

# 苦瓜伤流液对链脲佐菌素诱导糖尿病小鼠的降糖功能研究

董英<sup>1</sup>, 朱晶英<sup>1</sup>, 陈钧<sup>2</sup>

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏 镇江 212013; 2. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013)

**摘要:** 研究苦瓜伤流液(*Momordica charantia* L. Bleeding Sap, MBS)对链脲佐菌素(STZ)诱导糖尿病小鼠的降血糖功能并探索其作用机理。选用 ICR 小鼠 60 只, 随机抽取 10 只作空白对照, 余下 50 只禁食 17~18h 后腹腔注射 STZ 170mg/(kg bw · d)。取血糖值在 11.1mmol/L 以上者随机分组, 共 3 组: 模型组、二甲双胍组(200mg/(kg bw · d)) 和 MBS 组(200mg/(kg bw · d))。连续灌胃 30d 后, 测定小鼠空腹血糖、血清胰岛素、血脂水平及肝糖原含量。解剖取胰腺, 采用石蜡包埋、HE 染色, 做组织切片观察。结果显示: 苦瓜伤流液能显著降低糖尿病小鼠的空腹血糖值及血脂水平, 增加血清胰岛素和肝糖原含量; 胰腺切片提示, 苦瓜伤流液能够改善胰岛组织功能, 促进胰岛  $\beta$  细胞修复。结果表明苦瓜伤流液能促进糖尿病小鼠受损胰岛  $\beta$  细胞修复、刺激胰岛素分泌、增加肝糖原合成、调节血脂代谢, 从而起到降低血糖的作用。

**关键词:** 苦瓜; 伤流液; 降血糖功能; 机理

## Antihyperglycemic Function of *Momordica charantia* L. Bleeding sap in STZ-Induced Diabetic Mice

DONG Ying<sup>1</sup>, ZHU Jing-ying<sup>1</sup>, CHEN Jun<sup>2</sup>

(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

2. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

**Abstract** The present study was aimed at studying the antihyperglycemic effect and its mechanism of *Momordica charantia* L. bleeding sap (MBS) on streptozotocin-induced diabetic mice. Ten mice were selected randomly as control, while another 50 mice were injected with STZ 170 mg/kg bw after fasting for 17 - 18 h to induce diabetes. The diabetic mice were divided into 3 groups: model group, metformin group (200 mg/(kg bw · d)) and MBS group (200 mg/(kg bw · d)). After 30 days of gavage administration, the levels of fasting blood glucose and blood-fat, serum insulin and hepatic glycogen content were examined. The paraffin sections of pancreas, stained with HE, were made into pathological sections for observation. The results showed that MBS could significantly reduce the levels of fasting blood glucose and blood-fat in diabetic mice, with an increase in hepatic glycogen and insulin content. The pathological sections showed that MBS improved the function of pancreas islet tissues, accelerate the renovation of pancreatic  $\beta$  cells in diabetic mice. The above results indicate that MBS can accelerate the repair of pancreatic islet  $\beta$  cells injured by streptozotocin, stimulate the secretion of insulin, increase the synthesis of hepatic glycogen and regulate blood lipid metabolism so as to reduce blood glucose level of diabetic mice.

**Key words:** *Momordica charantia* L.; bleeding sap; antihyperglycemia effect; mechanisms

中图分类号: R151.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)21-0349-04

苦瓜降糖活性成分的研究已经开展了近半个世纪。早在 1960 年, 即有研究表明正常的家兔和四氧嘧啶诱导糖尿病家兔灌服苦瓜浆汁后, 其血糖水平明显降低。其后许多文献报道, 苦瓜的果肉、种籽、叶子和整个植

株对正常小鼠、四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠、链脲霉素诱导糖尿病小鼠及基因诱变糖尿病小鼠都具有显著降血糖作用<sup>[1-7]</sup>。既往的研究工作主要围绕着苦瓜果肉、苦瓜子提取物的降糖活性成分与应用开发, 到目前为止, 苦

