

草果脂质抗氧化能力及对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠的作用

胡连霞¹, 解立斌¹, 俞龙泉¹, 陈佳¹, 张文娜¹, 肖霄¹, 韩爱云¹, 李亚楠^{1*}, 张宁^{2*}

(1. 石家庄学院化工学院生物医药学院, 石家庄市食品工程技术创新中心, 河北石家庄 050035)

(2. 河北省畜牧兽医研究所, 河北保定 071000)

摘要: 该文研究了草果脂质的抗氧化能力和对腹腔注射四氧嘧啶 (Alloxan, ALX) (200 mg/kg) 诱导的糖尿病小鼠的作用, 为糖尿病降糖的同时防止器官病变提供支持。通过采用 1,1-二苯基-2-三硝基苯 (DPPH) 和 2,2'-氨基-二(3-乙基-苯并噻唑啉磺酸-6) 铵盐 (ABTS⁺) 自由基的清除率来评价草果脂质的抗氧化能力。以添加 (ALX 草果组) 和未添加 (ALX 模型组) 草果脂质 (500 mg/kg) 的标准饲料喂养糖尿病小鼠 28 d, 测定其体质量、血糖和血脂指标来考察草果脂质对糖尿病小鼠的作用。结果显示, 草果脂质质量浓度为 16 μg/mL 时, 对 ABTS⁺ 和 DPPH 自由基的清除率分别为 97.21% 和 98.13%; ALX 草果组小鼠体质量减轻不显著 ($P>0.05$); 对糖尿病小鼠血糖 0~7 d 有降低的趋势 ($P<0.05$)。28 d 喂养结束时, ALX 草果组的小鼠血脂中高密度脂蛋白 (HDL) 值升高 ($P<0.05$) 显著, 低密度脂蛋白 (LDL) 值下降 ($P<0.05$) 显著。总之, 草果脂质具有良好的抗氧化能力, 有控制糖尿病小鼠体质量减轻、降低血糖和调节血脂, 缓解损伤脏器的病变, 保护肝脏代谢的功能。因此, 草果脂质可作为对糖尿病有降糖和控制其病情恶化作用而进行开发和利用。

关键词: 草果脂质; 四氧嘧啶; 糖尿病小鼠; 抗氧化能力; 血糖; 血脂; 脏器

文章编号: 1673-9078(2025)06-59-66

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.6.0405

Antioxidant Capacity of *Amomum tsao-ko* Lipids and Its Effects on Alloxan-induced Diabetes in Mice

HU Lianxia¹, XIE Libin¹, YU Longquan¹, CHEN Jia¹, ZHANG Wenna¹, XIAO Xiao¹, HAN Aiyun¹, LI Ya'nan^{1*}, ZHANG Ning^{2*}

(1. School of Chemical Engineering, Shijiazhuang Food Engineering Technology Innovation Center, Shijiazhuang University, Shijiazhuang 050035, China) (2. Hebei Provincial Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Baoding 071000, China)

Abstract: The antioxidant capacity of *Amomum tsao-ko* (*A. tsao-ko*) lipids and their effects on diabetes in mice

引文格式:

胡连霞, 解立斌, 俞龙泉, 等. 草果脂质抗氧化能力及对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠的作用 [J]. 现代食品科技, 2025, 41(6): 59-66.

HU Lianxia, XIE Libin, YU Longquan, et al. Antioxidant capacity of *Amomum tsao-ko* lipids and its effects on alloxan-induced diabetes in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(6): 59-66.

收稿日期: 2024-03-29

基金项目: 河北省自然科学基金项目 (C2022106010); 石家庄学院博士科研启动基金项目 (21BS002)

作者简介: 胡连霞 (1972-), 女, 博士, 高级工程师, 研究方向: 功能食品, E-mail: hulianxia168@163.com

通讯作者: 李亚楠 (1985-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品营养与安全, E-mail: liyanan198516@126.com; 共同通讯作者: 张宁 (1976-), 女, 硕士, 研究员, 研究方向: 兽医传染病预防, E-mail: xmszn@126.com

induced by intraperitoneal injection of alloxan (ALX) (200 mg/kg) were investigated to provide support for both blood glucose reduction and organ damage prevention in diabetes. The antioxidant capacity of *A. tsao-ko* lipids was evaluated by measuring the scavenging activity against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ammonium salt (ABTS⁺) free radicals. Diabetic mice were fed a standard diet supplemented with (ALX+*A. tsao-ko* group) and without (ALX model group) *A. tsao-ko* lipids (500 mg/kg) for 28 days, and their body weight, blood glucose levels, and blood lipid parameters were measured. The results showed that *A. tsao-ko* lipids exhibit ABTS+and DPPH scavenging rates of 97.21% and 98.13%, respectively, at a concentration of 16 µg/mL. The weight loss in the ALX+*A. tsao-ko* group was not significant ($P>0.05$), but a decreasing trend in the blood glucose level was observed from 0 d to 7 d ($P<0.05$). The high-density lipoprotein (HDL) content in blood lipids in the ALX+*A. tsao-ko* group increased significantly ($P<0.05$), while the low-density lipoprotein (LDL) content decreased significantly ($P<0.05$) at the end of the feeding period (28 d). In conclusion, *A. tsao-ko* lipids have strong antioxidant activity and can effectively control weight loss in diabetic mice to reduce blood sugar, regulate blood lipids, alleviate organ damage, and support liver metabolism. Therefore, *A. tsao-ko* lipids can be developed and utilized as a hypoglycemic agent for diabetes and to control its deterioration.

