOD 的水平($p < 0.05$);黑莓籽油高剂量组能显著性的降低 TG ($p < 0.05$) 和 TCH 含量($p < 0.05$);黑莓籽油低剂量组能显著性的升高肝糖元的含量($p < 0.05$),降低 TCH 含量($p < 0.05$)。可见,黑莓籽石油醚和乙酸乙酯部位及黑莓籽油对小鼠糖尿病降血糖作用不显著,可以促进肝糖元合成,抑制肝糖元分解,纠正脂质代谢紊乱和增强机体抗氧化防御体系。

关键词:黑莓籽,糖尿病,降血糖作用

Effect of blackberry seed on Alloxan induced diabetes in mice

ZHANG Wei, YIN Zhen-hua, KANG Wen-yi*

(Huanghe Science and Technology College, Zhengzhou 450063, China)

Abstract: The diabetic mouse models were established by intravenous injection of alloxan, the levels of blood sugar, hepatic glycogen and TG, TCH, MDA and SOD in serum were detected to evaluate hypoglycemic activity, lipid metabolism and oxidative stress of blackberry seed. The results showed that low dose group of petroleum ether extract could significantly decrease the content of liver glycogen ($p < 0.05$), and increase the contents of TG ($p < 0.01$), TCH ($p < 0.05$) and MDA ($p < 0.05$). High dose group of ethyl acetate extract could significantly decrease the content of liver glycogen ($p < 0.05$), and decrease the contents of TG ($p < 0.05$) and TCH ($p < 0.05$). Medium dose group of ethyl acetate extract could significantly increase the content of liver glycogen ($p < 0.01$), and decrease the contents of TG ($p < 0.05$) and TCH ($p < 0.05$), and increase the level of SOD ($p < 0.05$). High dose group of blackberry seed oil could significantly decrease the contents of TG ($p < 0.05$) and TCH ($p < 0.05$). Low dose group of blackberry seed oil could significantly increase the content of liver glycogen ($p < 0.05$), and decrease the content of TCH ($p < 0.05$). It provided evidence that the petroleum ether extract, ethyl acetate extract and oil of blackberry seed had no significant hypoglycemic effect, and could promoted hepatic glycogen synthesis and inhibited excessive degradation, rectified the derangement in lipide metabolism and strengthened antioxidant defense system.

Key words: blackberry seed; diabetes; hypoglycemic effect

中图分类号: TS218

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)19-0351-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2014.19.068

黑莓 (*Rubus* spp. Blackberry) 属于蔷薇科 (Rasaceae) 悬钩子属聚合果类植物,其果实具有很高的营养价值和药用价值,具有改善人体新陈代谢、清除自由基、延缓衰老和增强免疫力等功能,特别具有

降低胆固醇含量、防治心脏疾病、抗癌(降低化疗引起的毒副作用)和抗血栓的功效^[1-6]。

研究表明,黑莓籽油含有较高的不饱和脂肪酸,如棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和亚麻酸等^[7],能够提供给人体基本的脂肪酸,而且这些脂肪酸不能通过任何已知的化学途径合成,必须从食物中获取。另外,黑莓籽油具有清除自由基,抑制 H_2O_2 诱导的小鼠红细胞氧化溶血,抑制 V_c-FeSO_4 体系诱导的小鼠肝组织丙二醛生成和小鼠肝线粒体肿胀等作用;黑莓籽油中富含各种抗氧化剂,与其抗心血管脂氧化和抗癌活性息息相关^[8-9];此外,还发现黑莓籽经脱脂后的主要有效成分为原花青素,是由单体黄烷-3-醇以不同聚合度连接而成的多酚类化合物,具

收稿日期:2014-01-24

作者简介:张伟(1974-),男,硕士,副教授,主要从事中药活性成分研究。

* 通讯作者:康文艺(1971-),男,博士,教授,主要从事中药活性成分研究。

基金项目:河南省高等学校青年骨干教师资助计划(2013GGJS-220);郑州市科技局科技攻关计划(20120684;20140790);河南省科技厅重点科技攻关(142102310147)。

