

艾叶乙醇提取物对糖尿病小鼠血糖和血脂的影响

肖建琪¹, 徐健², 束芳荣¹, 胡晓芬¹, 柳文媛³, 冯锋^{1,2*}

(¹江苏食品药品职业技术学院药学院, 淮安 223003; ²中国药科大学中药学院天然药物化学系, 南京 211198;

³中国药科大学药学院药物分析系, 南京 210009)

摘要 为评价艾叶乙醇提取物对高脂饮食联合链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病模型小鼠血糖血脂的影响, 采用腹腔注射STZ(35 mg/kg)加高糖高脂饲料喂养ICR小鼠, 建立糖尿病小鼠模型。糖尿病小鼠随机分成3组, 模型组(5 mL/kg 0.5% CMC-Na)、艾叶乙醇提取物低剂量组(100 mg/kg)和高剂量组(400 mg/kg)。连续给药6周, 每天记录小鼠的饮水量及摄食量, 每周记录并比较小鼠的血糖指标。测定给药6周后小鼠血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和糖耐量(OGTT)水平。结果显示, 艾叶乙醇提取物高剂量组小鼠的饮水量、摄食量、体重及空腹血糖和血糖浓度-时间曲线下面积(AUC)明显降低($P < 0.01$), 口服葡萄糖耐量也显著改善($P < 0.01$), 艾叶乙醇提取物低剂量组小鼠的TG、TC和LDL-C显著降低($P < 0.01$)。实验结果提示艾叶乙醇提取物对糖尿病小鼠糖脂代谢具有显著调节、改善作用, 且呈现一定的剂量依赖性。

关键词 艾叶; 乙醇提取物; 2型糖尿病; 血糖; 血脂

中图分类号 R965.1 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2021)01-0071-06

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20210110

引用本文 肖建琪, 徐健, 束芳荣, 等. 艾叶乙醇提取物对糖尿病小鼠血糖和血脂的影响[J]. 中国药科大学学报, 2021, 52(1): 71-76.

Cite this article as: XIAO Jianqi, XU Jian, SHU Fangrong, et al. Effect of Artemisia Argyi Folium ethanolic extract on blood glucose and blood lipids in diabetic mice[J]. J China Pharm Univ, 2021, 52(1): 71-76.

Effect of Artemisia Argyi Folium ethanolic extract on blood glucose and blood lipids in diabetic mice

XIAO Jianqi¹, XU Jian², SHU Fangrong¹, HU Xiaofen¹, LIU Wenyuan³, FENG Feng^{1,2*}

¹Department of Pharmacy, Jiangsu Food and Pharmaceutical Science College, Huai'an 223003;

²Department of Natural Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198;

³Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract To investigate the effect of ethanolic extract from Artemisia Argyi Folium on blood glucose and blood lipids in diabetic mice, ICR mice were induced by intraperitoneal injection of 35 mg/kg streptozotocin (STZ) and a high-carbohydrate/high-fat diet to construct type 2 diabetes mellitus model. Diabetic mice were randomly divided into three groups: the model group (5 mL/kg 0.5% CMC-Na), the Artemisia Argyi Folium ethanolic extract low-dose group (100 mg/kg) and high-dose group (400 mg/kg). During the treatment for 6 weeks, the amount of drinking water and food intake of mice were recorded every day. Blood glucose and body weight were recorded every week. After treatment for 6 weeks, serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and oral glucose tolerance (OGTT) were measured. The results showed that the amount of drinking water and food intake of mice significantly decreased ($P < 0.01$) in the Artemisia Argyi Folium ethanolic extract high-dose group; oral glucose tolerance was significantly improved ($P < 0.01$) and the contents of TC, TG and LDL-C were significantly decreased in the Artemisia

收稿日期 2020-07-09 *通信作者 Tel: 0517-87088871 E-mail: fengfeng@cpu.edu.cn

基金项目 江苏省淮安市自然科学基金资助项目(No. HAB202066); 江苏食品药品职业技术学院面上引导基金资助项目(No. JSFP2019003, No. JSFP2019009)

Argyi Folium ethanolic extract low-dose group ($P < 0.01$). The ethanolic extract from *Artemisia Argyi* Folium could significantly improve the glucose and lipid metabolic disorder in T2DM mice in a dose-dependent manner.