Key words: *Amomum tsao-ko* lipids; alloxan; diabetic mice; antioxidant capacity; blood sugar; blood lipids; viscera

糖尿病 (Diabetes Mellitus, DM) 是一种慢性代谢疾病, 严重时会引起病人的慢性血管和神经并发症, 致残或者死亡^[1]。糖尿病的发病率近年来呈显著上升的趋势, 将成为 21 世纪全球性重大卫生问题, 世界糖尿病成年人的总数, 到 2025 年将达到 3 亿^[2], 到 2030 年将达 6.43 亿, 到 2045 年将达 7.83 亿^[3]。其中我国潜在的糖尿病患者包括糖代谢异常和葡萄糖耐量降低人群占比相当大^[4]。糖尿病危害不是疾病本身, 而是其引起的各种急性和慢性并发症, 由于产生胰岛素最主要的 β 细胞很容易受活性氧伤害, β 细胞对活性氧的抵御能力低下与糖尿病的发病及并发症的出现相关^[5]。因此, 从天然资源中去筛选和研究具有抗氧化能力的降糖成分, 进行糖尿病的防治和保健, 已成为国内外医药工作者关注的重点^[6]。

草果 (*Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire, *Amomum tsao-ko*, *A. tsao-ko*) 又名草果子, 姜科豆蔻属植物, 为药食同源香辛料, 具有燥湿健脾、温胃止痛、止呕截疟的功能^[7]。近年来, 国内学者草果化学成分的研究得到了一系列的新化合物^[8], 柳航等^[9]首次从草果中分离得对羟基苯丙酸、1-*O*- β -D-吡喃葡萄糖-2-羟基-4-烯丙基苯等 6 种化合物。金新宇等^[10]首次从草果中分离得到异嗪皮啶、反式肉桂酸、汉黄芩素等 11 个化合物。尚明越等^[11]初步确定中药材草果中 1,8-桉油精、柠檬醛、2-癸烯醛、香叶醛、原儿茶酸和香草酸等为其可能的质量标志物, 具有调节胃肠功能、抗菌、抗炎、抗氧化、抗肿瘤、降糖和调脂等药理作用。Yu 等^[12]对草果、八角、

小茴香等 12 种香辛料进行生理调节功效的研究发现, 草果的降脂减肥作用优于大蒜和姜黄, 并且证明草果甲醇溶出物富含能够降低甘油三酯、体内氧化产物浓度和血糖浓度的脂溶性物质。

近年来对于脂类物质的研究分析方面, 有薄层色谱^[13] (Thin Layer Chromatography, TLC)、气相色谱法 (Gas Chromatography, GC)^[14]和高效液相色谱 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) 法及联用^[15]等分析方法。反相高效液相色谱法 (Reversed-phase High Performance Liquid Chromatography, RP-HPLC)^[16]用于对脂类物质的分离, 已经被学者广泛采纳并逐步取代了 TLC, 其分离选择性高, 能够同时分离纯化多种组分。本研究采用 RP-HPLC 分离为脂质的草果甲醇浸提物为研究对象, 用四氧嘧啶 (Alloxan, ALX) 诱导建立糖尿病小鼠模型^[17], 测定草果脂质对小鼠体质量、血糖、血脂、DPPH 和 ABTS⁺ 自由基的清除率等指标来考察草果脂质的体内降糖功能和体外抗氧化能力, 以期揭示草果脂质对糖尿病的作用机理。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 主要材料

草果脂质, 本实验室提取; (Institute of Cancer Research, ICR) 小鼠 (SPF 级, 雄性, 笼养, 体质量 22~26 g), 北京维通利华实验动物技术有限公

司[小鼠的许可证号: SCXK(京)2016-0006], 石家庄学院伦理委员会审查并批准动物实验伦理号: SJZXY 20200501; 标准饲料(由淀粉(47.82%), 干酪素(20%), 蔗糖(15%), 猪油(6%), 纤维素(5%), 矿物质(4%), 维生素(2%), L-甲硫氨酸(0.23%)构成), 北京华阜康生物科技有限公司。

1.1.2 主要试剂

ALX, 美国 Sigma 公司; 无水甲醇、氯仿、丙酮(均为分析纯), 天津市恒兴化学试剂制造有限公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯自由基(DPPH)和 2,2'-氨基-二(3-乙基-苯并噻唑啉磺酸-6)铵盐自由基(ABTS⁺), 上海源叶生物科技有限公司; 乙腈为色谱纯, 天津市河东区红岩试剂厂。

1.1.3 主要设备

One Touch Ultra TM 快速血糖测定仪, 强生(中国)医疗器材有限公司; LC-15C 高效液相色谱仪(Wondasil C18 色谱柱, 手动进样针), 美国 Waters 公司; 7080 型全自动生化分析仪, 日立公司; DZF-6050 真空干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; Shimadzu UVprobe-1800 紫外检测器, 日本岛津株式会社; “飞达”玻璃砂芯过滤器, 江苏省建湖县飞达玻璃仪器厂; RE-52AA 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; 0.22 μm 微孔滤膜, 上海市新亚净化器件厂; Scientz-IIIDM 微波光波超声波萃取仪, 宁波新芝生物科技股份有限公司; 200~300 目硅胶层析柱, 河北省石家庄旭瑞化工有限公司; SB-5200 DTD 超声波清洗机, 新芝生物科技股份有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 草果甲醇溶出物提取纯化

