

大豆胚轴提取物体外对小肠黏膜蔗糖酶、麦芽糖酶及葡萄糖转运活性的影响

全吉淑¹, 尹学哲², 张 帅²

(1. 延边大学医学院生物化学教研室, 吉林 延吉 133000;

2. 延边大学医学院附属医院内科教研室, 吉林 延吉 133000)

摘 要: 在体外比色法观察大豆胚轴提取物对大鼠小肠黏膜蔗糖酶和麦芽糖酶活性的影响, 并用快速过滤法观察其对兔小肠刷状缘囊泡葡萄糖转运活性的影响。结果表明, 大豆胚轴提取物明显降低大鼠小肠蔗糖酶、麦芽糖酶活性和兔小肠刷状缘囊泡葡萄糖转运能力。提示, 大豆胚轴提取物可延缓小肠对糖的消化和吸收, 经常食用可能有助于延缓餐后血糖的持续升高。

关键词: 大豆胚轴; 蔗糖酶; 麦芽糖酶; 葡萄糖转运体

Effect of Soybean Hypocotyl Extract on Sucrase and Maltase Activity of Intestinal Mucosa and Glucose Uptake into Small Intestine in Vitro

QUAN Ji-shu¹, YIN Xue-zhe², ZHANG Shuai²

(1. Department of Biochemistry, Yanbian University College of Medicine, Yanji 133000, China; 2. Department of Internal Medicine Teaching and Research of Affiliate Hospital, Yanbian University College of Medicine, Yanji 133000, China)

Abstract: The effect of soybean hypocotyl extract on sucrase and maltase activity of rat intestinal mucosa was investigated by colorimetric method, and glucose uptake into brush border membrane vesicles were determined by a rapid filtration method. The results showed that soybean hypocotyl extract significantly decreased sucrase and maltase activities of rat intestinal mucosa and glucose transport potency of brush border membrane vehicle of rabbit small intestine. It is suggested that soybean hypocotyl extract, which inhibit carbohydrate digestion and absorption into small intestine, seem physiologically useful for suppressing postprandial hyperglycemia.

Key words: soybean hypocotyl; sucrase; maltase; glucose transporter

中图分类号: R151.2; R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2004)01-0161-03

流行病学调查证实, 常食大豆对预防癌症和心血管疾病发生、增进人体健康有益。这些功效均与大豆中的异黄酮和皂甙等生物活性物质密切相关。最近作者在动物实验中发现富含异黄酮和皂甙的大豆胚轴提取物具有良好的抑制糖尿病大鼠血糖升高和改善糖耐量的功效^[1]。在此工作的基础上, 本文研究大豆胚轴提取物对大鼠小肠黏膜蔗糖酶、麦芽糖酶和兔小肠刷状缘囊泡葡萄糖转运体活性的影响, 以期揭示大豆胚轴降糖作用的机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

YAMATO GA32 型喷雾干燥机、IWAKI REN-1 型旋转蒸发器、EYELA FDU-830 型冷冻干燥仪、HITACHI U-2010 型紫外分光光度仪、HITACHI himac cp 100 α 超速离心机和 Wallac 1209 Rackbeta 闪烁计数器。

1.2 大豆胚轴提取物的制备

大豆冷冻干燥后剥离胚轴。将大豆胚轴用 500ml/L 甲醇溶液提取后喷雾干燥得大豆胚轴提取物, 其中大豆异黄酮和皂甙含量分别为 17.9% 和 40.2%。大豆异黄酮和皂甙的检测采用高效液相色谱法^[1, 2]。

1.3 大鼠小肠黏膜 α -葡萄糖苷酶冻干粉的制备

将大鼠小肠解冻, 刮取黏膜, 在 5 倍体积的含 5mmol/L EDTA 的 pH7.0, 100mmol/L 磷酸缓冲液中匀浆。此匀浆液在

收稿日期: 2003-05-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39960073)

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

21000 × g 离心 60min, 所得沉淀用 5 倍体积的含 0.1% TritonX-100 的 pH7.0, 100mmol/L 磷酸缓冲液在 4℃ 搅拌溶解 60min。将其在 4℃、110000 × g 离心 90min, 所得悬浮液用 pH7.0, 10mmol/L 磷酸缓冲液在 4℃ 透析 24h 后, 冷冻干燥即可得到 α-葡萄糖苷酶冻干粉^[3]。

