

德国洋甘菊总黄酮对糖尿病小鼠的降血糖作用研究

杨玉玲¹, 王莹², 马红梅¹, 兰卫^{1,3*}

(1. 新疆医科大学中医院, 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆医科大学附属中医医院, 乌鲁木齐 830002;
3. 新疆名医名方与特色方剂学实验室, 乌鲁木齐 830011)

摘要: 目的 研究德国洋甘菊中总黄酮对糖尿病小鼠的降血糖作用。**方法** 将糖尿病小鼠随机分为5组: 模型组、阳性组(盐酸二甲双胍150 mg/kg)、德国洋甘菊低(78.86 mg/kg)、中(157.73 mg/kg)、高(315.46 mg/kg)剂量组。连续灌胃给药4 w后, 测定小鼠体重、空腹血糖、糖化血清蛋白、血清胰岛素, 分别测定各组小鼠口服葡萄糖0、30、60、120 min后的血糖值, 并计算曲线下面积(area under the curve, AUC)。**结果** 与模型组比较, 德国洋甘菊总黄酮各剂量组小鼠体重均有增加, 差异有统计学意义($P<0.05$); 德国洋甘菊总黄酮中、高剂量组小鼠空腹血糖降低, 差异有统计学意义($P<0.05$); 中、高剂量组小鼠糖耐量降低, 差异有统计学意义($P<0.05$); 中、高剂量组小鼠GSP水平降低, 差异有统计学意义($P<0.05$); 高剂量组小鼠胰岛素增加, 差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 德国洋甘菊总黄酮对糖尿病小鼠有一定的治疗作用。

关键词: 德国洋甘菊; 总黄酮; 糖尿病; 降血糖作用

Study on the hypoglycemic effect of total flavonoids from *Matricaria chamomilla* on diabetic mice

YANG Yu-Ling¹, WANG Ying², MA Hong-Mei¹, LAN Wei^{1,3*}

(1. College of TCM Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2. Affiliated Hospital of TCM of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 3. Xinjiang Key Laboratory of Famous Prescription and Science of Formulas, Urumqi 830011, China)

ABSTRACT: Objective To study the hypoglycemic effect of total flavonoids from *Matricaria chamomilla* on diabetic mice. **Methods** Diabetic mice were randomly divided into 5 groups: model group, the positive group (administered with metformin hydrochloride, 150 mg/kg), total flavonoids from *Matricaria chamomilla* low dose group (78.86 mg/kg), total flavonoids from *Matricaria chamomilla* medium dose group (157.73 mg/kg) and total flavonoids from *Matricaria chamomilla* high dose group (315.46 mg/kg). After 4 weeks, body weight, fasting blood glucose (FBG), glycosylated serum protein (GSP) and serum insulin (INS) were measured, and the blood glucose values of the mice in each group after oral glucose 0, 30, 60 and 120 min were measured respectively. The area under the curve (AUC) was calculated as the change in glucose tolerance. **Results** Compared to the model group, the body

基金项目: 新疆医科大学研究生创新创业项目资助(CXCY2018037)、自治区高校科研计划青年项目(XJEDU2017S025)

Fund: Supported by the Innovation and Entrepreneurship Start-up Fund for Postgraduates of Xinjiang Medical University (CXCY2018037), Youth Project of Scientific Research Plan in Universities of Autonomous Region (XJEDU2017S025)

*通讯作者: 兰卫, 教授, 主要研究方向为中药制剂和中药药理研究。E-mail: lanwei516@sina.com

Corresponding author: LAN Wei, Professor, School of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, NO.393, Xinyi Road, Xinshi District, Urumqi, Xinjiang, 830011, China. E-mail: lanwei516@sina.com

mass of each group had significantly different ($P<0.05$), FBG significantly decreased in the medium and high dose group ($P<0.05$), the level of glucose tolerance significantly decreased in the medium and high dose group ($P<0.05$), the level of GSP significantly decreased in the medium and high dose group ($P<0.05$), the level of INS significantly decreased in the high dose group ($P<0.05$). **Conclusion** The total flavone of *Matricaria chamomilla* has certain hypoglycemic effect on diabetic mice.

