

绿茶降糖作用机制的研究

全吉淑¹, 尹学哲¹, 及川和志²

(1. 延边大学医学院, 吉林 延吉 133000 2. 东北食效科学研究所, 日本 青森 030-0842)

摘要: 给糖尿病大鼠口服蔗糖或淀粉和绿茶提取物后, 观察其对糖尿病大鼠糖耐量及胰岛素的影 响, 并用比色法测定对 α -葡萄糖苷酶 (EC 3. 2. 1. 20) 和 α -淀粉酶 (EC 3. 2. 1. 1) 的抑制活性, 用快速过滤法观察对兔小肠刷状缘囊泡葡萄糖转运活性的影响。结果表明, 绿茶提取物明显改善蔗糖或淀粉负荷糖尿病大鼠的血糖水平。绿茶提取物显示较强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 其 α -葡萄糖苷酶的半抑制浓度 (IC_{50}) 值为 0. 13g/L; 对 α -淀粉酶的抑制活性则较弱, 浓度为 1g/L 时, 其对 α -淀粉酶的抑制率为 21%。绿茶提取物同时明显降低兔小肠刷状缘囊泡葡萄糖转运能力, 其半抑制浓度 (IC_{50}) 值为 3. 5g/L。提示, 绿茶可延缓小肠对糖的消化吸收, 经常食用可能有助于延缓餐后血糖的持续升高。

关键词: 绿茶; α -葡萄糖苷酶; α -淀粉酶; 葡萄糖转运体

Study on Hypoglycemic Mechanisms of Green Tea

QUAN Ji-shu¹, YIN Xue-zhe¹, KAZUSHI Oikawa²

(1. Medical College, Yanbian University, Yanji 133000, China

2. Northeast Institute of Food Factors Science for Health, Aomori 030-0842, Japan)

Abstract: Oral glucose tolerances and blood insulin levels of diabetic rats were observed after the intake of sucrose or starch with green tea extract. The inhibitory activities of green tea extract against α -glucosidase (EC 3. 2. 1. 20) and α -amylase (EC 3. 2. 1. 1) were then assayed by colorimetric method, while the glucose uptake into brush border membrane vesicles was determined by rapid filtration method. The results showed that the green tea extract significantly improves the glucose tolerance after sucrose or starch intake in diabetic rats. Green tea extract administration showed that the potent α -glucosidase inhibitory activity with IC_{50} value is 0. 13 g/L; but the inhibition effect of green tea extract on α -amylase is rather low, with the inhibitory activity about 21% at the concentration of 1 g/L. Green tea extract also significantly decreases glucose transport potency of brush border membrane vesicle of rabbit small intestine with IC_{50} value as 3. 5 g/L. It is suggested that the green tea in general, would inhibit carbohydrate digestion and absorption into small intestine, so as to be physiologically useful for suppressing postprandial hyperglycemia.

Key words green tea α -glucosidase α -amylase glucose transporter

中图分类号: R151. 2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)01-0296-03

我国具有悠久的饮茶历史。传统意义上的茶叶由于含有茶多酚, 其抗氧化、清除自由基的功能已为人们所熟知^[1]。茶多酚是一类多酚类化合物, 它作为茶叶中的主要有效成分, 占茶叶干重的 30% 左右, 其来源广泛。近年来研究表明, 茶多酚具有多种药理效应, 如降脂^[2]、防止血栓形成和抗衰老、抗心肌缺血^[3]等作用。绿茶富含茶多酚和茶多糖, 具有很好的保健作用, 因此近年来作为一种畅销茶饮料走入人们的生活。本实

验以绿茶为材料, 观察了绿茶提取物对 II 型糖尿病大鼠糖耐量的影响, 探讨其对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制作用及对兔刷状缘囊泡葡萄糖转运能力的抑制作用, 以期揭示绿茶的降糖作用机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

绿茶 湖北省宣恩县五家台茶厂生产的级外炒青

收稿日期: 2006-09-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30360113)

作者简介: 全吉淑 (1968-), 女, 副教授, 硕士, 研究方向为中草药中生物活性物质的分离及其药理作用。

E-mail: quanjs@ybu. edu. cn

绿茶。

酵母 α -葡萄糖苷酶(来源*Saccharomyces* sp.) 日本和光公司; 猪 α -胰淀粉酶(type 1-A) Sigma公司; 大鼠胰岛素酶免试剂盒 法国SPI-BIO公司。

IWAKI REN-1型旋转蒸发仪; EYELA FDU-830型冷冻干燥仪; 德国Bayer微量血糖测定仪; HITACHI U-2010型紫外分光光度仪; Wallac 1209 Rackbeta闪烁计数器。

