

Study on the Safety and Functional Effect of Compound Hypoglycemic Granules

Zhenping Zhu Shu'e Wang

School of Public Health, Shandong University, Health Analysis and Testing Center of Shandong University, Jinan, Shandong, 250014, China

Abstract

Objective: To study the safety of compound hypoglycemic granules and its effect on blood glucose in hyperglycemic mice. **Methods:** Horne's method was used for acute toxicity test to record poisoning and death; 30-day feeding test was used to examine the subacute toxicity of the samples; tetraoxypyrimidine was used to establish hyperglycemic model mice, and the effect of samples on fasting blood glucose in hyperglycemic mice was investigated. **Results:** In the acute toxicity test, the product was non-toxic; in the 30 day feeding test, there was no significant effect on the animal weight, weight gain and organ weight; the hematological and biochemical indexes were all within the normal value of the laboratory; no histopathological changes related to the test samples were observed; in the hypoglycemic test, compared with the model group, the fasting blood glucose in each dose group decreased significantly (P < 0.01). **Conclusion:** The compound hypoglycemic granules has no acute toxicity and subacute toxicity, and can reduce fasting blood glucose in hyperglycemic mice.

Keywords

Oat β -glucan, Chitosan oligosaccharide, Polygonatum sibiricum polysaccharide, Toxicity, Hypoglycemic.

复方降血糖冲剂的安全性及功能作用研究

朱振平 王淑娥

山东大学公共卫生学院, 山东大学卫生分析测试中心, 中国·山东 济南 250014

摘要

目的: 研究复方降血糖冲剂的安全性及对高血糖小鼠血糖的影响。**方法:** 急性毒性试验采用霍恩氏法, 记录中毒和死亡情况; 30d 喂养试验考察样品亚急性毒性作用; 采用四氧嘧啶建立高血糖模型小鼠, 考察样品对高血糖小鼠空腹血糖的影响。**结果:** 急性毒性试验, 本品为无毒级; 30d 喂养试验, 对动物体重、体重增重、脏器重量无明显影响; 血液学指标及血液生化学各指标均在实验室正常值范围内; 未观察到与受试样品有关的组织病理学改变; 降血糖试验, 与模型组比较, 各剂量组空腹血糖下降均有显著性 (P < 0.01)。**结论:** 复方降血糖冲剂无急性毒性和亚急性毒性作用, 可降低高血糖小鼠的空腹血糖值。

关键词

燕麦 β -葡聚糖; 壳寡糖; 黄精提取物; 毒性; 降血糖

1 引言

糖尿病是一组以高血糖为特征的代谢性疾病。高血糖则是由于胰岛素分泌缺陷或其生物作用受损, 或两者兼有引起。糖尿病时长期存在的高血糖, 导致各种组织, 特别是眼、肾、心脏、血管、神经的慢性损害、功能障碍。严重高血糖时出现典型的“三多一少”(多饮、多尿、多食和消瘦) 症状和疲乏无力, 肥胖等。2017年, 国际糖尿病联盟公布了第八版的全球糖尿病地图。结果显示, 全球糖尿病成人患者 (20 ~ 79岁) 从2000年的1.51亿, 到2017年已达到4.25亿, 增加近3倍。中国患病人数达1.14亿人。预计到2045年, 全球糖尿

病患者可能达到6.29亿。数据表明, 全球每年的糖尿病费用都在节节攀升, 2017年已高达7270亿美元 (20 ~ 79岁), 其中中国总支出费用已达到1100亿美元, 但是中国糖尿病患者的平均支出水平还远远低于发达国家。糖尿病已成为严重影响国人身心健康的主要公共卫生问题^[1]。

本品是以燕麦 β -葡聚糖、壳寡糖、黄精提取物为主要原料经混合制成。燕麦 β -葡聚糖属于半纤维素的一种, 是燕麦胚乳细胞壁构成成分之一, 在籽粒的糊粉层和亚糊粉层中富集。^[2] 燕麦 β -葡聚糖食用后不易被人体消化吸收, 可以减缓血液中葡萄糖含量的增加, 对预防和控制糖尿病及心血管