KEY WORDS: *Matricaria chamomilla*; total flavonoids; diabetes; hypoglycemic effect

1 引言

糖尿病是由于多种因素作用, 导致体内内分泌代谢紊乱的慢性疾病^[1]。主要症状为多食、多饮、多尿、善饥、疲乏无力等, 早期表现为尿糖升高, 随着糖尿病病程的延长, 其可诱发冠心病和动脉粥样硬化以及易并发心、脑、肾、视网膜及神经系统的慢性进行病变^[2]。近年来, 全球糖尿病的患病率和病死率已出现快速上升的趋势, 其已经成为第3大严重危害人类健康的疾病, 截至2016年, 中国糖尿病患病数占世界总数的近1/4, 居全球首位^[3,4]。目前, 对于糖尿病的防治和治疗仍是人类面临的一个重大健康课题。临幊上治疗糖尿病的药物会引起许多不良反应及副作用, 因此, 从天然植物中寻找和开发安全、有效的降糖成分具有重要意义。

德国洋甘菊(*Matricaria chamomilla*)又名母菊, 一年生草本植物, 味微苦、甘香, 主产于我国新疆南部, 是新疆特色地产药材。洋甘菊有安神、止咳、止泻、利尿、治疗月经不通、头痛久治不愈、小便不利等功效^[5-7]。临幊上主要用于治疗消化不良、胃肠道痉挛、胃肠道炎症和催眠等疾病^[8,9]。德国洋甘菊是新疆维吾尔族医常用药材, 糖尿病是世界常见病、多发病, 前期研究团队研究发现德国洋甘菊醇提物对正常小鼠、STZ小鼠糖尿病模型均有降低血糖作用, 其中醇提物中主要是黄酮类成分。本研究采用糖尿病小鼠模型, 探究德国洋甘菊总黄酮对糖尿病小鼠的治疗作用, 为相关保健品的研发提供参考意义。

2 材料与方法

2.1 仪器

R1001-VN型旋转蒸发仪(郑州长城科工贸易有限公司); DZKW-S-4型水浴锅(北京市永光明医疗仪器有限公司); AB135-S电子天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); MULTI-SKAN型酶标仪(美国 Thermo Scientific公司); 安稳血糖仪(三诺生物传感股份有限公司); HC-3518型高速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)。

2.2 试药

盐酸二甲双胍(分析纯, 北京京丰制药集团有限公司);

柠檬酸、柠檬酸钠、链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)(分析纯, 北京索莱宝科技有限公司); D-101大孔吸附树脂(陕西乐博生化科技有限公司); 无水乙醇(分析纯, 天津市北联精细化学品开发有限公司); 小鼠血清胰岛素(insulin, INS)ELISA(enzyme linked immunosorbent assay)检测试剂盒(上海将来实业有限公司); 糖化血清蛋白(glycosylated serum protein, GSP)测试盒(南京建成生物工程研究所); 所用实验用水均为蒸馏水。德国洋甘菊采自新疆医科大学中医学院药材基地, 经新疆医科大学第四附属医院李永和主任中药师鉴定为母菊属一年生草本植物德国洋甘菊(*Matricaria chamomilla*)。

2.3 动物

昆明种雄性小鼠, 体质量(20.0±2.0)g, 购自新疆医科大学动物实验中心[生产许可证 SYXK(新)2011-0001]。

2.4 洋甘菊总黄酮的制备

取德国洋甘菊粉末浸泡加12倍体积的体积分数为70%乙醇提取3次, 每次2 h, 合并提取液, 浓缩成浸膏, 用D-101大孔吸附树脂纯化, 收集洗脱液, 60 °C旋转蒸发表挥尽乙醇干燥得德国洋甘菊总黄酮, 用UV法测定, 总黄酮含量>50%, 总黄酮的得率为5.2%^[10,11]。

2.5 动物分组及造模方法

取昆明种雄性小鼠70只, 适应性饲养1 w后, 随机抽取10只小鼠为空白组, 其余60只小鼠腹腔注射STZ溶液65 mg/kg体质量(STZ粉末用pH 4.5的柠檬酸缓冲溶液溶解), 3 d后腹腔注射STZ溶液90 mg/kg体质量, 1 w后尾静脉采血测定血糖, 血糖值>11.1 mmol/L者即为造模成功。将60只糖尿病模型小鼠随机分为模型组、阳性组(盐酸二甲双胍150 mg/kg)、德国洋甘菊低剂量组(78.86 mg/kg)、德国洋甘菊中剂量组(157.73 mg/kg)、德国洋甘菊高剂量组(315.46 mg/kg)剂量组, 洋甘菊药材成人临床用药量为10 g, 德国洋甘菊低剂量组相当于临床等效剂量, 空白组和模型组给予蒸馏水, 0.1 mL/10 g体质量, 连续给药4 w。