收稿日期: 2010-03-02

基金项目: 江苏省镇江市科技攻关项目(NL2008019)

作者简介: 董英(1954—), 女, 教授, 学士, 研究方向为食品生物技术。E-mail: ydong@ujs.edu.cn

瓜中仍有尚未探明的降血糖活性成分,对苦瓜伤流液(*Momordica charantia* L. Bleeding Sap, MBS)的降血糖活性研究未见报道。

关于瓜果类植物伤流液的功能和化学组成的研究鲜见报道。美国学者从黄瓜的伤流液中分离到28kD的几丁质酶片段,并且还从黄瓜和南瓜的伤流液中分离到了类凝集素的蛋白质片段XSP(xylem sap protein)<sup>[8]</sup>;丝瓜伤流液是我国传统中药,又称为“天罗水”,加白糖煮沸内服,可“镇咳、治头痛、腹痛、感冒、脚气水肿和酒精中毒等”,近代医学用来治疗神经性皮炎有一定的效果<sup>[9]</sup>;葡萄树伤流液中含有多种营养成分,具有很强的抗氧化活性及热稳定性<sup>[10]</sup>,是一种潜在天然抗氧化剂。

MBS是在苦瓜收获即将结束时,将其主茎在一定高度切断后,在其切口处收集的流出液。因其不影响苦瓜收成,是对苦瓜资源充分利用的极好途径。本研究对MBS的降血糖功能及其作用机制进行研究,以期在苦瓜伤流液的开发领域取得创新性研究成果,也可为其其他植物伤流液的研究与开发提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

健康ICR雄性小鼠,体质量( $25 \pm 2$ )g,由扬州大学比较医学中心提供(动物合格证号SCXK苏2007-0001)。

新鲜MBS 江苏扬中苦瓜种植基地;链脲佐菌素(STZ) 美国Sigma公司;二甲双胍 上海华氏制药有限公司;血糖测定试纸 美国强生公司;肝糖原、总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白测定试剂盒 南京建成生物工程研究所;胰岛素放射免疫测定试剂盒 北京科美生物技术有限公司。

TOUCHI血糖监测仪 美国强生公司;BR4i冷冻离心机 法国Jouan公司;GC-1200 $\gamma$ 放射免疫计数器 中国科学技术大学科技实业总公司;Leica DM2500显微镜 易微科技有限公司;T8电动匀浆器 德国IKA公司;B040234全自动酶标仪 Thermo公司;UV-2100分光光度计 尤尼科(上海)科学仪器有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 MBS的收集

取苦瓜采摘后的苦瓜藤茎,傍晚时分,在距地面80cm左右将苦瓜藤茎剪断,并将其插入接收瓶中,塞紧瓶口,绑扎固定,次日傍晚每株可接收到450mL左右的MBS原液。收集的液体经过滤,置于4℃冰箱保存。

#### 1.2.2 MBS干粉的制备

新鲜MBS→离心去杂质→低温真空浓缩→冷冻干燥→MBS冻干粉

#### 1.2.3 STZ糖尿病小鼠模型的建立

健康ICR雄性小鼠60只,适应性喂养1周后,随机分为2组,第1组10只为正常对照组,第2组50只为造模组。造模时小鼠禁食不禁水16~17h后,按170mg/(kg bw·d)腹腔注射STZ溶液(STZ临用前用柠檬酸缓冲液冰浴避光配制成质量浓度为1g/100mL的溶液)<sup>[11]</sup>。适应性喂养72h后禁食3~5h,断尾取血测血糖值,血糖值在11.1mmol/L以上的为高血糖造模成功小鼠<sup>[12]</sup>。