疾病有重要作用。卫生计生委 2014 年第 20 号批准燕麦 β -葡聚糖为新食品原料,其食用量 ≤ 5 克/天。近年来的研究证明,燕麦 β -葡聚糖降血糖作用明显,汪海波^[1]的研究表明,燕麦 β -葡聚糖对四氧嘧啶糖尿病小鼠具有显著的降血糖和恢复胰岛素水平的功效,董吉林^[4]等的研究结果也表明,燕麦 β -葡聚糖可显著降低 II 型糖尿病小鼠的空腹血糖,刺激胰岛素分泌,改善胰岛素抵抗,提高糖耐量,促进肝、肌糖原合成。

壳寡糖是由壳聚糖经酶解或酸解等方法所得的一种低聚糖,相对于壳聚糖,具有相对分子质量小、易溶于水、易被人体吸收等优点,同时生理活性与壳聚糖相似。卫生计生委 2014 年第 6 号批准壳寡糖为新食品原料,其食用量 ≤ 0.5 克/天。研究认为壳寡糖具有降血糖的生物学活性,魏玉芬等研究表明,壳寡糖 $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给药组较空白对照组有显著降低糖尿病大鼠血糖水平的作用^[5],周中凯等研究表明,较空白对照组,壳寡糖干预 6 周后能显著降低高糖脂饮食诱导的糖尿病大鼠血糖水平,并有防止胰岛素敏感性钝化的趋势^[6]。

黄精为百合科植物黄精 (*Polygonatum sibiricum* Red.) 的干燥块茎,是我国传统中药,具有补气益阴、健脾、润肺、益肾之功,含有黄精多糖、低聚糖、多种氨基酸等成分,具有悠久的降血糖应用历史。市面上有许多以黄精为主要降糖成分的降糖中成药,如降糖通脉片、黄精降糖胶囊等。

本品以两种新食品原料燕麦 β -葡聚糖、壳寡糖及药食同源物质黄精制成复方降血糖冲剂,并对该冲剂的安全性及降血糖作用进行考察,报道如下。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

2.1.1 样品与处理

黄精提取物为本实验室经提取制得,参考文献^[7]提取工艺流程为:原料→烘干→粉碎→水浸提→过滤、合并→浓缩→乙醇沉淀→干燥→黄精提取物。

复方降血糖冲剂以燕麦 β -葡聚糖 64%,壳寡糖 9%,黄精提取物 7%,另外辅以木糖醇等甜味剂制成规格为 5.0g/袋的冲剂,人体推荐剂量为每日 5.0g/人。试验时以蒸馏水作为溶剂配制成相应浓度的溶液。

2.1.2 试验动物

SPF 级 ICR 小鼠,SD 大鼠均由济南朋悦实验动物繁育有

限公司提供,生产许可证号:SCXK(鲁)2014-0007,饲养环境为屏障级,室温 $20 \sim 22^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $45 \sim 65\%$ 。

2.2 主要仪器与试剂

ONE TOUCH Ultra 型血糖检测仪(美国强生)、四氧嘧啶(sigma 公司)、电子天平、ABBOTT CD3700 血细胞分析仪、HITACHI 7180 全自动生化分析仪、离心机、生物显微镜等

2.3 试验方法

2.3.1 急性毒性试验

采用霍恩氏法。选用体重为 $18 \sim 22\text{g}$ 的 SPF 级 ICR 小鼠,雌雄各半,根据体重随机分为 4 组。给予基础饲料、水,适应性喂养 3d,确定其为健康小鼠。通过预实验确定正式试验的剂量分别为 $2.15\text{g}/\text{kg}$ 、 $4.64\text{g}/\text{kg}$ 、 $10.00\text{g}/\text{kg}$ 、 $21.50\text{g}/\text{kg}$ 。分别对各组小鼠进行灌胃,一次性给予受试物,并观察小鼠灌胃后的状况,连续观察 14d,记录中毒和死亡情况。