2.6 指标测定

记录给药前及给药后连续4 w的体质量, 并每周检测小鼠禁食12 h后空腹血糖值。末次给药后, 小鼠灌胃葡萄

糖水溶液(2 g/kg), 分别在于 0、30、60、120 min 剪鼠尾取血, 用血糖仪测定血糖值。将小鼠麻醉后颈动脉取血(取血时将小鼠气管上方颈部的皮肤剪开, 拨开脂肪层, 颈动脉为小鼠气管旁较粗的血管, 将其剪断即可用离心管收集血液), 3000 r/min 离心 10 min, 分离血清, 用微板法测定糖化血清蛋白含量、ELISA 法测定血清胰岛素含量。

2.7 统计学处理

所有数据均采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析, 计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

3 结果与分析

3.1 德国洋甘菊总黄酮对小鼠体质量的影响

给药 4 w 后, 与空白组小鼠比较, 模型对照组小鼠体质量下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组小鼠比较, 二甲双胍组、德国洋甘菊总黄酮低、中、高剂量组小鼠体质量增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 1。

3.2 德国洋甘菊总黄酮对糖尿病小鼠血糖的影响

给药 4 w 后, 与空白组小鼠比较, 模型组小鼠血糖较为稳定, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 与模型组比较, 二甲双胍组、德国洋甘菊总黄酮中、高剂量组各时间点血糖均有不同程度的降低, 但作用不及二甲双胍, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 2。

3.3 德国洋甘菊黄酮对糖尿病小鼠口服葡萄糖耐量的影响

给药 4 w 后, 与空白组小鼠比较, 模型组小鼠给予葡萄糖前后各时间点血糖值升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较, 二甲双胍组、德国洋甘菊总黄酮高剂量组各时间点血糖均不同程度的降低, 但作用不及二甲双胍, 差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与空白组小鼠相比, 模型组小鼠的曲线下面积(area under the curve, AUC)明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较, 除低剂量组外, 其余各组 AUC 均下降, 且差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 3。

表 1 德国洋甘菊总黄酮对小鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 1 Effects of total flavonoids in *Matricaria chamomilla* L. on body weight of mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	体质量/g				
	第 0 d	第 7 d	第 14 d	第 21 d	第 28 d
空白组	28.92±2.12	33.53±2.03	33.80±2.56	34.35±1.87	36.66±2.62
模型对照组	28.03±2.86	27.17±2.77*	27.64±2.06*	27.17±2.22*	26.89±2.51**
二甲双胍组	28.04±4.33	31.11±4.60	31.93±4.27	32.07±4.09 [#]	32.28±4.41 [#]
低剂量组	28.08±3.93	31.01±4.73	32.03±5.43	32.35±3.39 [#]	33.66±4.21 [#]
中剂量组	28.95±3.58	30.31±3.62	30.87±3.53	31.34±3.86	32.95±3.73 [#]
高剂量组	28.81±2.94	31.03±6.80	31.80±6.29	32.06±6.48 [#]	32.84±6.32 [#]

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组小鼠比较, [#] $P < 0.05$ 。

表 2 德国洋甘菊总黄酮对糖尿病小鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effects of total flavonoids in *Matricaria chamomilla* L. on blood glucose in diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	剂量 (mg/kg)	血糖值/(mmol/L)				
		给药前	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
空白组	-	5.83±0.44	5.59±0.86	5.54±0.64	5.31±0.61	5.59±0.80
模型对照组	-	16.41±2.31**	16.01±2.16**	16.03±0.96**	15.81±1.87**	15.74±1.63**
二甲双胍组	150	16.61±2.87	14.83±4.05	14.01±2.38	13.17±1.68 [#]	11.51±1.60 ^{##}
低剂量组	78.86	16.31±2.00	15.94±3.21	15.08±2.85	14.83±1.91	14.04±1.18
中剂量组	157.73	16.24±2.11	15.70±2.39	14.87±2.95	14.13±1.51	13.69±2.24 [#]
高剂量组	315.46	16.13±2.24	15.21±2.25	14.51±2.00	13.93±2.09 [#]	13.11±1.78 [#]

注: 与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组小鼠比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ 。