1.2 绿茶提取物的制备

100g绿茶用2L蒸馏水浸泡过夜。过滤后滤渣重复提取三次。将提取液合并后, 减压蒸馏、冷冻干燥得绿茶干粉。其茶多酚含量为37.9%(酒石酸亚铁比色法^[4]), 茶多糖为6.1%(蒽酮硫酸法^[5])。

1.3 动物分组及糖耐量和胰岛素测定

取16只GK/Jcl雄性大鼠(II型糖尿病模型 日本クレー株式会社), 体重为259~281g, 随机分为两组。实验组大鼠以0.5g/kg剂量灌胃绿茶提取物同时灌胃蔗糖或淀粉, 对照组则以蒸馏水代替绿茶提取物。糖耐量测定方法是, 断食16h后, 灌胃蔗糖2g/kg或可溶性淀粉2g/kg, 在0、0.5、1和2h用微量血糖测定仪测定血糖。胰岛素测定按试剂盒说明常规进行。

1.4 α -葡萄糖苷酶抑制活性的测定

α -葡萄糖苷酶的抑制活性的测定采用渡边^[6]等的方法。将 α -葡萄糖苷酶溶于含有1g/L牛血清白蛋白的pH7.0 100mmol/L磷酸缓冲液中作为酶液, 4-硝基酚- α -D-吡喃葡萄糖苷溶于相同缓冲液中作为底物液。取10 μ l样品、240 μ l(0.053U)酶液和750 μ l底物液, 在37℃反应15min。用0.5ml Tris溶液停止反应, 测A_{400nm}和IC₅₀值(IC₅₀定义为抑制酶活性50%时所需的抑制剂浓度)。

1.5 α -淀粉酶抑制作用的测定^[7]

将10 μ l α -淀粉酶溶于4ml含有50mmol/L NaCl、5mmol/L CaCl₂、0.5g/L TritonX-100的pH6.9 25mmol/L Piperazine-N,N'-bis(2-ethanesulfonic acid)(PIPES)缓冲液中作为酶保存液, 测定时用缓冲液稀释40倍使用。反应体系由650 μ l PIPES缓冲液、50 μ l样品液、100 μ l酶液和200 μ l 25g/L可溶性淀粉溶液组成, 在37℃反应10min, 用0.5ml 100ml/L乙酸溶液停止反应, 碘法测定A_{700nm}和IC₅₀值。

1.6 刷状缘囊泡葡萄糖转运能力的测定

将兔小肠浸泡于300ml含200mmol/L甘露醇的pH7.4 2mmol/L HEPES[N-(2-hydroxyethyl)piperazine-N'-(2-ethanesulfonic acid)]-Tris缓冲液中, 刮取小肠黏膜, 在冰浴中高速匀浆2min。匀浆液中加入0.61g固体MgCl₂, 冰浴搅拌20min后, 在4℃ 3000 \times g离心15min, 所得上清在4℃ 3500 \times g再离心30min。此沉淀用10ml含100mmol/L甘露醇、0.1mmol/L MgSO₄的pH7.4 2mmol/L

HEPES-Tris缓冲液溶解, 在4℃ 35000 \times g离心40min, 所得沉淀用3倍体积含300mmol/L甘露醇、0.1mmol/L MgSO₄的pH7.4 10mmol/L HEPES-Tris缓冲液重新溶解, 用25号注射针头反复抽吸, 即得刷状缘囊泡悬液。以³H-D-葡萄糖为底物, 用快速过滤法^[8]测定刷状缘囊泡葡萄糖转运能力。抑制葡萄糖转运活性50%时所需的抑制剂浓度定义为IC₅₀。

1.7 统计学处理

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 并采用统计软件进行t检验。

2 结果与分析

2.1 绿茶提取物对糖尿病大鼠糖耐量及血胰岛素水平的影响

蔗糖或可溶性淀粉负荷后2h, 糖尿病大鼠血糖水平较对照组明显降低, 但血胰岛素水平基本没有变化(表1、2)。

表1 绿茶提取物对蔗糖负荷糖尿病大鼠糖耐量及胰岛素的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of green tea extract on glucose tolerance and insulin level in diabetic rats after sugar intake ($\bar{x} \pm s$)

测定指标	分组	n	0h	0.5h	1h	2h
血糖	对照组	8	12.5 \pm 1.4	16.5 \pm 2.0	18.7 \pm 1.5	18.9 \pm 2.0
(mmol/L)	实验组	8	12.3 \pm 1.2	16.3 \pm 1.4	17.2 \pm 2.3	16.0 \pm 1.8*
胰岛素	对照组	8	1.2 \pm 0.1	1.3 \pm 0.2	1.2 \pm 0.1	1.2 \pm 0.2
(ng/ml)	实验组	8	1.2 \pm 0.2	1.3 \pm 0.2	1.3 \pm 0.2	1.2 \pm 0.3