1.4 蔗糖酶、麦芽糖酶及 α-葡萄糖苷酶活性的测定

小肠黏膜蔗糖酶和麦芽糖酶活性的测定分两步进行。首先分别以蔗糖和麦芽糖为底物进行酶解反应, 标准反应液分别含 700 μl 50mmol/L 底物、200 μl 测试液和 100 μl 酶液(0.066U)。在 37℃ 反应 30min 后, 用 1.5ml 2mol/L Tris 液终止反应。之后, 取 50 μl 反应液, 利用葡萄糖发色试剂盒(Wako)以葡萄糖氧化酶法测定生成的葡萄糖含量^[3]。抑制酶活性 50% 时所需的大豆胚轴提取物浓度定义为 IC₅₀。α-葡萄糖苷酶活性的测定则采用波边等^[4]的方法进行。即, 取 10 μl 测试液与 240 μl 酶液(0.053U), 在 37℃ 预热 5min 后, 加 750 μl 10mmol/L 4-硝基酚-α-D-吡喃葡萄糖苷溶液为底物, 置 37℃ 继续反应 15min。用 0.5ml Tris 溶液终止反应, 测 400nm 处吸光值并计算 IC₅₀ 值。

1.5 兔小肠上皮刷状缘囊泡悬液的制备^[5]

将兔小肠剪断并用冷生理盐水充分洗涤后, 采用 MgCl₂ 沉淀法和序列离心法制备兔小肠上皮刷状缘囊泡悬液。首先将兔小肠浸泡于 300ml 含 50mmol/L 甘露醇的 pH7.4, 2mmol/L HEPES [N-(2-hydroxyethyl)piperazine-N'-(2-ethanesulfonic acid)]-Tris 缓冲液中, 用载玻片将小肠黏膜刮下, 在冰浴以最大速度匀浆 2min。加入 0.61g 固体 MgCl₂ 后, 继续在冰浴中搅拌 20min 以沉淀膜囊泡。在 4℃、3000 × g 离心 15min 去除肌肉碎块后, 在 4℃、35000 × g 继续离心 30min 以分离膜囊泡。倾去上清, 将所得囊泡用 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 × g 再离心 40min 以纯化膜囊泡, 所得囊泡最后用 3 倍体积含 300mmol/L 甘露醇、0.1mmol/L MgSO₄ 的 pH7.4, 10mmol/L HEPES-Tris 缓冲液溶解, 用 25 号注射针头反复抽吸几次即可得到刷状缘囊泡悬液。用 Lowry 法测得蛋白质含量约为 8~10g/L。

1.6 小肠上皮刷状缘葡萄糖转运活性的测定

以 ³H-D-葡萄糖为底物, 采用快速过滤法^[6]测定刷状缘囊泡葡萄糖转运能力。将 20 μl 测试液与 20 μl 含 0.2mmol/L 葡萄糖, 0.3MBq/ml ³H-D-葡萄糖, 200mmol/L NaSCN, 200mmol/L 甘露醇的 pH7.4, 20mmol/L HEPES-Tris 缓冲液混合后, 加 20 μl 囊泡悬液在 25℃ 保温 10s。最后加 1ml 含 200mmol/L NaCl、250 μmol/L phlorizin 的 pH7.4, 10mmol/L HEPES-Tris 冷终止液以终止反应。反应液中的囊泡立即抽滤到 Milipore HA F0.45 μm 过滤膜上, 并用 1ml 终止液重复洗涤两次。过滤膜立即放入闪烁瓶中用闪烁计数器测定放射活性。抑制葡萄糖转运活性 50% 时所需

的大豆胚轴提取物浓度定义为 IC₅₀。

2 结果

2.1 大豆胚轴提取物对小肠黏膜蔗糖酶和麦芽糖酶的影响

大豆胚轴提取物明显降低大鼠小肠黏膜蔗糖酶和麦芽糖酶活性, 且呈剂量依赖性关系(图 1)。大豆胚轴提取物对蔗糖酶(K_m=21mmol/L)和麦芽糖酶(K_m=1.7mmol/L)的 IC₅₀ 值分别为 11.5g/L 和 57g/L, 对 α-葡萄糖苷酶(K_m=0.6mmol/L)的 IC₅₀ 值为 14.4g/L。

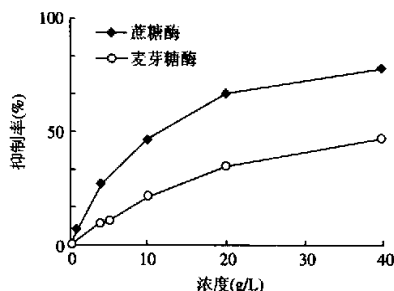


图 1 大豆胚轴提取物对蔗糖酶和麦芽糖酶的抑制作用

2.2 大豆胚轴提取物对刷状缘囊泡葡萄糖转运活性的影响

大豆胚轴提取物降低兔小肠刷状缘囊泡葡萄糖转运能力, 且在较宽范围内呈剂量依赖性关系(图 2)。其对葡萄糖转运的 IC₅₀ 值为 52g/L。

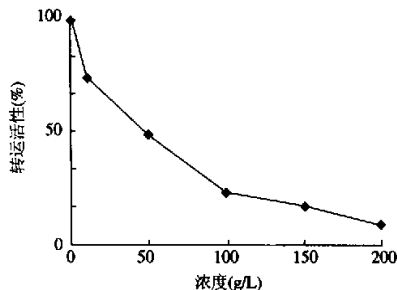


图 2 大豆胚轴提取物对葡萄糖转运活性的抑制作用

3 讨论

良好地控制血糖是糖尿病治疗的基本目标。α-葡萄糖苷酶抑制剂是一组通过延缓糖的消化来达到降低餐后高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^[4]。其中, 与餐后血糖密切相关的主要有蔗糖酶和麦芽糖酶。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也是降低餐后血糖的重要环节之一^[5]。本研究结果表明, 大豆胚轴提取物可降低大鼠小肠黏膜蔗糖酶和麦