2.3.2 30d 喂养试验

选用健康 SD 大鼠,雌雄各半,按体质量随机分为 4 组,即空白对照组,复方降血糖冲剂低、中、高剂量组(分别为人体推荐量的 25 倍、50 倍、100 倍),适应性喂养 3d 后,采用灌胃给予受试物的方式,分别称取受试物 20.8g、41.6g、83.3g,用蒸馏水配制至 100ml,灌胃量为 $1.0\text{ml}/100\text{g}\cdot\text{bw}$,三个受试样品组剂量分别为 $2.08\text{g}/\text{kg}\cdot\text{bw}$ 、 $4.16\text{g}/\text{kg}\cdot\text{bw}$ 、 $8.33\text{g}/\text{kg}\cdot\text{bw}$,每天观察进食及活动情况,每周称取体质量并记录食物摄入量。30d 后,测定血常规及血液生化指标;取完整肝脏、肾、脾、睾丸、卵巢及部分胃和小肠,制备病理学切片,观察有无病变。

2.3.3 高血糖小鼠降血糖试验

参照文献^[8]“四氧嘧啶糖尿病小鼠模型建立”方法建立高血糖模型小鼠。设立正常对照组,高血糖模型小鼠按禁食 5 小时的血糖水平,随机分为模型对照组和 3 个剂量组。剂量组按复方降血糖冲剂人体推荐量的 5 倍、10 倍、30 倍 (0.42 、 0.83 、 $2.5\text{g}/\text{kg}\cdot\text{bw}$) 给予受试样品,模型对照组给予溶剂,连续 30 天,测空腹血糖值。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,率的比较采用卡方检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

3 结果

3.1 急性经口毒性试验

灌胃 14d, 各剂量组小鼠均无明显中毒症状及死亡, 行为表现及进食情况均正常, 根据霍恩氏法判断, $LD_{50} > 21.5g/kg$ 。按急性毒性分级标准, 本品为无毒级。

3.2 30d 喂养试验结果

一般情况: 试验期间, 各组动物外观正常, 活动自如, 体重、摄食量和粪便等均未见明显异常。各剂量组大鼠体重、体重增重与对照组比较, 无显著性差异。说明, 本品对大鼠的一般情况、进食量和体重无明显影响。

对大鼠血液指标的影响: 各剂量组动物末期血液学指标与对照组比较, 差异无统计学意义, 各指标均在实验室正常值范围内。

对大鼠血液生化学指标的影响: 各剂量组动物末期血液

学和血清生化指标与对照组比较, 差异无统计学意义, 各指标均在实验室正常值范围内。

大体解剖、脏器称量和组织病理学检查: 给予受试物 30d 处死各组大鼠, 肉眼观察各脏器颜色、形态及位置无异常现象。肝、脾、肾、性腺脏器的重量和脏器系数与对照组无显著性差异。经组织病理切片镜检, 对照组大鼠中有 1 例肾皮质部间质内出现少量炎性细胞浸润, 高剂量组大鼠中有 2 例动物肝脏汇管区有少量炎性细胞浸润, 其他均未观察到明显病理改变, 考虑实验组的这些病理改变程度较轻且无组间特异性分布, 可能与动物质量有关, 不认为实验组出现有意义的病理改变。

3.3 对糖尿病小鼠空腹血糖的影响

实验开始时, 各组小鼠空腹血糖差异不明显。实验期间, 模型组小鼠血糖一直维持在较高水平, 与对照组比较差异均

表 1 试验末期大鼠血液学指标结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别 ♀	Hb(g/L)	RBC($\times 10^{12}/L$)	WBC($\times 10^9/L$)	中性 (%)	淋巴 (%)	单核 (%)
对照组	149.2±4.5	5.23±0.5	12.55±2.0	15.1±3.9	79.1±3.6	4.76±1.6
低剂量组	151.2±4.8	5.44±0.6	13.02±3.1	16.2±4.1	77.9±5.3	4.83±2.1
中剂量组	153.3±6.6	5.67±0.4	13.38±2.6	15.6±4.4	80.2±4.6	4.67±2.2
高剂量组	150.2±5.5	5.46±0.5	13.29±2.7	15.9±4.2	76.3±5.5	4.79±2.4
组别 ♂	Hb(g/L)	RBC($\times 10^{12}/L$)	WBC($\times 10^9/L$)	中性 (%)	淋巴 (%)	单核 (%)
对照组	153.3±6.2	5.63±0.7	9.22±1.6	12.3±2.3	81.4±4.4	4.71±1.2
低剂量组	155.1±5.8	5.71±0.5	9.72±1.3	12.6±2.6	81.8±3.6	4.76±1.8
中剂量组	148.3±6.8	5.52±0.6	8.99±1.1	12.8±1.9	80.6±4.2	4.92±2.0
高剂量组	152.4±6.1	5.65±0.6	9.31±1.8	13.3±3.6	81.0±4.5	4.88±1.6