有高效的清除自由基的能力,具有治疗动脉硬化、消炎防肿、抗突变和预防癌症等广泛用途^[10-11]。

黑莓果汁、果酒等加工过程中会产生大量废弃物黑莓籽。研究表明,黑莓籽残留有丰富的脂肪酸、多酚等化合物。近年来,河南省封丘县调整农业产业结构,大面积推广种植该品种,通过对黑莓籽研究,既可对其进行有效的综合利用,提高黑莓加工的综合利用,又可变废为宝,增加社会效益。本文采用尾静脉注射四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠模型,首次研究黑莓籽对糖尿病小鼠血糖、脂质代谢和氧化应激的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黑莓籽于2013年7月购买于河南省封丘县,由河南大学生药教研室李昌勤教授鉴定为蔷薇科(Rasaceae)悬钩子属聚合果类植物植物黑莓(*Rubus* spp. Blackberry)籽,标本存于黄河科技学院天然药物研究所。

健康昆明种小鼠120只,6~8周龄,体重(25 ± 2)g,由河南省实验动物中心提供。饲养条件:室温控制在25~27℃,自由采食和饮水,普通优质饲料喂养。

葡萄糖测定试剂盒 上海荣盛生物药业有限公司;甘油三酯(TG)测定试剂盒、总胆固醇(TCH)测定试剂盒 浙江东瓯诊断产品有限公司;肝/肌糖元测定试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、SOD试剂盒(测总) 南京建成生物工程研究所;阿卡波糖 杭州中美华成制药有限公司;四氧嘧啶 Alfa Aesar。

UV-2000型紫外可见分光光度计 上海尤尼科仪器有限公司;Multiskan MK3酶标仪 美国 Thermo Electron 公司;LRH-150恒温培养箱 上海一恒科技有限公司;电子天平 美国 Mettler-Toledo 公司;旋转蒸发仪 德国 Heidolph 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 黑莓籽浸膏的提取 黑莓籽粉采用浸出法,50L石油醚冷浸4次脱脂,每次3d,浓缩、回收石油醚得到黑莓籽油;残渣挥干石油醚后,加入40L 70%乙醇冷浸3次,每次3d,浓缩、回收乙醇得到黑莓籽乙醇总浸膏。总浸膏分散于水中,依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇进行萃取,得黑莓籽石油醚部位、乙酸乙酯部位和正丁醇部位。

1.2.2 四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠模型^[12-13] 健康昆明小鼠150只,随机分为两组,正常对照组10只,其余的为糖尿病造模组。糖尿病造模组于禁食不禁水12h后,尾静脉注射80mg/kg四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠。正常喂养72h后,禁食不禁水12h,眼眶取血,测空腹血糖水平,依据血糖均衡原则将血糖水平在11.1mmol/L以上的小鼠分成14组:糖尿病模型组,阿卡波糖阳性对照组,石油醚部位高、中、低剂量组,乙酸乙酯部位高、中、低剂量组,正丁醇部位高、中、低剂量组,油高、中、低剂量组。模型组和空白组灌胃0.5%羟甲基纤维素钠水溶液(CMC-Na),其它实验组用0.5%CMC-Na分别配制成相应浓度的溶液,灌胃给药,1次/d,连续给药7d,于末次给药后2h眼

眶取血测餐后血糖水平,并于当晚禁食不禁水12h,第8d摘取眼球取血,分离血清,放置于冰箱(0~3℃)保存,用于测定给药后空腹血糖、TG、TCH、MDA和SOD。处死动物,取肝脏并称重,并制备肝糖元测定液,用于测定肝糖元含量。