#### 1.2.4 MBS对STZ糖尿病小鼠的降血糖实验

以正常小鼠作为正常对照组,将STZ诱导成功的糖尿病小鼠按平均血糖值随机分为模型组、二甲双胍组和MBS组。正常对照组和模型组每天灌胃0.4mL生理盐水,二甲双胍组、MBS组按200mg/(kg bw·d)分别灌胃二甲双胍和MBS,各组实验均连续灌胃30d。末次灌胃后禁食3~5h,断尾取血测血糖值;次日,采用摘眼球取血并分离血清测胰岛素、总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白含量;取肝脏测肝糖原含量;每组随机取3只小鼠的胰腺用甲醛固定、石蜡包埋和HE染色,做组织切片观察。各指标测定参照试剂盒说明书进行。

### 1.3 统计方法

数据采用SPSS 13.0软件进行统计分析,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 MBS对糖尿病小鼠体质量的影响

表1 MBS对糖尿病小鼠体质量的影响  
Table 1 Effect of MBS on body weight in diabetic mice

组别	只数	体质量/g		
		灌胃前	灌胃后	灌胃前后差值
正常对照组	10	26.09 $\pm$ 1.19	37.56 $\pm$ 1.37 <sup>●●</sup>	8.78 $\pm$ 0.64
模型组	9	26.22 $\pm$ 1.05	27.37 $\pm$ 1.65 <sup>**</sup>	1.15 $\pm$ 0.6
二甲双胍组	9	26.11 $\pm$ 1.27	29.44 $\pm$ 1.95 <sup>**●</sup>	3.33 $\pm$ 0.68
MBS组	9	25.91 $\pm$ 1.41	30.26 $\pm$ 1.61 <sup>**●●</sup>	4.35 $\pm$ 0.20

注: \*与正常对照组比较,有显著性差异( $P < 0.05$ ); \*\*与正常对照组比较,有极显著性差异( $P < 0.01$ ); ●与模型组比较,有显著性差异( $P < 0.05$ ); ●●与模型组比较,有极显著性差异( $P < 0.01$ )。下同。

由表1可知,实验开始时各组小鼠体质量无明显差异,灌胃30d后,正常对照组小鼠体质量明显增加,而模型组出现消瘦症状,体质量增加缓慢;MBS组与模型组相比,体质量增长速度明显加快,其差异具有

统计学意义( $P < 0.01$ )。结果显示, MBS 对糖尿病小鼠体重减轻有一定的改善作用。

## 2.2 MBS 对糖尿病小鼠血糖的影响

灌胃前各组小鼠血糖值与正常对照组小鼠相比, 显示极显著差异, 证明 STZ 成功诱导了小鼠的高血糖。灌胃 30d 后, 正常对照组小鼠血糖维持稳定, 模型组小鼠血糖略有升高; 与模型组相比, 二甲双胍组与 MBS 组血糖值均显著降低, 具有极显著差异( $P < 0.01$ ), 表明 MBS 可降低糖尿病小鼠空腹血糖值, 且降糖效果与二甲双胍相似(表 2)。

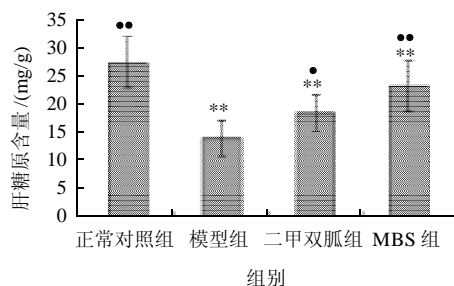
表 2 MBS 对糖尿病小鼠空腹血糖的影响

Table 2 Effect of MBS on fasting plasma glucose level in diabetic mice

组别	只数	血糖/(mmol/L)		降糖率/%
		灌胃前	灌胃后	
正常对照组	10	6.96 ± 0.51 <sup>●●</sup>	7 ± 0.63 <sup>●●</sup>	
模型组	9	22.73 ± 3.42 <sup>**</sup>	25.84 ± 2.11 <sup>**</sup>	
二甲双胍组	9	22.90 ± 4.49 <sup>**</sup>	19.52 ± 2.61 <sup>**●●</sup>	14.75
MBS 组	9	23.39 ± 4.81 <sup>**</sup>	19.40 ± 3.32 <sup>**●●</sup>	17.05