草果购自云南昆明药材市场, 去壳, 经粉碎 1 min, 过 100 目筛的草果粉 50 g, 用无水甲醇, 蒸馏水和氯仿比例为 20:2:1, 回流萃取时间 60 min, 进行柱层析分离, 收集无水甲醇洗脱液 300~550 mL。洗脱液用 900 倍体积无水甲醇, 1.1 倍体积盐析氯化钠溶液(1%), 二次吸附 50 min。经层析柱分离, 收集的后半部分和最后抽出的甲醇提取液^[18]。草果甲醇提取液先超声使有效成分完全溶解, 然后经过布氏漏斗抽滤, 滤去不溶物如杂质和硅胶。然后经旋蒸仪在低温大约 25 °C 下蒸去甲醇, 待烧瓶中液体成粘稠状时放入真空干燥箱中, 温度设置为 30 °C, 抽真空。浓缩干燥得到结晶性粉末, 进行体外抗氧化能力的测定和研究对 ALX 诱导糖尿病小鼠的作用。

用色谱纯甲醇溶解固体样品, 旋转混合, 超声使样品完全溶解, 经 0.22 μm 微孔滤膜抽滤再经脱气 15 min, 用于液相分析。使用 Shimadzu UVprobe-1800 紫外检测器, 以甲醇为空白试剂, 甲醇溶出液为待测试剂, 以洗脱液(氯仿:丙酮:甲醇)比例为 1:1:1, 进行光谱扫描^[16]。色谱条件为: 25% 乙腈(5 min)→50% 乙腈(8 min)→65% 乙腈(5 min)→95% 乙腈(18~45 min) 流量 1.0 mL/min, SPD 检测器的检测波长 $\lambda=309$ nm; 柱温: 室温; 进样体积: 20 μL。

1.2.2 体外抗氧化能力的测定

草果脂质的体外抗氧化能力采用 DPPH· 和 ABTS⁺ 清除率来进行评价。

DPPH 自由基清除法^[19], 配制 0.08 mg/mL 的 DPPH 自由基工作液, 称取 0.02 g 固体 DPPH, 用无水乙醇溶解定容至 250 mL, 保存于冰箱中待用。

分别称取 0.02 g 草果脂质/芦丁标准品, 分别用无水乙醇溶解定容到 100 mL, 配制 0.20 mg/mL 的草果脂质/芦丁标准品母液, 各取 40 mL 储备液, 分别用无水乙醇定容至 100 mL, 配制成 0.08 mg/mL 的工作液, 分别吸取草果脂质/芦丁标准品工作液 2、4、6、8 和 10 mL 到容量瓶中, 用无水乙醇定容 10 mL, 得到 A 组草果脂质/芦丁标准品不同质量浓度的溶液为 16、32、48、64 和 80 μg/mL。分别从 A 组不同质量浓度的草果脂质/芦丁标准品溶液中吸取 5 mL 到另外一组 10 mL 容量瓶中成 B 组质量浓度为 8、16、24、32 和 40 μg/mL。A 组中的 5 个容量瓶分别加入 DPPH 工作液 5 mL, 静置 30 min 后, 在 517 nm 波长处测定吸光度 A_i ; B 组中的 5 个容量瓶都分别加入 5 mL 无水乙醇, 测定吸光度 A_s ; 最后测 5 mL DPPH 工作液加 5 mL 无水乙醇的吸光度 A_c , 用三次平行试验的平均值绘制草果/芦丁标准品对 DPPH 自由基的清除率曲线。

ABTS⁺ 自由基清除法: 配制 38 mg/mL 的 K₂S₂O₈ 溶液, 称取 0.38 g 过二硫酸钾(K₂S₂O₈), 用超纯水溶解, 定容至 10 mL^[20]。

称取 0.10 g ABTS⁺, 加入无水乙醇进行溶解, 溶解之后与 0.44 mL K₂S₂O₈ 溶液, 混合均匀, 定容为 25 mL, 30 °C 水浴加热、避光, 放置 16 h, 即为质量浓度 4 mg/mL 的 ABTS⁺ 储备液。用无水乙醇稀释成吸光度为 0.70±0.02 时的 ABTS⁺ 工作液(30 °C, 754 nm), 避光保存。

称取 0.01 g 草果脂质(芦丁标准品), 配制成

质量浓度为 0.20 mg/mL 的储备液，分别取此储备液 2、4、6、8 和 10 mL 定容至 10 mL，得到不同质量浓度的草果脂质 / 芦丁标准品溶液。分别吸取 40、80、120、160 和 200 $\mu\text{g/mL}$ 草果脂质 / 芦丁标准品溶液各 1 mL，分别加入 5 mL ABTS^+ 工作液，摇均，30 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 6 min，分别测定其吸光度值 A_i ；分别吸取质量浓度为 4、8、12、16 和 20 $\mu\text{g/mL}$ 的草果脂质 / 芦丁标准品溶液各 1 mL，分别加入 5 mL 无水乙醇，摇均，分别测定其吸光度值 A_s ；取 ABTS^+ 工作液 5 mL，加进无水乙醇 2 mL，混合均匀，测定其吸光度 A_c 。用三次试验的平均值进行草果 / 芦丁标准品对 ABTS^+ 自由基清除率曲线的绘制。

清除率公式为：

$$B = \frac{A_c - (A_i - A_s)}{A_c} \times 100\%$$

(1)