Key words *Artemisia Argyi* Folium; ethanolic extract; T2DM; blood glucose; blood lipids

The study was supported by the Natural Science Foundation of Huaian of Jiangsu Province (No. HAB202066) and the General Program Foundation of Jiangsu Food and Pharmaceutical Science College (No. JSFP2019003, No. JSFP2019009)

糖尿病(diabetes mellitus, DM)作为一种常见的内分泌代谢紊乱性疾病,是由于胰岛素分泌相对不足或胰岛素抵抗而引起的糖脂代谢紊乱的疾病^[1]。随着人们生活水平的提高,糖尿病已经成为严重的公共健康问题^[2]。目前,临床上使用的药物仍然停留在治标不治本的阶段,虽然其作用强、起效快,但往往缺乏整体的协调性,易导致糖尿病患者产生耐药性,引起低血糖、肾功能降低等多种不同程度的不良反应^[3],加速了糖尿病并发症的发生和发展,不利于糖尿病患者长期使用。与西药不同,诸多研究表明中药治疗糖尿病具有多成分、多途径、多靶点、多环节、不良反应小、协同效应强和综合调节等特点^[4]。因此,从天然药物中寻找治疗糖尿病药物已经成为药物研究人员关注的热点。

艾叶(菊科)是植物艾草(*Artemisia argyi* Levl. et Vant.)干燥的叶,味苦、性温,具有散寒止痛、温经止血的功效,常用于治疗月经不调、出血不止,外用还可治疗皮肤瘙痒等症^[5]。艾叶是独特的药食两用植物,传统上用作食品添加剂。其主要活性成分包括黄酮类、挥发油类、绿原酸类、酚酸类、三萜类等^[6],通常艾叶的有效成分采用乙醇进行浸提,并且现代药理学证明艾叶具有抗氧化、抗炎、抗菌、抗病毒、镇痛、降血糖、免疫调节等药理作用^[7-9]。

我国古代就有“苦能制甜”之说,应用到临床中就是用苦味药物治疗糖尿病,而且临床也已证实苦味中药的降糖作用是确切的,艾叶其中的有效活性成分,如黄酮类、绿原酸、酚酸类等化学成分已证实具有降血糖的活性,但对于其具体的降血糖机制尚缺乏有说服力的研究结果。本课题组前期研究已经证实艾叶乙醇提取物能够降低正常小鼠的餐后血糖^[10]。然而,艾叶乙醇提取物用于防治糖尿病的证据并不充分。本实验采用高脂喂养联合低剂量链脲佐菌素(STZ)诱导2型糖尿病

(T2DM)动物模型,研究艾叶乙醇提取物对T2DM动物模型饮水量、摄食量、血糖、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的影响。

1 材料

1.1 药物与试剂

艾叶购于湖北蕲春,经中国药科大学冯锋教授鉴定为菊科植物艾草 *Artemisia argyi* Levl. et Vant. 的干燥叶。艾叶标本(No. 20190901)存放于中国药科大学天然药物化学教研室。艾叶 300 g 粉碎后用 95% 乙醇加热回流提取 3 次,每次 1 h,抽滤,减压回收溶剂,得艾叶乙醇提取物浸膏 27.8 g,得率 9.27%。

STZ(美国Sigma公司);TC、TG、HDL-C、LDL-C检测试剂盒(上海沪震生物科技有限公司);BCA蛋白定量试剂盒(美国Thermo Fisher Scientific公司);酶联免疫吸附试验试剂盒(上海晶抗生物工程有限公司);二甲双胍(拜耳医药保健有限公司);其他试剂均为市售分析纯。