## 2.3 MBS 对糖尿病小鼠肝糖原含量的影响

与正常组小鼠相比, 糖尿病小鼠肝糖原含量明显降低, 说明糖尿病小鼠糖代谢出现紊乱, 肝糖原合成量下降。与模型组相比, 二甲双胍组和 MBS 组肝糖原含量均显著升高( $P < 0.05$ ), 且 MBS 组的肝糖原含量高于二甲双胍组。结果说明 MBS 具有改善糖尿病小鼠糖代谢紊乱、增加肝糖原合成的功能(图 1), 从而使血糖下降。



\*.与正常对照组比较, 有显著性差异( $P < 0.05$ ); \*\*.与正常对照组比较, 有极显著性差异( $P < 0.01$ ); ●.与模型组比较, 有显著性差异( $P < 0.05$ ); ●●.与模型组比较, 有极显著性差异( $P < 0.01$ )。下同。

图 1 MBS 对糖尿病小鼠肝糖原含量影响

Fig.1 Effect of MBS on the content of hepatic glycogen in diabetic mice

## 2.4 MBS 对糖尿病小鼠血脂水平的影响

与正常对照组相比, 模型组小鼠血清中的甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)极显著升高( $P < 0.01$ ), 而高密度脂蛋白(HDL-C)则极显著降低( $P < 0.01$ ), 具有高脂血症的显著特征。灌胃 MBS 与二甲双胍后, 其高脂血症有

不同程度的缓解, 尤其是 MBS 组, 基本达到正常组的水平, 说明 MBS 对糖尿病所引起的高脂血症有显著的改善作用(表 3)。

表 3 MBS 对糖尿病小鼠血脂的影响

Table 3 Effect of MBS on blood-fat in diabetic mice

组别	只数	TG(mg/dL)	TC(mg/dL)	HDL-C(mg/dL)
正常对照组	10	133.45 ± 32.78 <sup>**</sup>	244.81 ± 29.72 <sup>**</sup>	116.67 ± 10.04 <sup>**</sup>
模型组	9	227.41 ± 46.26 <sup>**</sup>	346.92 ± 83.98 <sup>**</sup>	83.76 ± 9.85 <sup>**</sup>
二甲双胍组	9	147.00 ± 51.85 <sup>**</sup>	232.86 ± 58.02 <sup>**</sup>	109.12 ± 14.79 <sup>**</sup>
MBS 组	9	134.74 ± 60.35 <sup>**</sup>	222.57 ± 38.49 <sup>**</sup>	113.57 ± 16.59 <sup>**</sup>

## 2.5 MBS 对糖尿病小鼠血清胰岛素含量的影响

STZ 诱导的糖尿病小鼠血清胰岛素水平较正常组相比极显著下降( $P < 0.01$ )。灌胃 30d 后, 与糖尿病模型组比较, 二甲双胍组胰岛素含量略有增加, 但统计学上未达到显著差异( $P > 0.05$ ), 而 MBS 组胰岛素含量则显著上升( $P < 0.05$ ), 表明 MBS 能促进糖尿病小鼠分泌胰岛素, 且效果优于二甲双胍(图 2)。

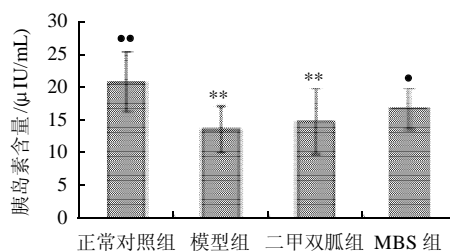
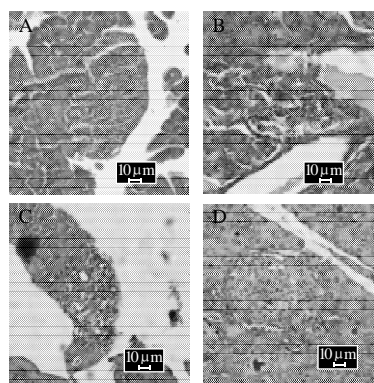