1.2.3 生理指标测定方法 血糖按上海荣盛生物药业有限公司生产的试剂盒说明书操作;TG和TCH按浙江东瓯诊断产品有限公司生产的试剂盒说明书操作;肝糖元、MDA和SOD均按南京建成生物工程研究所生产的试剂盒说明书操作。

1.2.4 数据处理 采用统计软件SPSS 17.0对实验结果进行统计学处理,所有数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,在0.05水平上,以One-way ANOVA分析各组别之间的显著性差异,两组均数比较采用 t 检验。

2 结果与分析

2.1 黑莓籽不同提取部位对糖尿病小鼠血糖的影响

由表1可以看出,给药前,与空白组相比,糖尿病组(石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位、油、阳性对照和模型组)空腹血糖均呈显著性升高($p < 0.05$),说明四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠造模成功,并且各给药组之间无显著性差异($p > 0.05$)。

给药治疗7d后,与空白组相比,模型组餐后血糖呈显著性升高($p < 0.001$);与模型组相比,阳性对照能显著性的降低餐后血糖($p < 0.01$),除石油醚部位高剂量组、黑莓籽油中低剂量组降低餐后血糖无显著性差异($p > 0.05$),其他给药均能显著性的升高餐后血糖。从剂量-效应关系看,随着给药剂量的升高,石油醚部位餐后血糖水平逐渐降低,具有一定的剂量正效应依赖性;正丁醇部位餐后血糖逐渐降低,具有一定的剂量负效应依赖性。

与模型组相比,除黑莓籽油中剂量组能显著性的升高空腹血糖($p < 0.01$),其他各剂量组空腹血糖均无显著性差异($p > 0.05$),其中石油醚部位中低剂量组、乙酸乙酯部位高中低剂量组、正丁醇部位高低剂量组以及黑莓籽油低剂量组空腹血糖值均低于模型组。从剂量-效应关系看,随着给药剂量的升高,石油醚部位空腹血糖水平逐渐降低,具有一定的剂量正效应依赖性;相反,乙酸乙酯部位空腹血糖水平逐渐降低,具有一定的剂量负效应依赖性。

从给药后餐后血糖和空腹血糖综合分析,石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位和油降血糖效果不佳。但是糖尿病引起血糖升高,可以加快葡萄糖的有氧氧化、增强蛋白的非酶糖基化作用和导致脂代谢异常,使体内存在一定程度的氧化应激和脂质代谢紊乱。氧化应激会使外周组织对胰岛素的敏感性下降,葡萄糖的利用降低。此外,氧化应激还会加剧胰岛 β 细胞凋亡,胰岛细胞数目减少,降低胰岛素的合成与分泌,使糖代谢异常进一步加剧,因此,氧化应激在糖尿病的病理衍变中起重要作用。可见,高血糖会引起糖尿病患者抗氧化系统紊乱,产生氧化应激,反过来氧化应激又会影响糖代谢,由此形成恶性循环。需要进一步研究糖尿病引起的脂质代谢