1.2 仪器

RE-2000型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);HR/T16M台式高速冷冻离心机(湖南赫西仪器装备有限公司);BS124S型分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司);EL-x800酶标仪(美国BioTek公司);病理彩色图象分析系统(郑州泽铭科技有限公司);XD-202型倒置显微镜(南京江南永新光学有限公司);GLS-77型雅斯血糖测试分析仪(青岛厚美德生物科技有限公司)。

1.3 动物

SPF级ICR小鼠,雄性,体重(20±5)g,由南京市青龙山动物繁殖场提供,合格证号:SCXK(苏)2018-0001。所有动物实验均符合动物伦理委员会标准。

2 方 法

2.1 小鼠模型制备与分组

40 只小鼠适应性喂养 1 周后,随机分为正常组(Normal)和造模组,以基础鼠粮饲养正常组,以高糖高脂鼠粮饲养模型组。饲养 4 周后,模型组禁食 14 h,腹腔注射由柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液(pH 4.35)配制的 1% STZ 35 mg/kg,72 h 后剪尾取血,以血糖仪测定小鼠空腹血糖,高于 11.1 mmol/L 为造模成功^[11-12]。将造模成功的 30 只糖尿病小鼠,随机分成 3 组:模型组(5 mL/kg 0.5% CMC-Na)、艾叶乙醇提取物低剂量组(100 mg/kg)和高剂量组(400 mg/kg),灌胃给药。实验前将艾叶乙醇提取物组的小鼠用硝酸银溶液进行分组标号,实验期间各组小鼠均自由进水。

2.2 生理、血糖及血清学指标的测定

每周记录小鼠进食量及饮水量,每周称量小鼠质量。小鼠禁食不禁水 6 h 后,通过剪尾采血法测定各组小鼠的空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)。每周 1 次,连续 6 周。6 周给药结束后,小鼠禁食 12 h,自由饮水。灌胃给药,然后再用相同的方式给予 2 g/kg 葡萄糖溶液。分别测定给予葡萄糖 0、30、60、90 和 120 min 后小鼠的血糖,计算血糖浓度-时间曲线下面积(AUC)^[13-14]。进行摘除眼球取血,将全血于 1.5 mL 离心管中常温静置 30 min

后,4 ℃,3 000 r/min 离心 15 min,获得血清,-80 ℃冰箱中保存备用。取血后,颈椎脱臼处死小鼠,于冰上快速取肝脏,置于 4% 多聚甲醛中 4 ℃浸泡。全自动生化仪测定血清样品中 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C 的含量。

2.3 统计学处理

采用 GraphPad Prism 7.04 统计软件包进行数据统计。所有数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验考察显著性, $P < 0.05$ 认为具有统计学意义。

3 结 果

3.1 对糖尿病小鼠体重、饮水量和摄食量的影响

与正常组相比,模型组小鼠体重减轻,且从第 2 周起呈急剧下降趋势。艾叶乙醇提取物高低剂量组均可抑制小鼠体重下降,各组小鼠的体重变化见图 1-A。

经过 6 周的灌胃治疗后,正常组的饮水量和摄食量无明显变化,而模型组的饮水量和摄食量显著增加($P < 0.01$),证明糖尿病小鼠模型建立成功。如图 1-B 所示,与模型组小鼠相比,艾叶高剂量组和低剂量组小鼠的饮水量均明显减少($P < 0.01$)。图 1-C 显示,与模型组小鼠相比,艾叶高剂量组和低剂量小鼠的摄食量均明显的减少($P < 0.01$)。结果表明艾叶对糖尿病小鼠的体重及对糖尿病典型的多饮多食症状具有显著的改善作用。