图 2 MBS 对糖尿病小鼠血清胰岛素含量的影响

Fig.2 Effect of MBS on the content of serum insulin in diabetic mice

## 2.6 MBS 对糖尿病小鼠胰岛组织及胰岛 β 细胞的作用



A. 正常组; B. 模型组;  
C. 二甲双胍组; D. MBS 组。

图 3 MBS 对糖尿病小鼠胰岛组织形态的影响(× 100)

Fig.3 Effect of MBS on the morphology of pancreas islet tissues in diabetic mice (× 100)

显微镜下观察小鼠胰岛组织切片发现, 正常组胰岛结构清晰, 边缘界限整齐, 细胞分布均匀, 细胞核大小均一, 内、外分泌部之胰岛 $\beta$ 细胞数目无增多或减少, 腺泡上皮无变性坏死(图3A); 模型组小鼠胰岛组织边缘不甚清晰, 大部分细胞核皱缩变形, 内、外分泌部之胰岛 $\beta$ 细胞数目减少, 胰腺细胞部分呈脂肪变性及炎性细胞浸润(图3B); 二甲双胍组胰岛体积较小, 整体形态与模型组相比无明显变化(图3C); MBS组与模型组相比, 胰岛结构较清晰, 边缘界限较完整, 胰岛 $\beta$ 细胞数目减少程度明显改善, 腺泡上皮无变性坏死(图3D)。

### 3 讨论

STZ通过自由基损伤胰岛 $\beta$ 细胞, 使其胰岛素合成减少, 诱发糖尿病<sup>[13]</sup>。实验小鼠在注射STZ 72h后, 与正常组相比血糖升高显著, 并出现“三多一少”的糖尿病症状。灌胃MBS 30d后, 糖尿病小鼠血糖明显下降( $P < 0.01$ ), 且小鼠体质量也有一定的增加。

肝脏是动物糖代谢的主要器官之一, 可通过糖异生和肝糖原的合成与分解来调节血糖的浓度<sup>[14]</sup>。结果显示, 二甲双胍组和MBS组小鼠的肝糖原含量均显著增加( $P < 0.05$ ), 说明MBS具有改善其异常糖代谢的功能。

TC、TG是血脂症的重要指标, 是心血管疾病的危险因子。HDL-C是心血管的保护因子, 能将胆固醇和甘油三酯送入肝脏代谢, 因此被誉为血管的清道夫<sup>[15-16]</sup>。STZ糖尿病小鼠在高血糖的同时, 还伴随脂代谢紊乱<sup>[17]</sup>。实验结果表明, MBS能显著降低STZ糖尿病小鼠血清中TC、TG含量, 且增加HDL-C含量( $P < 0.01$ ), 说明MBS还具有调节STZ糖尿病小鼠脂代谢的作用。

胰岛素是具有多种生物学效应的激素, 对保持机体营养物质的代谢平衡、维持内环境稳定发挥至关重要的作用<sup>[18]</sup>。实验表明, MBS能提高STZ糖尿病小鼠血清胰岛素水平( $P < 0.05$ ), 且对STZ造成的胰岛 $\beta$ 细胞损伤有明显的修复作用, 而二甲双胍对STZ糖尿病小鼠血清胰岛素水平及胰岛组织修复则无明显作用。结果提示, MBS的降血糖作用与胰岛组织修复有关, 而二甲双胍则与胰岛组织修复无关, 说明二者在降糖机制上存在差异。