芽糖酶活性, 尤其明显降低蔗糖酶活性; 同时抑制兔小肠刷状缘囊泡的葡萄糖转运活性, 从而能够延缓糖类在肠道中的消化和吸收。虽然大豆胚轴提取物对小肠黏膜蔗糖酶、麦芽糖酶及刷状缘囊泡葡萄糖转运的抑制作用较弱, 但因为肠道中大豆胚轴提取物的浓度能达到较高水平, 经常使用可能有助于降低餐后血糖的持续升高。作者在动物实验中也发现大豆胚轴提取物对糖尿病大鼠具有明显的降糖作用, 尤其明显抑制蔗糖负荷后血糖的持续升高趋势。作者认为这一作用与大豆胚轴提取物对小肠黏膜蔗糖酶和麦芽糖酶及葡萄糖转运活性的抑制有关。

参考文献:

- [1] 全吉淑,尹学哲,金明,等. 大豆胚轴甲醇提取物对糖尿病大鼠血糖、血脂及血浆过氧化脂质的影响[J]. 延边大学医学学报, 2001, 24(4):243-246.
- [2] 全吉淑,尹学哲,田中真实,等. 大豆胚轴中大豆皂甙 B、E 和 DDMP 皂甙的分离纯化 [J]. 食品科学, 2003, 24(2):107-109.
- [3] 川端潤,葛西隆則. α -グルコシターゼ阻害剤 [P]. 日本特許:2000-229874A, 2000-08-22.
- [4] Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, et al. Isolation and identification of alpha-glucosidase inhibitors from Tochu-cha (*Eucommia ulmoides*) [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1997, 61(1):177-178.
- [5] Vedavanam K, Sriyanta S, O'Reilly J, et al. Antioxidant action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid-containing soybean phytochemical extract (SPE) [J]. Phytother Res, 1999, 13:601-608.
- [6] Garriga C, Moret M, Planas J M. Hexose transport in the apical and basolateral membranes of enterocytes in chickens adapted to high and low NaCl intakes [J]. J Physiol, 1999, 514(1):189-199.

白蛋白多肽对核苷的促吸收及增强小鼠细胞免疫功能的作用

陈栋梁¹, 刘莉¹, 于兰¹, 殷腊生¹, 王阿敬^{2*}, 杨渝珍²

(1. 武汉肽类物质应用研究中心, 湖北 武汉 430023;

2. 华中科技大学同济医学院实验医学研究中心, 湖北 武汉 430030)

摘要: 目的: 观察白蛋白多肽促进核苷在肠道的吸收及对细胞免疫功能的增强作用。方法: 应用同位素示踪法对小鼠小肠、肝及胸腺等组织的³H-胸腺嘧啶核苷(³H-TdR)放射性值进行检测, 比较了白蛋白多肽和³H-TdR 混合物进食组小鼠与仅进食³H-TdR 组小鼠间的区别。此外, 应用 MTT 法对实验鼠 ConA 刺激的脾淋巴细胞增殖活性进行了测定。结果与结论: 白蛋白多肽具有促进核苷在小肠的吸收及转运作用并增加在肝和胸腺组织的分布。此外, 白蛋白多肽和核酸混合灌胃组小鼠的脾淋巴细胞增殖活性高于单独白蛋白多肽或单独核酸灌胃组小鼠。结果表明, 白蛋白多肽具有促进核苷的吸收及利用作用, 并对动物机体细胞免疫功能具有增强作用。

关键词: 细胞免疫; ³H-胸腺嘧啶核苷; 白蛋白多肽

The Promoting Effect of Albumin Polypeptide on Absorption of Nucleoside and Cellular Immune Function in Mice

CHENG Don-liang¹, LIU Li¹, YU Lan¹, YIN La-sheng¹, WANG A-jing^{2*}, YANG Yu-zhen²

(1. Wuhan Application Research Center for Peptide Substance, Wuhan 430023, China; 2. Research Center of Experimental Medicine, Tongji Medical College, Huazhong Science and Technology University, Wuhan 430030, China)

Abstract: Purpose: To observe the promoting effect of albumin polypeptide on absorption of nucleoside in intestinal and

收稿日期: 2003-06-19

* 通讯联系人

基金项目: 武汉市科委科技创新基金项目资助([2000]242)

作者简介: 陈栋梁, 博士, 研究员, 主要研究方向为多肽的生物化学与应用。