表3 德国洋甘菊总黄酮对糖尿病小鼠口服葡萄糖耐量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 3 Effects of total flavonoids in *Matricaria chamomilla L.* on oral glucose tolerance in diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	血糖值/(mmol/L)				
	0 min	30 min	60 min	120 min	AUC
空白组	5.59±0.80	7.31±0.99	6.31±1.31	6.26±0.91	426.65±87.98
模型对照组	15.74±1.63**	19.54±2.65*	18.84±3.35*	16.44±2.80**	1105.03±94.34**
二甲双胍组	11.51±1.60##	14.61±2.20#	13.03±3.12#	12.13±1.09##	806.56±112.15##
低剂量组	14.04±1.18	17.71±4.10	16.40±3.80	15.34±1.94	988.05±167.71
中剂量组	13.69±2.24#	16.23±2.91#	15.41±2.44	14.37±2.20#	923.34±62.69#
高剂量组	13.11±1.78#	15.60±2.67#	14.50±4.64#	13.99±1.78#	882.21±127.44##

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组小鼠比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

3.4 德国洋甘菊黄酮对糖尿病小鼠 GSP、INS 的影响

与模型组比, 德国洋甘菊总黄酮高剂量组小鼠血清 GSP 水平降低, 胰岛素水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 德国洋甘菊总黄酮中剂量组小鼠血清 GSP 水平降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 但作用不及二甲双胍, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 4。

表4 德国洋甘菊总黄酮对糖尿病小鼠 GSP、INS 的影响
($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 4 Effects of total flavonoids in *Matricaria chamomilla L.* on GSP and INS in diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	GSP/(mmol/L)	INS/(mIU/L)
空白组	1.73±0.19	27.18±1.42
模型对照组	2.47±0.22**	23.37±1.43**
二甲双胍组	2.03±0.23##	26.12±2.28##
低剂量组	2.25±0.22	24.14±2.20
中剂量组	2.17±0.15#	24.49±3.01
高剂量组	2.11±0.17#	25.18±1.42#

注: 与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组小鼠比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

4 结论与讨论

糖尿病的发病原因大多是由于胰岛 B 细胞功能受损导致胰岛素分泌绝对或相对不足^[12]。STZ 糖尿病模型的机制是选择性地破坏胰岛 B 细胞, 模型建立后, 稳定性高, 动物存活率高, 是评价药物疗效及安全性最常用的糖尿病模型之一^[13]。本实验采用腹腔注射 STZ 的方法建立糖尿病动物模型, 造模成模率高, 血糖稳定性好。

糖耐量是诊断糖尿病和评价药物治疗效果的指标之

一, 2 型糖尿病的发生, 与葡萄糖耐量受损有关, 且与糖尿病慢性并发症的发生发展关系密切^[14]。实验结果显示, 德国洋甘菊总黄酮能够有效地改善糖尿病小鼠的糖耐量, 其中中、高剂量组对糖耐量的影响具有统计学意义。糖化血清蛋白不受临时血糖浓度波动影响, 可以有效反映患者 1~3 周的血糖水平, 血糖越高被糖化的蛋白质就越高^[15]。本实验中德国洋甘菊总黄酮中、高剂量能显著降低糖尿病小鼠的糖化血清蛋白水平, 可以较微观的反映血清中血糖的高低。中、高剂量组可以显著提高血清胰岛素的含量, 更好地促进胰岛素发挥作用, 使血糖降低。联合测定空腹血糖、OGTT、GSP、INS, 可以避免单一指标的局限性, 使糖尿病的诊断具有更好的临床价值。

综上所述, 德国洋甘菊总黄酮对糖尿病小鼠 FBG、OGTT、GSP 水平有降低作用, 促进胰岛素分泌, 对糖尿病小鼠有一定的治疗作用, 为今后的深入研究奠定了一定基础。

参考文献

- [1] 俞韩, 何泽民. 链脲佐菌素联合高脂高糖饲料诱导糖尿病大鼠模型的建立[J]. 江苏医药, 2015, 41(4): 469~470.
Yu H, He ZM. Establishment of diabetic rat model induced by streptozotocin combined with high-fat and high-sugar diet [J]. Jiangsu Med J, 2015, 41(4): 469~470.
- [2] 杜春娣. 对糖尿病的发病机理及临床表现的分析与探讨[J]. 科技展望, 2015, (21): 257.
Du CD. Analysis and discussion on the pathogenesis and clinical manifestations of diabetes mellitus [J]. Sci Technol, 2015, (21): 257.
- [3] 郭燕, 李芳, 王亮, 等. 武汉市≥65 岁城乡老年人糖尿病患病及控制现状分析[J]. 中国公共卫生, 2014, 30(6): 729~731.
Guo Y, Li F, Wang L, et al. Prevalence and control of diabetes mellitus among older residents in Wuhan municipality [J]. Chin J Pub Health, 2014, 30(6): 729~731.
- [4] 侯清涛, 李芸, 李舍予, 等. 全球糖尿病疾病负担现状[J]. 中国糖尿病杂志, 2016, 24(1): 92~96.