表1 黑莓籽不同提取部位对糖尿病小鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1 Effect of the different extracts of blackberry seed on blood glucose($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (mg/kg)	给药前	给药后	
		空腹血糖 (mmol/L)	餐后血糖 (mmol/L)	空腹血糖 (mmol/L)
空白组		2.49 ± 0.82	4.92 ± 0.67	4.33 ± 0.91
模型组		20.17 ± 6.04 ^{ΔΔΔ}	27.11 ± 3.90 ^{ΔΔΔ}	16.37 ± 6.09 ^{ΔΔΔ}
阿卡波糖	75	20.63 ± 7.30 ^{ΔΔΔ}	19.44 ± 2.15 ^{**}	12.40 ± 3.55
	600	18.94 ± 5.44 ^{ΔΔΔ}	30.79 ± 6.47	19.48 ± 1.76 ^{##}
石油醚部位	300	19.34 ± 5.92 ^{ΔΔΔ}	35.05 ± 3.17 [*]	16.23 ± 2.58
	150	19.56 ± 6.56 ^{ΔΔΔ}	36.69 ± 2.98 ^{**}	14.75 ± 2.39
	400	19.09 ± 5.28 ^{ΔΔΔ}	42.02 ± 3.19 ^{***}	13.36 ± 2.01
乙酸乙酯部位	200	19.26 ± 6.36 ^{ΔΔΔ}	34.89 ± 6.53 [*]	14.31 ± 3.80
	100	19.80 ± 6.18 ^{ΔΔΔ}	41.25 ± 6.85 ^{***}	16.36 ± 2.27
	400	19.73 ± 6.70 ^{ΔΔΔ}	43.39 ± 6.21 ^{***}	15.64 ± 3.70
正丁醇部位	200	19.15 ± 6.07 ^{ΔΔΔ}	40.28 ± 5.97 ^{***}	22.19 ± 3.19 ^{##}
	100	21.33 ± 8.30 ^{ΔΔΔ}	36.33 ± 4.86 ^{**}	13.54 ± 2.07
	800	20.68 ± 5.48 ^{ΔΔΔ}	35.70 ± 1.67 ^{**}	20.94 ± 5.19 ^{###}
黑莓籽油	400	20.37 ± 6.42 ^{ΔΔΔ}	28.98 ± 2.39	23.26 ± 7.16 ^{**}
	200	18.54 ± 6.71 ^{ΔΔΔ}	29.98 ± 7.21	16.24 ± 2.98

注:阿卡波糖为阳性对照;与空白组比较:ΔΔΔ $p < 0.001$, ΔΔ $p < 0.01$, Δ $p < 0.05$;与模型组比较:*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$;与阳性对照组比较:### $p < 0.001$, ## $p < 0.01$, # $p < 0.05$;表2~表4同。

紊乱和氧化应激。

2.2 黑莓籽不同提取部位对糖尿病小鼠肝糖元的影响

由表2可以看出,给药治疗7d后与空白组相比,模型组小鼠肝糖元含量显著性的降低($p < 0.01$);与模型组相比,石油醚部位中低剂量组、乙酸乙酯部位高中剂量组、黑莓籽油低剂量组和阳性对照均能显著性的升高肝糖元的含量($p < 0.05$),其他各剂量

表2 黑莓籽不同提取部位
对糖尿病小鼠肝糖元的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(mg/kg)	肝糖元(mg/g)
空白组		13.12 ± 3.25
模型组		5.68 ± 2.11 ^{ΔΔ}
阿卡波糖	75	11.79 ± 3.61 [*]
	600	9.88 ± 4.51
石油醚部位	300	13.89 ± 4.59 ^{**}
	150	11.42 ± 3.20 [*]
	400	11.14 ± 2.91 [*]
乙酸乙酯部位	200	12.99 ± 1.39 ^{**}
	100	7.10 ± 0.75
	400	9.12 ± 4.26
正丁醇部位	200	6.81 ± 2.61
	100	10.03 ± 3.29
	800	8.17 ± 4.23
黑莓籽油	400	8.60 ± 1.98
	200	11.23 ± 1.82 [*]

高肝糖元的含量无显著性差异($p > 0.05$),但是肝糖元含量均高于模型组。可见,石油醚部位、乙酸乙酯

部位、正丁醇部位和油可能具有促进肝糖元的合成,降低肝糖元的分解的作用。从剂量-效应关系看,随着给药剂量的升高,黑莓油给药组肝糖元含量逐渐降低,具有一定的剂量负效应依赖性。