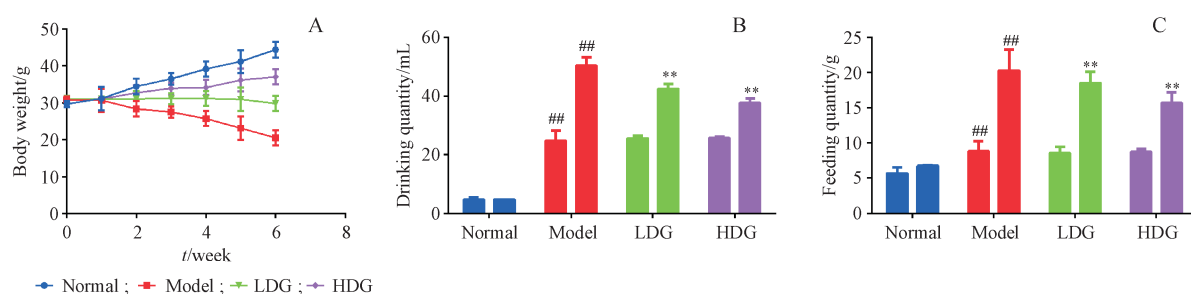


Figure 1 Effect of *Artemisia Argyi* Folium ethanolic extract on body weight (A), drinking quantity (B) and feeding quantity (C) in type 2 diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

LDG: Low-dose group; HDG: High-dose group

$P < 0.01$ vs normal group; ** $P < 0.01$ vs model group

3.2 对糖尿病小鼠空腹血糖(FBG)的影响

FBG 是整体血糖控制的基础,也是降低 DM 慢性并发症风险和切断胰岛 β 细胞功能衰竭这一恶性循环的关键点^[15]。从图 2 可见,正常组小鼠的 FBG 比较稳定。模型组经 STZ 诱导后成功建立

2 型糖尿病模型,其 FBG 与正常组存在显著性差异($P < 0.01$)。从第 3 周开始,高剂量组小鼠的 FBG 值显著降低($P < 0.01$),低剂量组小鼠的 FBG 值从给药第 4 周显著降低($P < 0.01$),差异有统计学意义。

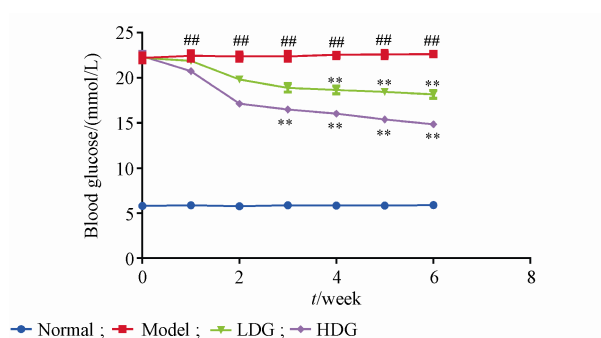


Figure 2 Effect of *Artemisia Argyi* Folium ethanolic extract on fasting blood-glucose (FBG) in type 2 diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

$P < 0.01$ vs normal group; ** $P < 0.01$ vs model group

3.3 对小鼠口服葡萄糖耐量的影响

如图3-A所示,正常组小鼠灌胃葡萄糖后,血糖在30 min时达到最大值,之后逐渐下降,120 min

时恢复到基础水平。与模型组相比,高剂量组小鼠和低剂量组小鼠的血糖值在90和120 min后均明显降低($P < 0.01$)。图3-B显示糖尿病模型组的AUC显著增加($P < 0.01$),灌胃艾叶乙醇提取物可明显改善葡萄糖耐受量($P < 0.01$)。

3.4 各组血清指标比较

模型组与正常组相比,TC、TG和LDL-C的含量水平存在显著差异(均 $P < 0.01$);艾叶乙醇提取物低剂量组能显著降低糖尿病小鼠的TC、TG和LDL-C的含量水平($P < 0.01$)(见图4)。