式中：

B ——清除率（CL），%；

A_c ——无水乙醇 + DPPH 或 ABTS^+ 标准液吸光度；

A_i ——乙醇草果脂质 / 芦丁标准液 + DPPH 或 ABTS^+ 溶液吸光度；

A_s ——草果脂质 / 芦丁标准品乙醇溶液的吸光度。

在 17.0 SPSS 中 ABTS^+ 和 DPPH 分别建立浓度，清除率和总数三个变量。总数采用 100，浓度和清除率按照草果脂质抗氧化能力中的浓度对应的清除率分别输入，分别计算 IC_{50} 值，在置信限制中找到概率 0.50 的估计浓度即为 IC_{50} 。

1.2.3 ALX诱导糖尿病小鼠模型的建立

在河北省中西医结合医药研究院新药评价中心饲养实验用小白鼠，其生活环境温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度为 55%，光照 12 h/d。小白鼠禁食 20 h，自由饮水。用 0.85% 生理盐水将四氧嘧啶配成 20 mg/mL 的溶液，每只小鼠按 0.10 mL/10 g 的体积分别腹腔注射，四氧嘧啶剂量为 200 mg/kg。注射 72 h 后空腹测血糖，尾静脉采血，空腹血糖值（Fasting Blood Glucose, FPG）> 大于 11.12 mmol/L 者，并出现多饮、多食、多尿者，纳入高血糖模型^[17]。

1.2.4 试验小白鼠分组处理

随机抽取正常小鼠 20 只分为 2 组：空白对照组和草果对照组，高血糖小鼠 20 只按血糖值均衡原则随机分为 2 组：ALX 模型组和 ALX 草果组各 10 只，其中每组中各有 3 只小鼠造模过度。如表 1 所示，空白对照组与 ALX 模型组：以标准饲料喂养；草果对照组和 ALX 草果组：草果脂质添加饲料喂养。试验期间注意

观察和记录小鼠活动、反应、进食、饮水、排尿等基本情况并记录。测定试验前后小鼠体质量变化并记录。

表 1 试验小鼠分组情况

Table 1 Grouping of experimental mice

组别	小鼠数量/只	喂养饲料	小鼠模型
空白对照组	10	标准饲料	正常
草果对照组	10	草果脂质添加饲料	正常
ALX 模型组	10	标准饲料	ALX
ALX 草果组	10	草果脂质添加饲料	ALX

1.2.5 动物体内指标测定

小白鼠禁食不禁水 12 h，分别采取尾静脉采血，采用 One Touch Ultra TM 快速血糖测定仪测定各组小鼠血糖值。摘眼球取血，置 EP 管中室温放置至上层有血清析出，4 $^{\circ}\text{C}$ ，离心 10 min（3 000 r/min），取上清液采用全自动生化分析仪测定血脂中高密度脂蛋白（High Density Lipoprotein, HDL），低密度脂蛋白（Low Density Lipoprotein, LDL），甘油三酯（Triglyceride, TG）和总胆固醇（Cholesterol, CHO）4 项指标值。

1.3 数据处理

采用 17.0 SPSS 对测定数值进行单因素方差分析，用平均值 $\pm$ 标准偏差（ $\bar{X} \pm s$ ），来表示各组之间差异水平，以 $P < 0.05$ 为有统计学意义，采用 Origin 2019b 作柱状图并分析其显著性。

2 结果与讨论

2.1 草果甲醇溶出物的RP-HPLC分析结果

草果甲醇溶出物经 RP-HPLC 梯度洗脱分析，在 45 min 内得到了较好的分离。此 HPLC 法的分离选择性很高，能够同时分离纯化多种组分，从图 1 色谱图中可以看出，其基线趋于平稳，峰值虽小，但分离度很高。色谱峰 1 之前的最大吸收峰为溶剂峰，溶剂峰前边为极性较强物质的色谱峰。而在溶剂峰之后分别于 9.80、14.90、22.18、23.90、28.20 和 30.08 min 时呈现的 6 个（1、2、3、4、5、6）极性较弱的色谱峰，为脂类物质的有效分离色谱峰，Xie 等^[21]采用 HPLC-MS/MS 分析草果甲醇溶出物，证明有 21 种黄酮类化合物，3 种酚类化合物等脂类物质。

Nallathambi 等^[22]对豌豆中脂类物质的分离及反相高效液相色谱分析，采用乙腈和水的混合溶剂系统进行梯度洗脱，波长为 205 nm，分离效果很好。本研究中采用紫外检测器^[23]，检测波长为 309 nm，系统稳定时间短（< 50 min），解决了低紫外测定对