2.3 黑莓籽不同提取部位对糖尿病小鼠血脂水平的影响

由表3可以看出,给药治疗7d后与空白组相比,模型组小鼠血清中TCH含量显著性的升高($p < 0.05$);与模型组相比,阳性对照均能显著性的降低TG($p < 0.05$)和TCH的含量($p < 0.001$),石油醚部位低剂量组、乙酸乙酯部位高中剂量和黑莓籽油高剂量组均能显著性的降低TG和TCH的含量($p < 0.05$),正丁醇部位低剂量组能显著性的降低TG的含量,乙酸乙酯部位低剂量组、正丁醇部位高剂量组、黑莓籽油中低剂量组均能显著性的降低TCH的含量($p < 0.05$)。可见,石油醚部位、乙酸乙部位、正丁醇部位和油能通过降低血清中TCH和TG的含量,来改善糖尿病并发症—高血脂,纠正糖尿病小鼠的脂质代谢紊乱。从剂量-效应关系看,随着给药剂量的升高,石油醚部位TG含量和TCH含量以及正丁醇部位TG含量均逐渐升高,具有一定的剂量负效应依赖性;正丁醇部位TCH含量逐渐降低,具有一定的剂量正效应依赖性。

2.4 黑莓籽不同提取部位对糖尿病小鼠脂质过氧化水平的影响

由表4可以看出,给药治疗7d后与空白组相比,模型组小鼠血清中MDA含量显著性升高($p < 0.01$),SOD水平显著性降低($p < 0.05$),可见,糖尿病会引起机体抗氧化系统紊乱。与模型组相比,乙酸乙酯部位和黑莓籽油中剂量组均能显著升高SOD水平($p < 0.05$),石油醚部位和油的三个剂量组、乙酸乙酯

部位高低剂量组以及正丁醇部位组升高 SOD 水平不具有显著性($p > 0.05$),但均高于模型组,石油醚部位低剂量组和正丁醇部位剂量组能显著性的降低 MDA 含量($p < 0.05$),石油醚部位高剂量组、乙酸乙部位高中剂量组、正丁醇部位中低剂量组以及油高剂量组降低 MDA 含量不具有显著性($p > 0.05$),但均低于模型组。可见,石油醚部位低剂量组、乙酸乙酯部位中剂量组和正丁醇部位中剂量组能通过不同程度的降低血清中 MDA 的含量,升高 SOD 水平,增强糖尿病小鼠机体的抗氧化功能,保护机体免受自由基的进一步伤害。从剂量-效应关系看,随着给药剂量的升高,石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位和黑莓籽油降低 MDA 含量,升高 SOD 水平均不具有一定的剂量-效应依赖性。

表3 黑莓籽不同提取部位对糖尿病小鼠血清中 TG 和 TCH 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of the different extracts of blackberry seed on the levels of TG and TCH in serum($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (mg/kg)	TG (mmol/L)	TCH (mmol/L)
空白组		1.68 ± 0.26	1.64 ± 0.28
模型组		0.67 ± 0.06 ^{ΔΔΔ}	2.45 ± 0.58 ^Δ
阿卡波糖	75	0.30 ± 0.16 [*]	1.38 ± 0.26 ^{***}
	600	0.76 ± 0.17 ^{###}	2.35 ± 0.26 ^{##}
石油醚部位	300	0.62 ± 0.13 ^{###}	2.03 ± 0.54 [#]
	150	0.31 ± 0.11 ^{**}	1.65 ± 0.49 [*]
	400	0.41 ± 0.091 [*]	1.93 ± 0.42 [*]
乙酸乙酯部位	200	0.35 ± 0.20 [*]	1.59 ± 0.79 [*]
	100	0.45 ± 0.20	1.74 ± 0.61 [*]
	400	0.52 ± 0.13	1.56 ± 0.43 [*]
正丁醇部位	200	0.48 ± 0.19	1.91 ± 0.72
	100	0.40 ± 0.089 [*]	2.09 ± 0.39 [#]
	800	0.40 ± 0.18 [*]	1.64 ± 0.39 [*]
黑莓籽油	400	0.70 ± 0.22 ^{###}	1.74 ± 0.56 [*]
	200	0.60 ± 0.36 [#]	1.52 ± 0.32 [*]