4 讨论

胰岛素抵抗是2型糖尿病的主要发病机制^[16],高糖高脂饲料可以诱导小鼠的胰岛素抵抗。STZ

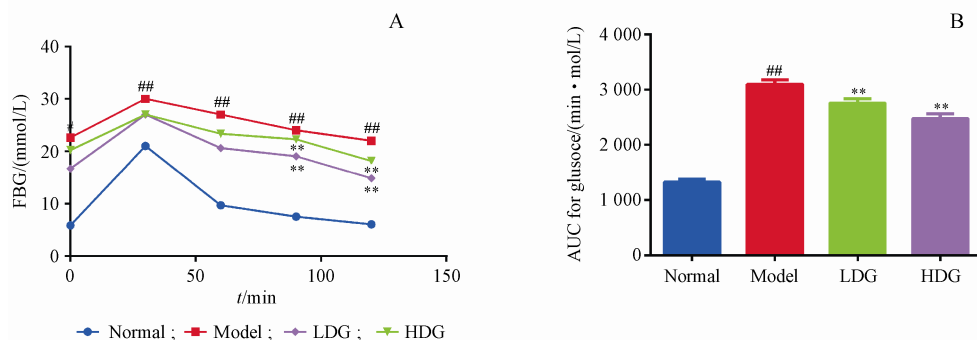


Figure 3 Hypoglycemic effect of *Artemisia Argyi* Folium ethanolic extract on the OGTT in type 2 diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

$P < 0.01$ vs normal group; ** $P < 0.01$ vs model group

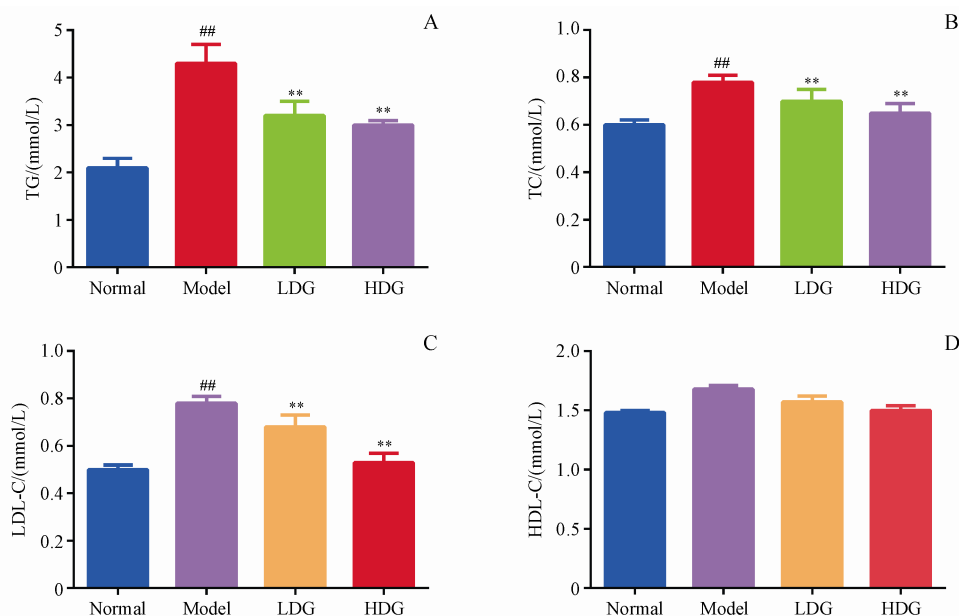


Figure 4 Effect of *Artemisia Argyi* Folium ethanolic extract on the serum index in type 2 diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

TG: Triglyceride; TC: Total cholesterol; LDL-C: Low density lipoprotein cholesterol; HDL-C: High density lipoprotein cholesterol

$P < 0.01$ vs normal group; ** $P < 0.01$ vs model group

是一种氨基葡萄糖-亚硝基脲。小剂量 STZ 腹腔注射可破坏胰岛素的分泌功能^[17-18]。由于雌性类固醇对 STZ 具有保护作用,使成模率降低,因此本实验均使用雄性小鼠造模^[19]。采用高糖高脂饲料辅以小剂量 STZ 诱导小鼠的高血糖模型,该模型以高血糖、多饮、多食和体重减轻为特征。与模型组相比,艾叶乙醇提取物高剂量组和低剂量组均可显著抑制糖尿病小鼠的饮水量和摄食量($P < 0.01$),且对小鼠的体重也有一定改善作用。