流动相的要求。建立的苹果脂质 RP-HPLC 梯度洗脱分析方法,对所提取的脂类物质在 45 min 内得到了较好的分离。

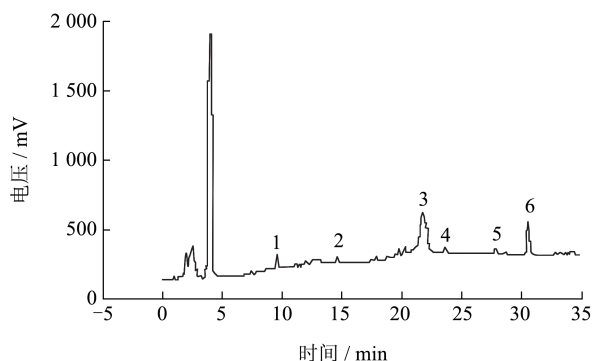


图 1 甲醇溶出物的反相高效液相色谱分离图谱

Fig.1 Separation of methanol extract by RP-HPLC

2.2 苹果脂质的体外抗氧化能力测定结果

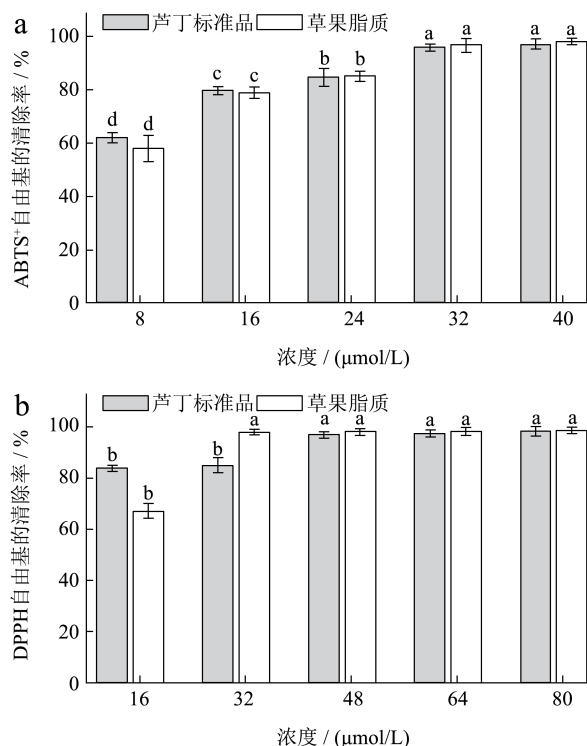


图 2 苹果脂质和芦丁标准品抗氧化能力的比较

Fig.2 Comparison of antioxidant capacity between A.tsao-ko lipid and rutin standard substance ($n=7$)

注: 不同的小写字母表示具有显著性差异, 而且差异显著性大小按 $a < b < c < d$ 顺序排列, 两不同小写字母中间隔的字母越多, 差异显著性越大, $P < 0.05$; 相同小写字母表示无显著性差异, $P > 0.05$ 。下同。

在 ABTS⁺ (图 2a) 和 DPPH (图 2b) 自由基清除实验中, 如图 2 所示, 当苹果脂质的质量浓度为 16 μg/mL 时, 对 ABTS⁺ 和 DPPH 自由基的清除率分别是 97.21% 和 98.13%, 并随着质量浓度的

增加趋向于平稳, 不显著 ($P > 0.05$), 芦丁标准品质量浓度分别为 16 μg/mL 和 24 μg/mL 对 ABTS⁺ 和 DPPH 自由基的清除率为 96.33% 和 97.11%。

李亚等^[24]证实采用己烷提取的江西金溪栀子油的 DPPH 自由基清除能力最强, 田美玲等^[25]研究玫瑰茄花青素纯化物质质量浓度为 230 μg/mL 时, 对 DPPH 自由基清除率达 90%; 而本研究中苹果脂质苹果经甲醇溶出脂质具有良好的抗氧化能力, ABTS⁺ 的 IC_{50} 为 7.14, DPPH 的 IC_{50} 为 12.08, 只用田美玲等^[25]1/15 的浓度, 就达同等程度的 DPPH 自由基清除率。

2.3 苹果脂质对糖尿病小鼠体质量的影响

在实验初期各组小鼠体质量在 22.00~26.00 g 之间, 从表 2 的数据可以看出, 经过 28 d 喂养, 正常小鼠 (两对照组的小鼠) 体质量增加, 平均体质量超过 26 g, 糖尿病小鼠 (ALX 模型组和 ALX 苹果组) 体质量均减少, 平均体质量小于 22 g; ALX 模型组小鼠体质量由喂养前 23.04 g 减轻至 19.25 g, 减轻显著 ($P < 0.05$), ALX 苹果组小鼠体质量由喂养前 22.58 g 减轻至 20.89 g, 减轻不显著 ($P > 0.05$), 表明苹果脂质有抑制糖尿病小鼠体质量减轻的作用。

在饲养实验中, 糖尿病小鼠均表现出多食、多饮、多尿但是体质量却减轻, 即“三多一少”的糖尿病典型症状^[26]。在实验期间, 正常对照组小鼠饮水量小于 100 mL, 而糖尿病组小鼠饮水量 300~500 mL 明显高于正常小鼠, 表现出多饮现象。从实验始末各组小鼠体质量变化情况看, 饲喂添加苹果脂质饲料的苹果对照组体质量由 23.95 g 增长至 31.78 g, 平均增长 7.83 g; 饲喂未添加苹果脂质饲料的空白对照组体质量由 26.09 g 增长至 36.09 g, 平均增长 10.00 g, 苹果脂质有控制正常小鼠体质量增长的作用, Yu 等^[12]证明苹果的减肥作用优于大蒜和姜黄。本次实验发现苹果脂质有抑制糖尿病小鼠体质量减轻的作用, 与丁皓玥等^[27]研究的芝麻粕发酵提取物能有效抑制糖尿病引起的小鼠消瘦症状相一致。

2.4 苹果脂质对糖尿病小鼠血糖的影响

从表 3 的数据可以看出, 实验末 (28 d), 对照组正常小鼠的血糖值均下降, 但是不显著 ($P > 0.05$), 而糖尿病组小鼠的血糖值也均下降, 而且下降显著 ($P < 0.05$), ALX 模型组小鼠血糖下降 18.93 mmol/L, ALX 苹果组小鼠血糖下降 10.23 mmol/L, ALX 模型组比 ALX 苹果组小鼠的血糖值下降多, 说明可能是由于造模过度, 引起对脏器损伤, 失去对血糖的调控作用。