- Hou QT, Li Y, Li SY, et al. The global burden of diabetes mellitus [J]. Chin J Diabetes, 2016, 24(1): 92–96.
- [5] Martins MD, Márcia MM, Bussadori SK, et al. Comparative analysis between *Chamomilla recutita* and corticosteroids on wound healing. An in vitro and in vivo study [J]. Phytother Res, 2009, 23(2): 274–278.
- [6] 周伯庭, 李新中. 母菊的化学成分研究[J]. 湖南中医学院学报, 2001, (1): 27–28.
- Zhou BT, Li XZ. Study on chemical constituents of *Matricaria chamomilia* L. [J]. J Hunan Coll Trad Chin Med, 2001, (1): 27–28.
- [7] 杨彦松, 潘浪胜. 洋甘菊中黄酮类成分的分离与结构确定[J]. 应用化工, 2008, (6): 697–698.
- Yang YS, Pan LS. Isolation and structure determination of flavones from *Matricaria chamomilla* L [J]. Appl Chem Ind, 2008, (6): 697–698.
- [8] Lourdes RF, Jorge RE, Scott W, et al. Risks and benefits of commonly used herbal medicines in Mexico [J]. Toxicol Appl Pharm, 2007, 227(1): 125–135.
- [9] 万文婷, 宋颜君, 许利嘉, 等. 母菊的研究综述与应用前景分析[J]. 中国现代中药, 2019, 21(2): 260–265.
- Wan WT, Song YJ, Xu LJ, et al. An overview on modern research and application potency of *Matricaria chamomilla* L. [J]. Mod Chin Med, 2019, 21(2): 260–265.
- [10] 兰卫, 王莹, 胡江兰, 等. 德国洋甘菊中总黄酮提取工艺的响应面法优选[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(5): 1086–1088.
- Lan W, Wang Y, Hu JL, et al. Optimization of response surface method for extraction of total flavonoids from *Matricaria chamomilla* L. [J]. Lishizhen Med Mat Med Res, 2017, 28(5): 1086–1088.
- [11] 兰卫, 郭玉婷, 胡江兰, 等. 大孔树脂分离纯化维药洋甘菊中黄酮工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(3): 575–578.
- Lan W, Guo YT, Hu JL, et al. The optimal purification technology of flavone in Uygur medicine *Matricaria chamomilla* L. by macroporous resin [J]. Lishizhen Med Mat Med Res, 2017, 28(3): 575–578.
- [12] 吴伟斌. 石参有效成分对胰岛细胞及肝细胞氧化应激损伤的保护作用 [D]. 广州: 南方医科大学, 2013.
- Wu WB. The protective effect of active components of stellariae on oxidative stress injury of islet cells and hepatocytes [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2013.
- [13] 陈蓉, 宓文佳, 苏洁, 等. 大花紫薇提取物对 STZ 致 II型糖尿病小鼠的降糖作用研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2014, 38(5): 517–520, 530.
- Chen R, Mi WJ, Su J, et al. Hypoglycemic effect of *Lagerstroemia speciosa* extract on STZ II diabetic mice [J]. J Zhejiang Chin Med Univ, 2014, 38(5): 517–520, 530.
- [14] 夏毅伟. 桃胶多糖降血糖机制的研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2013.
- Xia YW. Study on hypoglycemic mechanism of *Prunus persicae* [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2013.
- [15] 江石平, 沈倩, 陆雨, 等. 西红花水提物对实验性糖尿病小鼠血糖水平的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2018, 34(2): 79–82.
- Jiang SP, Sheng Q, Lu Y, et al. Effect of water extract from safflower on blood glucose level in experimental diabetic mice [J]. Chin J App Phys, 2018, 34(2): 79–82.

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介

杨玉玲, 硕士研究生, 主要研究方向为中药制剂和中药药理研究。

E-mail: 747083530@qq.com

兰卫, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为中药制剂和中药药理研究。

E-mail: lanwei516@sina.com