空腹血糖是临床最常用的检测指标,可反映胰岛 β 细胞的功能状态。给予高剂量艾叶乙醇提取物(400 mg/kg),小鼠的 FGB 从第 2 周开始显著下降。血糖水平降低提示艾叶乙醇提取物增加了胰腺分泌胰岛素的功能,这可能是由于艾叶乙醇提取物能抑制寡糖分解为单糖,延迟并减少肠腔对葡萄糖的吸收。OGTT 可用于检测机体对葡萄糖代谢的调节能力。若因体内胰岛素分泌功能失调引起糖代谢失常时,摄入一定量的葡萄糖后,血糖浓度可急剧升高,而且短时间内不能恢复到原来的水平^[20]。艾叶乙醇提取物高剂量组和低剂量组小鼠在口服葡萄糖 90 和 120 min 后,血糖水平明显降低($P < 0.01$),因此艾叶乙醇提取物可以提高小鼠的葡萄糖耐受量,促进胰岛素的分泌。

Liu 等^[21]研究表明 T2DM 的异常血糖水平往往伴随着血脂水平的紊乱,与模型组相比,艾叶乙醇提取物可以能够显著降低模型组小鼠血清中 TG、TC 和 LDL-C 的水平,这说明艾叶乙醇提取物可以在调节 T2DM 小鼠脂质代谢紊乱方面发挥作用。

综上所述,艾叶乙醇提取物可减缓甚至消除 T2DM 小鼠典型的多饮、多食和体重减少的症状,而且能够显著降低糖尿病小鼠的空腹血糖水平($P < 0.01$)、提高小鼠的葡萄糖耐受量,降低小鼠的血脂水平($P < 0.01$),这些发现提示艾叶乙醇提取物具有潜在的辅助治疗 2 型糖尿病的效果,但其降血糖机制有待进一步研究。

References

- [1] Zhang BW, Li X, Sun WL, *et al.* Dietary flavonoids and acarbose synergistically inhibit α -glucosidase and lower postprandial blood glucose[J]. *J Agric Food Chem*, 2017, **65**(38): 8319-8330.
- [2] Takeda C, Takeuchi M, Kawasaki Y, *et al.* Prophylactic sivele-
- stat for esophagectomy and in-hospital mortality: a propensity score-matched analysis of claims database[J]. *J Anesth*, 2019, **33**(2): 230-237.
- [3] Li XZ, Xu AJ, Sheng HY, *et al.* Early transition from insulin to sulfonylureas in neonatal diabetes and follow-up: experience from China[J]. *Pediatr Diabetes*, 2018, **19**(2): 251-258.
- [4] Adams AS, Schmittiel JA, Altschuler A, *et al.* Automated symptom and treatment side effect monitoring for improved quality of life among adults with diabetic peripheral neuropathy in primary care: a pragmatic, cluster, randomized, controlled trial[J]. *Diabet Med*, 2019, **36**(1): 52-61.
- [5] Han BS, Xin ZQ, Ma SS, *et al.* Comprehensive characterization and identification of antioxidants in *Folium Artemisiae Argyi* using high-resolution tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2017, **1063**: 84-92.
- [6] Li ZZ, Lv JL, Zhang LB, *et al.* Chemical constituents and pharmacology activities of *Artemisia argyi*: research advances [J]. *J Int Pharm Res* (国际药学研究杂志), 2016, **43**(6): 1059-1066.
- [7] Ge YB, Wang ZG, Xiong Y, *et al.* Anti-inflammatory and blood stasis activities of essential oil extracted from *Artemisia argyi* leaf in animals[J]. *J Nat Med*, 2016, **70**(3): 531-538.
- [8] Lan MB, Zhang YH, Zheng Y, *et al.* Antioxidant and immunomodulatory activities of polysaccharides from moxa (*Artemisia argyi*) leaf [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2010, **19**(6): 1463-1469.
- [9] Lv JL, Li ZZ, Zhang LB. Two new flavonoids from *Artemisia argyi* with their anticoagulation activities [J]. *Nat Prod Res*, 2018, **32**(6): 632-639.
- [10] Xiao JQ, Liu WY, Sun HP, *et al.* Bioactivity-based analysis and chemical characterization of hypoglycemic and antioxidant components from *Artemisia argyi* [J]. *Bioorg Chem*, 2019, **92**: 103268.
- [11] Chen XM, Tan SM, Huang Y, *et al.* Hypoglycemic effect of *Rosa roxburghii*, *Morus alba* and *Momordica charantia* beverage on diabetic mice[J]. *China Brewing* (中国酿造), 2019, **38**(6): 123-127.
- [12] Tian YL, Zhang Y, Halemahebai G, *et al.* Urolithin A activates autophagy to improve liver insulin resistance in diabetic mice[J]. *Chin Tradit Herbal Drugs* (中草药), 2020, **51**(3): 710-716.
- [13] Song X, Wang TT, Yang XD, *et al.* Purification and hypoglycemic effect of *Eriobotrya japonica* leaves extract containing corosolic acid[J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2017, **26**(2): 214-219.
- [14] Chen YH, Zhang J, Ai Zhipeng, *et al.* Effects of *Chrysanthemum indicum* extract on hyperglycemia, hyperlipidemia and aldose reductase in KKAY diabetic mice[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 2016, **30**(11): 1142-