表 2 各组小鼠实验始末体质量的比较

Table 2 Comparison of body weight of mice in each group at the beginning and end of the experiment				
组别	实验初体质量/g	实验末体质量/g	实验前后体质量变化量/g	实验前后体质量变化率/%
空白对照组	26.09 ± 0.74 ^a	36.09 ± 0.70 ^a	10.00 ± 1.23 ^a	38.45 ± 5.66 ^a
苹果对照组	23.95 ± 1.01 ^b	31.78 ± 1.05 ^b	7.83 ± 1.69 ^b	32.95 ± 8.21 ^a
ALX 模型组	23.04 ± 0.85 ^{bc}	19.25 ± 0.93 ^d	-3.79 ± 1.67 ^d	-16.26 ± 6.61 ^c
ALX 苹果组	22.58 ± 0.99 ^c	20.89 ± 1.11 ^c	-1.69 ± 1.44 ^c	-7.35 ± 6.17 ^b

注：n=7，不同的小写字母表示具有显著性差异，而且差异显著性大小按 a < b < c < d 顺序排列，两不同小写字母中间隔的字母越多，差异显著性越大，P<0.05；相同小写字母表示无显著性差异，bc 表示在 ALX 模型组和苹果对照组比较显著性为 b，在 ALX 模型组和 ALX 苹果组比较显著性为 c，即 ALX 模型组与苹果对照组或 ALX 苹果组在实验初体质量时均无显著性差异，P>0.05。

表 3 各组小鼠实验始末血糖值的比较 (mmol/L)
Table 3 Comparison of blood glucose of mice in each group at the beginning and end of the experiment

组别	实验初血糖值	实验末血糖值
空白对照组	7.59 ± 0.16 ^d	6.98 ± 0.86 ^d
苹果对照组	7.25 ± 0.21 ^c	6.62 ± 0.13 ^c
ALX 模型组	30.37 ± 0.79 ^a	11.44 ± 0.61 ^d
ALX 苹果组	28.84 ± 1.69 ^a	18.61 ± 0.64 ^d

注：n=3，不同的小写字母表示具有显著性差异，而且差异显著性大小按 a < b < c < d 顺序排列，两不同小写字母中间隔的字母越多，差异显著性越大，P<0.05；相同小写字母表示无显著性差异，P>0.05。

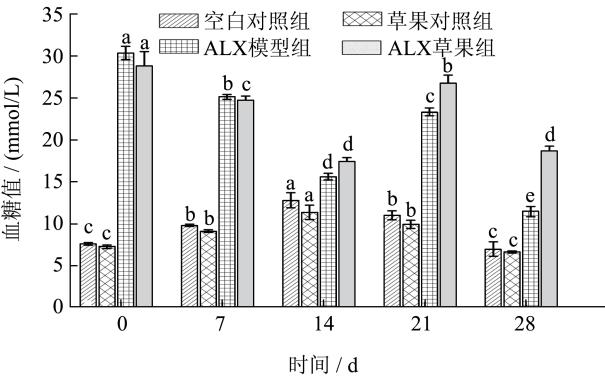


图 3 各组小鼠血糖的变化

Fig.3 Changes of blood glucose in mice of each group (n=3)

从图 3 可以看到，在 28 d 喂养中，ALX 苹果组血糖在 0~14 d 有降低的趋势而且比 ALX 模型组血糖下降快，说明苹果脂质对糖尿病小鼠血糖有降低的作用。而在 14~28 d，ALX 模型组比 ALX 苹果组血糖值还低，可能是由于造模过度，引起对脏器的不可逆损伤，导致糖尿病小鼠体内糖代谢紊乱严重。

该研究在选择用 ALX 作为造模制剂时^[17]，小鼠在禁食 16 h 后，按 200 mg/kg 剂量腹腔注射 ALX 的

生理盐水液，造模成功率小于 50%。为了提高造模成功率，将禁食时间延长到 20 h，仍按 200 mg/kg 剂量腹腔注射 ALX 的生理盐水液，从结果中可看到，尽管 72 h 后空腹血糖值小于 11.12 mmol/L 的小鼠只占实验用鼠的 3.74%，但血糖值大于 27.83 mmol/L 的小鼠占 85.21%，空腹血糖值过高。实验结束后解剖小鼠，正常小鼠肝脏大小正常、颜色红润，质韧而且有弹性，肝缘锐利，分叶清晰；而 ALX 糖尿病组小鼠多数肝体萎缩，甚至呈球形，颜色暗红，无油腻感，质地脆，易破裂，小叶融合，无明显分叶，对小鼠脏器造成了不可逆转的损伤；ALX 苹果组小鼠肝体变形，内脏粘连，肝脏色泽暗红，质地发脆，肝缘变钝，无明显分叶，在一定程度上有所减轻。

从实验始末小鼠血糖浓度比较中，苹果脂质对 ALX 苹果组血糖 0~14 d 有降低的趋势，而在实验 14~28 d 期间 ALX 苹果组血糖值降低少，血糖波动幅度较小。分析原因可能是 ALX 模型建立的参数不当，导致实验中四氧嘧啶糖尿病小鼠模型不稳定；造模过度引起对脏器，尤其是肝脏的不可逆损伤，导致糖尿病小鼠体内糖代谢紊乱严重。Yu 等^[12]研究发现，苹果拥有很强的降血糖和抗氧化功效。但是本实验后期 ALX 苹果组血糖值并未如预期的低于 ALX 模型组。究其原因可能是肝脏的不可逆损伤，导致糖尿病小鼠体内糖代谢紊乱严重，当肝严重损伤时，空腹往往易出现低血糖现象，其耐糖能力亦可下降^[28]。本实验结果可能是苹果脂质能减缓糖尿病小鼠的器官受损，修复器官，尤其是肝脏的原有功能^[29]。