目前,糖尿病是一组以长期高血糖为主要特征的代谢综合征,是由于胰岛素缺乏和(或)胰岛素生物作用障碍导致的糖代谢紊乱,同时伴有脂肪、蛋白质、水和电解质等代谢障碍,并可并发眼、肾、神经和心血管等多脏器慢性损害^[12],并且在正常机体内存在自由基产生和清除两个系统,共同维持机体的氧化还原稳态,如果活性氧簇产生过多和/或抗氧化酶如 SOD 活性下降,就可导致机体受氧化应激损伤^[15]。糖尿病发生后会导致体内自由基产生大量增加,机体抗氧化防御能力也下降。

文献^[16]报道,来自天然产物中萜类、胰岛素、肽和氨基酸类、黄酮类、多糖类、硫醚类、生物碱类、香豆精类和不饱和脂肪酸类等类型的化合物具有一定的降糖作用,如胡芦巴中芹菜素黄酮苷类化合物有降血糖活性^[17]、当归多糖有降血糖作用^[18]等。众多植物中都存在清除氧自由基的抗氧化性功能因子,包含黄酮类、多酚类、原花青素类、生物碱类、维生素、

植物激素和吲哚衍生物等^[19-20]。这些类型的化学成分可能是黑莓籽较弱降糖、纠正脂质代谢紊乱和增强机体抗氧化的有效成分,但是具体是哪些化合物具有降血糖作用,需要进一步分离纯化,进行研究。

表4 黑莓籽不同提取部位对糖尿病小鼠血清 SOD 和 MDA 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of the different extracts of blackberry seed on the content of MDA and the level of SOD in serum($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (mg/kg)	SOD (U/mL)	MDA (nmol/mL)
空白组		162.07 ± 9.28	6.15 ± 0.53
模型组		146.81 ± 3.96 ^Δ	9.79 ± 2.97 ^{ΔΔ}
阿卡波糖	75	151.97 ± 9.19	6.79 ± 0.89 [*]
	600	149.12 ± 6.97	7.58 ± 1.31
石油醚部位	300	155.62 ± 9.56	9.93 ± 1.47 ^{##}
	150	154.89 ± 8.67	6.60 ± 1.78 [*]
	400	155.12 ± 9.38	7.84 ± 0.89
乙酸乙酯部位	200	161.14 ± 7.90 [*]	7.45 ± 0.78
	100	150.09 ± 9.00	12.09 ± 0.69 ^{###}
	400	155.17 ± 10.83	11.70 ± 0.63 ^{###}
正丁醇部位	200	142.02 ± 15.00	6.70 ± 2.42 [*]
	100	145.87 ± 13.17	7.69 ± 1.36
	800	153.56 ± 13.46	7.51 ± 1.21
黑莓籽油	400	164.04 ± 18.41 [*]	17.98 ± 2.05 ^{***###}
	200	158.37 ± 7.04	16.40 ± 1.52 ^{***###}

3 结论

有文献报道,黑莓籽油具有清除 DPPH 自由基和羟基自由基的能力,抑制 $V_c - FeSO_4$ 体系诱导的小鼠肝组织丙二醛生成。本研究从糖尿病引起的脂质过氧化角度进行研究,结果表明,黑莓籽石油醚部位、乙酸乙酯部位和油具有改善糖尿病小鼠的脂质代谢紊乱,增强糖尿病小鼠机体的抗氧化防御功能,保护机体免受自由基的进一步攻击的作用。