注: 与对照组相比, *p < 0.05。

表2 绿茶提取物对淀粉负荷糖尿病大鼠糖耐量及胰岛素的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of green tea extract on glucose tolerance and insulin level in diabetic rats after starch intake ($\bar{x} \pm s$)

测定指标	分组	n	0h	0.5h	1h	2h
血糖	对照组	8	12.2 \pm 2.0	15.9 \pm 1.6	18.6 \pm 1.7	17.1 \pm 1.4
(mmol/L)	实验组	8	11.9 \pm 0.9	15.4 \pm 1.3	15.9 \pm 1.9*	14.6 \pm 1.2*
胰岛素	对照组	8	1.2 \pm 0.2	1.3 \pm 0.3	1.2 \pm 0.3	1.2 \pm 0.2
(ng/ml)	实验组	8	1.2 \pm 0.2	1.3 \pm 0.3	1.3 \pm 0.3	1.3 \pm 0.3

注: 与对照组相比, *p < 0.05。

2.2 绿茶提取物对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制作用

绿茶提取物具有较强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 其IC₅₀值为0.13g/L。绿茶提取物对 α -淀粉酶也显示出抑制活性, 浓度为1g/L时, 其抑制率为21%, 抑制活性较弱。

2.3 绿茶提取物对兔小肠刷状缘囊泡葡萄糖转运活性的影响

绿茶提取物剂量依赖性降低兔小肠刷状缘囊泡的葡萄糖转运活性, 其IC₅₀值为3.5g/L。随着浓度升高, 兔小肠刷状缘囊泡葡萄糖转运活性降低幅度明显减小, 呈

直角双曲线关系。其对刷状缘囊泡葡萄糖转运的抑制作用为快速反应。

3 讨 论

在糖尿病降糖药物家族里 α -葡萄糖苷酶抑制剂是一组通过延缓糖的消化和吸收来达到降低餐后血糖目的的口服降糖药,其作用特点是在糖消化的最后一步抑制双糖降解为单糖^[9]。 α -淀粉酶抑制剂也能减慢食物淀粉在肠道中的消化,抑制餐后血糖水平的升高。因此两者是近年来糖尿病口服药物开发研究的热点^[10]。肠道对葡萄糖的吸收则以葡萄糖转运体的主动吸收来完成,因此抑制葡萄糖转运活性是降低餐后血糖的重要环节之一^[8]。本研究表明,绿茶提取物是 α -葡萄糖苷酶的抑制剂,对 α -淀粉酶也有一定抑制作用,同时降低兔小肠刷状缘囊泡的葡萄糖转运活性,但没能改变对本模型血胰岛素水平。绿茶提取物具有降糖作用,主要表现为能降低糖尿病大鼠蔗糖或淀粉负荷后血糖的持续升高趋势,从而改善其糖耐量。研究认为这一作用可能与绿茶提取物对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制作用及葡萄糖转运活性的抑制作用有关。

参考文献:

- [1] 贾之慎. 儿茶素对生物自由基的清除作用[J]. 中国茶叶, 1984(3): 17-19.
- [2] 朱向明, 赵振东, 黄志力, 等. 茶多酚预防鹌鹑高脂血症的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1996, 16(9): 549-551.
- [3] 汤圣兴, 叶艇, 赵振东. 茶多酚对大鼠异丙肾上腺素诱发心肌损伤的保护作用[J]. 中草药, 1993, 26(4): 197-199.
- [4] 何照范, 张迪清. 保健食品化学及其检测技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 106-108.
- [5] 王伟华, 韩占江, 陈晓静. 普洱茶茶多糖的提取及其含量测定[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(6): 1115-1116.
- [6] WATANABE J, KAWABATA J, KURIHARA H, et al. Isolation and identification of α -glucosidase inhibitors from Tochu-cha (*Eucommia ulmoides*) [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1997, 61(1): 177-178.
- [7] SAWADA S, TAKEDA Y, KANAMORI M, et al. Purification and characterization of α -amylase inhibitors from the seeds of three cultivars of the genus Phaseolus [J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi, 2001, 48(3): 182-188.
- [8] VEDAVANAM K, SRIJAYANTA S, OREILLY J, et al. Antioxidant action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid-containing soybean phytochemical extract (SPE) [J]. Phytother Res, 1999, 13: 601-608.
- [9] MOORADIAN A D, THURMAN J E. Drug therapy of postprandial hyperglycemia [J]. Drugs, 1999, 57(1): 19-29.
- [10] LAYER P, RIZZA R A, ZINSMEISTER A R, et al. Effect of a purified amylase inhibitor on carbohydrate tolerance in normal subjects and patients with diabetes mellitus [J]. Mayo Clin Proc, 1986, 61(6): 442-447.