表 2 试验末期大鼠血液生化学指标结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别 ♀	谷丙转氨酶 (U/L)	谷草转氨酶 (U/L)	尿素 (mmol/L)	总胆固醇 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	血糖 (mmol/L)	总蛋白 (g/L)	白蛋白 (g/L)
对照组	55.6±8.0	148.1±16.6	6.4±0.7	1.6±0.2	0.7±0.2	7.6±0.6	53.6±1.3	24.3±1.1
低剂量组	51.2±6.7	154.2±15.4	6.5±1.0	1.7±0.3	0.6±0.2	7.3±0.7	54.7±2.2	24.6±1.3
中剂量组	53.6±7.7	146.8±14.8	6.4±0.9	1.5±0.3	0.5±0.1	7.0±0.5	55.1±1.5	24.3±1.2
高剂量组	54.3±7.9	161.3±18.1	7.1±0.8	1.7±0.4	0.7±0.2	7.5±0.8	54.8±2.0	25.0±1.1
组别 ♂	谷丙转氨酶 (U/L)	谷草转氨酶 (U/L)	尿素 (mmol/L)	总胆固醇 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	血糖 (mmol/L)	总蛋白 (g/L)	白蛋白 (g/L)
对照组	46.2±6.6	151.3±14.2	7.0±0.8	1.8±0.4	0.4±0.1	6.7±0.5	60.6±5.2	33.3±3.0
低剂量组	44.3±5.8	158.2±14.3	6.8±0.4	1.7±0.6	0.5±0.2	6.8±0.8	61.4±4.9	32.6±2.1
中剂量组	45.3±5.1	149.6±13.9	7.2±0.5	1.7±0.4	0.4±0.2	6.6±1.1	63.6±5.4	31.7±2.8
高剂量组	43.6±6.6	148.7±14.3	7.3±0.5	1.5±0.5	0.6±0.1	7.0±0.9	62.9±5.0	32.9±1.9

表 3 对糖尿病小鼠空腹血糖的影响 (mmol/L · d, $\bar{x} \pm s$)

组别	实验前	试验期间			
		1w	2w	3w	4w
对照组	6.69±0.25	6.71±0.72	6.60±0.42	6.61±0.33	6.81±0.67
模型组	6.71±0.71	18.18±1.20 ^{##}	18.88±1.03 ^{##}	19.67±1.67 ^{##}	20.23±1.87 ^{##}
低剂量组	6.82±0.88	17.85±1.06	16.92±1.14 ^{**}	15.33±1.20 ^{**}	14.84±0.73 ^{**}
中剂量组	6.43±0.57	17.52±1.44	16.03±1.26 ^{**}	14.45±1.07 ^{**}	13.54±1.06 ^{**}
高剂量组	6.91±1.11	18.04±1.32	16.00±0.74 ^{**}	14.62±0.77 ^{**}	13.26±0.32 ^{**}

注: 与对照组比较, ## $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (下同)

有显著性 ($P < 0.01$), 各实验小鼠血糖水平在不断下降, 第2w、第3w和第4w血糖值与模型组比较差异明显 ($P < 0.01$)。表明, 复方降血糖冲剂可明显降低高血糖小鼠的空腹血糖值。