综上所述, MBS能显著降低STZ糖尿病小鼠的空腹血糖值, 增加其肝糖原、血清胰岛素和高密度脂蛋白含量, 并降低血脂含量。组织切片显示, MBS能够改善胰岛组织形态, 促进胰岛细胞的修复, 其降糖机制与促进肝糖原合成、调节脂代谢、改善胰岛组织功能、促进胰岛 $\beta$ 细胞修复及增加胰岛素分泌相关。

### 参考文献:

- [1] MIURA T, ITOH C, IWAMOTO N, et al. Hypoglycemic activity of the fruit of *Momordica charantia* in type 2 diabetic mice[J]. Journal of Nutrition Sciences Vitaminology, 2001, 47: 340-344.
- [2] SATHISHSEKAR D, SUBRAMANIAN S. Antioxidant properties of *Momordica charantia* (bitter melon) seeds on streptozotocin induced diabetic rats[J]. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 2005, 14: 155-158.
- [3] OISHI Y, SAKAMOTO T, UDAGAWA H, et al. Inhibition of increases in blood glucose and serum neutral fat by *Momordica charantia* saponin fraction[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2007, 71: 735-740.
- [4] 董英, 张慧慧. 苦瓜多糖降血糖活性成分的研究[J]. 营养学报, 2008, 30(1): 54-56.
- [5] 石雪萍, 姚惠源. 苦瓜皂甙降糖机理研究[J]. 食品科学, 2008, 29(2): 366-368.
- [6] YUAN Xiaoqing, GU Xiaohong, TANG Jian. Purification and characterisation of a hypoglycemic peptide from *Momordica charantia* L. Var. abbreviata Ser[J]. Food Chemistry, 2008, 111: 415-420.
- [7] SHIH Chunghing, LIN Chenghsiu, LIN Weili. *Momordica charantia* extract on insulin resistance and the skeletal muscle GLUT4 protein in fructose-fed rats[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2009, 123: 82-90.
- [8] MASUDA S, KAMADA H, SATOH S. Chitinase in cucumber xylem sap[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2001, 65: 1883-1885.
- [9] 宋士清, 刘桂智, 刘微, 等. 丝瓜的药用价值研究概述[J]. 园艺园林科学, 2004, 20: 166-169.
- [10] 艾尔肯·依不拉音, 阿吉姑·阿布都热西提, 李建光, 等. 新疆葡萄树伤流液抗氧化活性及热稳定性的研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(1): 14-16.
- [11] 宋立江, 刘长青, 蒋东升, 等. 链脲佐菌素稳定性对小鼠糖尿病模型的影响[J]. 实用预防医学, 2008, 15(3): 896-897.
- [12] 黄松. 糖尿病动物模型研究现状及进展[J]. 广西医学, 2002, 24(1): 46-48.
- [13] BEPPU H, SHIMPO K, CHIHARA T. Antidiabetic effects of dietary administration of *Aloe arborescens* Miller components in multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice: Investigation on hypoglycemic action and systemic absorption dynamics of aloe components[J]. J Ethnopharmacol, 2006, 103: 468-477.
- [14] 刘青, 肖兵, 叶静, 等. 金线莲石油醚提取物的降血糖作用[J]. 兰州大学学报, 2009, 35(1): 55-57.
- [15] WANG Jinnchi, HU Shuhui, WANG Jihtrng, et al. Hypoglycemic effect of extract of *Hericium erinaceus*[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2005, 85: 641-646.
- [16] 刘爱青, 段玉峰. 中华稻蝗黄酮降血脂及抗氧化作用的研究[J]. 山东农业大学学报:自然科学版, 2007, 38(2): 239-242.
- [17] SHARMA B, BALOMAJUMDER C, ROY P. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46: 2376-2383.
- [18] SCHMIDT S L, HICKEY M S. Regulation of insulin action by diet and exercise[J]. Journal of Equine Veterinary Science, 2009, 29(5): 274-284.