参考文献

- [1] Turemis N, Kafkas E, Kafkas S, *et al.* Determination of Aroma Compounds In Blackberry by GC/MS Analysis[J]. Chemistry of Natural Compounds, 2003, 39(2): 174-176.
- [2] 吴文龙, 顾姻. 新经济植物黑莓的引种[J]. 植物资源与环境, 1994, 3(3): 45-48.
- [3] 尹震花, 王佳佳, 顾海鹏, 等. 黑莓(萨尼)果实体外抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(4): 530-532.
- [4] 宋建强, 王华, 胡劲光, 等. 黑莓起泡酒香气成分的 GC/MS 分析研究[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(8): 145-149.
- [5] 李立, 刘晔玮, 李红兵, 等. 黑莓果渣不同溶剂提取物抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(3): 116-118, 122.
- [6] Elisia I, Hu C, Popovich DG. Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract[J]. Food Chemistry, 2007, 101(3): 1052-1058.
- [7] 朱红叶, 马永昆, 魏本喜. 超声辅助提取黑莓籽油及其脂肪酸成分分析[J]. 中国油脂, 2010, 35(6): 5-8.

(下转第 358 页)

是通过抑制 Smad2 磷酸化而使 TGF- β 1 的信号无法正常转导,从而影响了 TGF- β 1 的生物功能。实验设计用磷酸组胺诱发豚鼠哮喘发生,豚鼠经过柚皮素 7d 的治疗干预,可以显著地延长磷酸组胺诱发哮喘的潜伏期,可能与柚皮素在体内也抑制 TGF- β 1 的产生有关,从而减少了呼吸道炎性细胞的产生,减轻豚鼠哮喘症状,但还需进一步实验证明。

3 结论

3.1 柚皮素可以延长引起半数小鼠咳嗽的氨水喷雾时间 (EDT50),且呈剂量依赖性;柚皮素低剂组 (7mg/kg) 可以显著性地减少枸橼酸引起豚鼠咳嗽次数,但对豚鼠咳嗽潜伏期的延长仅有增加趋势,柚皮素高剂组 (28mg/kg) 可以显著性地延长枸橼酸诱导豚鼠咳嗽的潜伏期,并减少咳嗽的次数,与氢溴酸右美沙芬的作用相似;提示柚皮素可能阻碍了小鼠和豚鼠咳嗽反射弧中神经冲动的正常传导而产生止咳作用。

3.2 柚皮素高剂组 (28mg/kg) 可以增加小鼠气管酚红排出量,作用与氯化铵相似,提示柚皮素可以通过促进小鼠痰液的排出而减轻咳嗽症状。

3.3 柚皮素高剂组 (28mg/kg) 可以显著性地延长磷酸组胺诱导豚鼠哮喘发生的潜伏期,从而减轻豚鼠哮喘症状,其机制可能是柚皮素在体内抑制了 TGF- β 1 的产生而减少呼吸道炎性细胞的产生,但还需进一步实验证明。

综上所述提示,柚皮素具有良好的止咳化痰平喘作用,为柚皮素的开发利用提供实验依据。

参考文献

- [1] Renugad evi J, Prabu SM. Cadmium-induced hepatotoxicity in rats and the protective effect of naringenin [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2010, 62: 171-181.
- [2] Jeon Sm, Kim Hk, Kim Hj, *et al.* Hypcholesterolemic and antioxidative effects of naringenin and its two metabolites in high-cholesterol fed rats [J]. *Translational Research*, 2007, 149 (1): 15-21.
- [8] 朱红叶, 马永昆, 白洁, 等. 超声波提取黑莓籽油的体外抗氧化活性研究 [J]. *中国粮油学报*, 2011, 26 (5): 53-56.
- [9] 张东升, 陈亮, 辛秀兰, 等. 黑莓籽油脂肪酸成分及抗氧化活性研究 [J]. *中国粮油学报*, 2011, 26 (11): 55-58.
- [10] 朱凤妹, 杜彬, 李军, 等. 大孔吸附树脂分离葡萄酒下脚料中原花青素的研究 [J]. *食品工业*, 2008 (1): 6-9.
- [11] 陈磊, 王军. 山葡萄籽中原花青素的提取 [J]. *中国野生植物资源*, 2008, 27 (1): 58-60.
- [12] Kang WY, Song YL, Zhang L. α -Glucosidase inhibitory and antioxidant properties and antidiabetic activity of *Hypericum ascyron* L. [J]. *Medicinal Chemistry Research*, 2011, 20 (7): 809-816.
- [13] Wei JF, Li YY, Shang FD. Antioxidant activities, α -glucosidase inhibitory *in vitro* and effects of *Lysimachia paridiformis* Franch. var. *stenophylla* Franch. on alloxan-induced diabetic mice *in vivo* [J]. *Journal of Medicinal Plants Research*,