2.5 苹果脂质对糖尿病小鼠血脂指标的影响

28 d 喂养的四组小鼠血脂指标 (CHO、TG、HDL、LDL) 如图 4 所示，可以看出 ALX 模型组

糖尿病小鼠血清中 TG 含量 (0.68 mmol/L) 显著高于对照组正常小鼠含量 (0.43 mmol/L) ($P < 0.05$), 其 HDL 含量 (3.02 mmol/L) 显著低于对照组正常小鼠含量 (3.27 mmol/L) ($P < 0.05$), 其血清中 LDL 含量 (1.15 mmol/L) 显著 ($P < 0.05$) 高于空白对照组小鼠的含量 (0.95 mmol/L), 表明 ALX 模型组糖尿病小鼠血脂指标异常, 造模成功, 属于 II 型糖尿病。ALX 草果组小鼠的 TG 含量 (0.53 mmol/L) 与草果对照组小鼠的 TG 含量 (0.52 mmol/L) 无明显区别 ($P > 0.05$), 又显著高于空白对照组小鼠的 TG 含量 (0.43 mmol/L) 而且显著低于 ALX 模型组小鼠含量 (0.68 mmol/L) ($P < 0.05$), 其 HDL 含量 (3.69 mmol/L) 显著高于 ALX 模型组小鼠含量 (3.02 mmol/L) ($P < 0.05$), 其 LDL 含量 (0.64 mmol/L) 显著低于 ALX 模型组小鼠含量 (1.15 mmol/L) ($P < 0.05$), 表明草果脂质对 II 型糖尿病小鼠血脂有一定的调节作用。

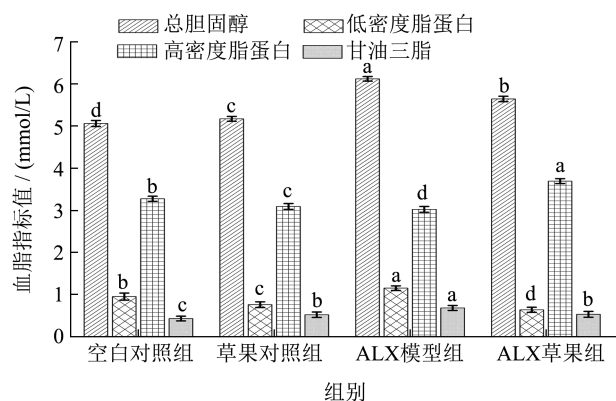


图 4 各组小鼠血脂指标的比较

Fig.4 Comparison of blood lipid indexes of mice in each group ($n=7$)

糖尿病的病程进展特点之一就是脂代谢发生异常^[26]。高 TG 血症是 I 型糖尿病患者的血脂异常的主要表现; TG 水平升高, HDL 水平下降, LDL 水平升高及餐后高脂血症, 是 II 型糖尿病最常见的脂代谢紊乱的表现^[30]。从本次实验结果中的血脂指标可以看到, ALX 草果组小鼠血脂指标 HDL 含量明显高于 ($P < 0.05$) ALX 模型组, 其指标 LDL 明显低于 ($P < 0.05$) ALX 模型组, 表明草果脂质对 II 型糖尿病小鼠的血脂有一定的调节作用。ALX 草果组小鼠的 TG 与草果对照组小鼠的 TG 含量无明显区别 ($P > 0.05$), 但又显著低于 ALX 模型组小鼠的 TG 含量 ($P < 0.05$), 表明草果脂质对正常小鼠的 TG 含量没有降低, 反而有升高的作用^[31]。

3 结论

总之, 本研究发现高浓度草果脂质具有良好的抗氧化能力, 有抑制糖尿病小鼠体重减轻、降低血糖和调节血脂, 缓解损伤脏器的病变, 保护肝脏代谢的功能, 为控制糖尿病患者的病情恶化带来帮助。

参考文献

- [1] TURISTA D D R, LATHIFAH Q A, ANAORI A N M, et al. *In vivo* antidiabetic properties of etlingera elatior leaf extract in alloxan-induced diabetic rats [J]. Research Journal of Pharmacy and Technology, 2022, 15(9): 3879-3886.
- [2] LI Y Z, GUO C X, CAO Y L. Secular incidence trends and effect of population aging on mortality due to type 1 and type 2 diabetes mellitus in China from 1990 to 2019: findings from the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. BMJ Open Diabetes Res Care, 2021, 9(2): e002529.
- [3] SAEEDI P, PETERSON I, SALPEA P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition [J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2019, 157: 107843.
- [4] 黄恺,段宇辰.胰高血糖素样肽-1受体激动剂防治成人2型糖尿病合并动脉粥样硬化性心血管疾病的中国专家共识[J].临床心血管病杂志,2023,39(9):651-660.
- [5] MA X J, MA J R, LENG T, et al. Advances in oxidative stress in pathogenesis of diabetic kidney disease and efficacy of TCM intervention [J]. Renal Failure, 2023, 45(1): 2146512.
- [6] NASCIMENTO G O, MARQUES S P D, MAIA C E G, et al. Hypoglycemic effect of coffea arabica leaf extracts and major bioactive constituents [J]. Journal of Biomolecular Structure & Dynamics, 2023, 16: 1-16.
- [7] 梁淼,张祉敏,吴雅健,等.辛香料草果的研究及精油应用进展[J].食品工业科技,2023,44(2):427-435.
- [8] 雷智冬,黄锁义.草果提取方法、生物活性与临床应用研究新进展[J].中华中医药学刊,2021,39(1):245-249.
- [9] 柳航,王敏,许耶,等.草果化学成分的研究 [J]. 中成药, 2020,42(10):2648-2651.
- [10] 金新宇,王晓霞,柳航,等.草果化学成分的研究[J].中成药, 2022,44(8):2539-2542.
- [11] 尚明越,王嘉乐,代国娜,等.草果化学成分、药理作用、临床应用研究进展及质量标志物预测分析 [J]. 中草药, 2022,53(10):3251-3268.
- [12] YU L Q, SHIRAI N, SUZUKI H. Effects of some Chinese