4 结论

急性毒性试验表明, 本品无急性毒性作用。30d 喂养试验表明, 给予不同剂量复方降血糖冲剂 30 天, 大鼠的一般表现良好, 发育正常。对动物体重、体重增量、脏器重量无明显影响。血液学指标及血液生化学各指标均在实验室正常值范围内。组织病理学结果, 未观察到与受试样品有关的组织病理学改变。降血糖试验结果表明, 分别灌胃低、中、高剂量的复方降血糖冲剂 4w, 自第 2w 起各剂量组与模型组比较, 空腹血糖值均下降, 差异有显著性 ($P < 0.01$)。表明, 复方降血糖冲剂具有降低高血糖小鼠的血糖的作用。

5 讨论

降糖物质的研究主要包括以下几个方面: 对糖代谢的影响、对胰岛功能的影响和对糖类物质吸收利用的影响^[9]。燕麦 β - 葡聚糖不仅对糖代谢有良好作用, 同时可通过恢复胰岛机能来提高实验动物自身的糖代谢能力, 还与许多具有降血糖作用的膳食纤维一样, 可通过刺激小肠平滑肌蠕动提高小肠内食物的移动速度, 缩短食物在肠道内的停留时间而起到降低糖份吸收利用的功效。关于壳寡糖降低血糖的作用机制, 有专家认为其可能与壳寡糖作用于胰岛素受体, 使胰岛素受体敏感性增强, 从而控制血糖升高有关^[10]。黄精提取物降血糖作用的机制较为复杂, 文献报道其可能与加速糖原合成、减慢糖原分解有关^[11], 也可能与其能抑制胰岛细胞凋亡, 提高胰岛素表达有关^[12]。

本品以燕麦中 β - 葡聚糖、壳寡糖、黄精提取物组方, 可从减少机体血糖吸收, 增加糖原合成、储存和增加细胞胰

岛素敏感性等方面共同起到辅助降血糖的作用, 具有配伍协同作用且安全性高。

参考文献

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国糖尿病医学营养治疗指南 (2013) [J]. 糖尿病天地 (临床), 2016, 10(7): 73-88.
- [2] 王凤梅, 樊明寿, 郑克宽. 燕麦 β - 葡聚糖的保健作用及影响其积累的因素 [J]. 麦类作物学报, 2005, 25 (2): 116-118.
- [3] 汪海波, 刘大川, 崔邦梓, 谢笔钧. 燕麦 β - 葡聚糖对正常小鼠及四氧嘧啶致糖尿病小鼠血糖、血脂的调节作用研究 [J]. 食品科学, 2004(07): 172-175.
- [4] 董吉林, 陈明, 申瑞玲, 刘延奇. 燕麦 β - 葡聚糖对 STZ 致 II 型糖尿病小鼠胰岛素抵抗的影响 [J]. 郑州轻工业学院学报 (自然科学版), 2011, 26(02): 5-8.
- [5] 魏玉芬, 王茹, 李红玉. β - 壳寡糖对 II 型糖尿病肾病大鼠的肾脏保护作用 [J]. 中国海洋药物, 2009(2): 40-43.
- [6] 周中凯, 王俊轩, 李莹. 抗性淀粉、壳寡糖及其复合物对高脂饮食大鼠糖脂代谢影响 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(6): 189-193.
- [7] 孙庭阁, 赵瑞萌, 张玲. 热水浸提法提取黄精多糖最佳工艺研究 [J]. 泰山医学院学报, 2010, 31(02): 128-130.
- [8] 曲婉秋, 唐晓琳, 王秀武. 壳寡糖螯合铬对糖尿病小鼠降血糖作用的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(05): 605-609.
- [9] 汪海波. 燕麦中 β - 葡聚糖的化学结构、溶液行为及降血糖作用的机制研究 [D]. 华中农业大学, 2004.
- [10] 李八方, 陈桂东, 毛文君. 几种膳食纤维对实验性糖尿病大鼠及肠道杆菌的影响 [J]. 营养学报, 1999, 21(1): 59-63.
- [11] 王红玲, 张渝侯, 洪艳, 刘君炎. 黄精多糖对小鼠血糖水平的影响及机理初探 [J]. 儿科药学, 2002(01): 14-15.
- [12] 公惠玲, 李卫平, 尹艳艳, 李维祖. 黄精多糖对链脲菌素糖尿病大鼠降血糖作用及其机制探讨 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(09): 1149-1154.