- 1148.
- [15] Xu BQ, Dai YQ, Fu QY, *et al.* Effects of eucommia flavonoids on Nrf2 / HO-1 oxidative stress signaling pathway in diabetic nephropathy mice[J]. *Jilin J Chin Med*(吉林中医药), 2020, **40**(6): 788-791.
- [16] Duan ZF, Chen MD, Wang ZY. *Yishenkang* pills can downregulate fasting blood glucose and insulin in rats with insulin resistance[J]. *J New Chin Med*(新中医), 2017, **49**(12): 1-3.
- [17] Gheibi S, Kashfi K, Ghasemi A. A practical guide for induction of type-2 diabetes in rat: incorporating a high-fat diet and streptozotocin [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2017, **95**: 605-613.
- [18] Ren CJ, Zhang Y, Cui WZ, *et al.* A polysaccharide extract of mulberry leaf ameliorates hepatic glucose metabolism and insulin signaling in rats with type 2 diabetes induced by high fat-diet and streptozotocin[J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, **72**: 951-959.
- [19] Tu J, Liu GH, Cao XT, *et al.* Hypoglycemic effects of wheat bran alkylresorcinols in high-fat/high-sucrose diet and low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetic male mice and protection of pancreatic β cells [J]. *Food Funct*, 2019, **10**(6): 3282-3290.
- [20] Rydén L, Gyberg V, Schnell O, *et al.* Oral glucose tolerance testing and cardiovascular disease[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2016, **4**(9): 732-733.
- [21] Liu L, Tang D, Zhao HQ, *et al.* Hypoglycemic effect of the polyphenols rich extract from *Rose rugosa* Thunb on high fat diet and STZ induced diabetic rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, **200**: 174-181.

·本刊讯·

《中国药科大学学报》入选“2020年度中国高校百佳科技期刊”

2020年12月5-8日,中国高校科技期刊研究会第24次年会在重庆召开。会议期间发布了“2020年度中国高校杰出·百佳·优秀科技期刊”遴选结果,《中国药科大学学报》入选“2020年度中国高校百佳科技期刊”。

此次遴选在全国1000余个会员单位中择优选拔,基于北大核心数据、CSCD数据、科技核心数据、知网学术评价数据、万方扩刊版数据、中信所精品科技期刊和百杰期刊、知网国际影响力数据等第三方客观数据,经过加权计算得到最终遴选结果。

《中国药科大学学报》获此殊荣得益于编辑部一直以来对用稿质量和编辑出版质量的严格把关,也得益于编委会、审稿专家及作者的大力帮助。此次获得的荣誉既是对《中国药科大学学报》期刊质量的表彰和肯定,也对期刊提出了更高的要求。今后编辑部将依托中国药科大学优势学科,不断提高《中国药科大学学报》的创新力、引导力和影响力,更好地服务于中国药科大学“双一流”学科建设。

(本刊编辑部)