- [3] Kanno S, Tomizawa A, Hiura T, *et al.* Inhibitory effects of naringenin on tumor growth in human cancer cell lines and sarcoma S-180-implanted mice [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28 (3): 527-530.
- [4] 杨文青, 马晶, 余华荣. 柚皮素改善阿尔茨海默病模型小鼠的认知能力及其机制研究 [J]. *中草药*, 2013, 44 (6): 715-720.
- [5] 史莹, 谷伟, 孙丽华, 等. 柚皮素对支气管上皮细胞中 Smad 介导的 TGF- β 1 通路的影响 [J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2013, 33 (2): 155-159.
- [6] 陈奇. 中药药理研究方法论 (第三版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 613-622.
- [7] 刘宾, 江南. 序贯法研究甘草酸二铵对小鼠镇咳作用 [J]. *中国医院药学杂志*, 2009, 29 (10): 820-822.
- [8] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学 (第 4 版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1698.
- [9] 包桂兰, 杜智敏, 赵中华, 等. 五味沙棘散止咳祛痰平喘作用的实验研究 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2009, 18 (3): 243-247.
- [10] 邱忠民. 慢性咳嗽诊断和治疗的进展 [N]. *同济大学学报: 医学版*, 2005, 26 (1): 9-14.
- [11] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南 [J]. *全科医学临床与教育*, 2009, 7 (5): 453-456.
- [12] 王山泽, 邓琨. 组织胺受体与支气管哮喘 [J]. *国外医学呼吸系统册*, 1990, 10 (3): 113-116.
- [13] Makinde T, Murphy RF, Agrawal DK. The regulatory role of TGF- β in airway remodeling in asthma [J]. *Immunol Cell Biol*, 2007, 85 (5): 348-356.
- [14] Black PN, Young PG, Skinner SJ. Response of airway smooth muscle cells to TGF- β 1: effects on growth and synthesis of glycosaminoglycans [J]. *Am J Physiol*, 1996, 271: 910-917.
- [15] Samarakoon R, Higgins PJ. Integration of non-SMAD and SMAD signaling in TGF- β 1-induced plasminogen activator inhibitor type-1 gene expression in vascular smooth muscle cells [J]. *Thromb Haemost*, 2008, 100 (6): 976-983.
- 2012, 6 (14): 2793-2800.
- [14] 付文亮, 付秀美, 和亚强, 等. 生长激素/胰岛素样生长因子-1 轴与糖尿病研究进展 [J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30 (19): 2869-2872.
- [15] 杨升华, 尹卫东. 氧化应激与糖尿病研究进展 [J]. *微量元素与健康研究*, 2011, 28 (3): 54-57.
- [16] 茅彩萍, 顾振纶. 具有降血糖作用植物的研究进展 [J]. *中国野生植物资源*, 2001, 20 (5): 1-4.
- [17] 单俊杰, 任晋玮, 武春密, 等. 胡芦巴黄酮苷及其降血糖活性的研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2008, 43 (19): 1457-1460.
- [18] 许莹, 丁虹. 当归多糖对四氧嘧啶糖尿病小鼠的降血糖作用 [J]. *中国药师*, 2004, 7 (11): 880-881.
- [19] 谭松新, 叶涛, 刘湘新, 等. 植物提取物抗氧化成分及机理研究进展 [J]. *食品科学*, 2010, 31 (15): 288-292.
- [20] 郑瑞生, 封辉, 戴聪杰, 等. 植物中抗氧化活性成分研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2010, 26 (9): 85-90.