- spices on body weights, plasma lipids, lipid peroxides, and glucose, and liver lipids in mice [J]. Food Science Technology Research, 2007, 13(2): 155-161.
- [13] ILI A, LUKA S R D, POPOVI T B, et al. Distinct fatty acid redistribution and textural changes in the brain tissue upon the static magnetic field exposure [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2022, 92: 103853.
- [14] GRYGIER A, CHAKRADHARI S, RATUSZ K, et al. Evaluation of selected medicinal, timber and ornamental legume species' seed oils as sources of bioactive lipophilic compounds [J]. Molecules, 2023, 28(10): 3994.
- [15] ZHANG C, LI N, WANG Z, et al. Unsaturated fatty-acid based HPLC fingerprints in combination with quantitative analysis of multi-components by single-marker for the classification of *Rana chensinensis* ovum [J]. New Journal of Chemistry, 2022, 46: 10441-10450.
- [16] VISHAL S C, ROSHAN M B, UPADHYAULA S M, et al. Analytical method development and validation of reverse-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) method for simultaneous quantifications of quercetin and piperine in dual-drug loaded nanostructured lipid carriers [J]. Biomedical and Clinical Analysis, 2020, 186: 113325.
- [17] GARDEZI S N H, AKHTAR M T, QADIR R, et al. Biological and hypoglycemic effects of a polyherbal extract on alloxanized diabetic rats [J]. ACS Omega, 2022, 7(51): 47755-47763.
- [18] 解立斌,陈佳,剧慧栋,等.草果甲醇溶出物抑制 α -葡萄糖苷酶活性及调节血糖作用[J].食品工业科技,2022,43(8): 382-388.
- [19] ISILDAK O, YILDIZ I, GENC N. A new potentiometric PVC membrane sensor for the determination of DPPH radical scavenging activity of plant extracts [J]. Food Chemistry, 2022, 373(30): 131420.
- [20] ISLAM T, YAO F, KANG W, et al. A systematic study on mycochemical profiles, antioxidant, and anti-inflammatory activities of 30 varieties of Jew's ear (*Auricularia auricula-judae*) [J]. Food Science and Human Wellness, 2022, 11(4): 781-794.
- [21] XIE L B, YU D, LI Y N, et al. Characterization, hypoglycemic activity, and antioxidant activity of methanol extracts from *Amomum tsao-ko*: *in vitro* and *in vivo* studies [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 869749.
- [22] NALLATHAMBI G, SEKAR V, SURENDRA K M. Method development and validation of quantitative estimation of vilazodone hydrochloride by UV and RP-HPLC [J]. International Journal of Pharm Tech Research, 2020, 13(4): 362-373.
- [23] MKAWISH. Rapid Analytical Method Development and validation of RP-HPLC method for the simultaneous estimation of exemestane and genistein with specific application in lipid-based nanoformulations [J]. ACS Omega, 2023, 8(28): 25101-25113.
- [24] 李亚,罗兰,田云才,等.不同产地栀子油的脂肪酸分析及其抗氧化活性研究[J/OL].中国油脂:1-11[2024-04-15].
- [25] 田美玲,陈沁雯,刘斌雄,等.玫瑰茄花青素纯化、鉴定及抗氧化活性评价[J].现代食品科技,2024,40(7):155-165.
- [26] WANG R, YANG X, JIANG Q, et al. Effect of mussel polysaccharide on glucolipid metabolism and intestinal flora in type 2 diabetic mice [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2023, 103(7): 3353-3366.
- [27] 丁皓玥,胡迎芬,马爱国.芝麻粕发酵提取物对糖尿病小鼠糖脂代谢的改善作用研究[C]//中国营养学会,中国学生营养与健康促进会.第七届海峡两岸暨港澳营养科学大会摘要集.2022:2.
- [28] NURJANNAH M, ASTHININGSIH N W W. The experience of type II diabetes mellitus patients with early symptoms of hypoglycemia: A Phenomenological Study [J]. Jurnal Keperawatan Soedirman, 2023, 18(1): 37-42.
- [29] 孙铭雨,赵文静,辛婧,等.2型糖尿病BTBR ob/ob小鼠肝损伤的脂质代谢组学变化[J].安徽医科大学学报,2024, 59(1):77-85.
- [30] 田琪,李肖飞,冯晔,等.脂质组学技术在疾病诊断中的研究进展[J].中医药导报,2019,25(21):83-86.
- [31] 张玉香,王一强,王祖华,等.夏枯草提取物对高脂血症模型大鼠脂质代谢的影响[J].甘肃中医药大学学报,2023, 40(3):12-14.