

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.90009

桔梗多糖抗氧化特性及对 2 型糖尿病大鼠降血糖作用

Antioxidant properties of polysaccharides from *platycodon grandiflorum* and its hypoglycemic effect on type 2 diabetic rats

赵凯迪 王秋丹 林长青

ZHAO Kai-di WANG Qiu-dan LIN Chang-qing

(延边大学医学院中医系, 吉林 延吉 133000)

(Department of Traditional Chinese Medicine, School of Medicine, Yanbian University, Yanji, Jilin 133000, China)

摘要:目的: 研究桔梗多糖抗氧化性及其对 2 型糖尿病 (T2DM) 大鼠降血糖作用。方法: 提取并测定桔梗多糖含量及桔梗多糖对不同自由基的清除能力。采用高脂高糖饲料喂养大鼠 6 周后, 大鼠腹腔注射 STZ (30 mg/kg · BW) 建立 T2DM 模型, 将其分为正常组、模型组、桔梗多糖高剂量组 (400 mg/kg)、桔梗多糖低剂量组 (200 mg/kg)、阳性组 (二甲双胍 200 mg/kg), 定期测定大鼠体重及空腹血糖值 (FBG); 并进行口服糖耐量 (OGTT) 测试, 测定大鼠总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白 (HDL-C)、低密度脂蛋白 (LDL-C)、丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽 (GSH) 和过氧化氢酶 (CAT) 的变化。结果: 桔梗多糖含量为 89.65%, 在 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度下其对 DPPH $\cdot$ 、ABTS $^{+}\cdot$ 、 $\cdot\text{OH}$ 、PTIO 的清除能力分别为 91.3%、89.7%、83.8%、90.4%。与模型组相比, 桔梗多糖能够有效缓解 T2DM 大鼠体重的下降, 显著降低其 FBG ($P < 0.05$), 以及显著提高 OGTT 水平 ($P < 0.05$), 经桔梗多糖高剂量治疗后, TC、TG、LDL-C、MDA 水平显著下降, HDL-C、SOD、GSH、CAT 水平显著上升 ($P < 0.05$), 且所有指标均呈剂量依赖性。结论: 桔梗多糖具有较好的抗氧化性, 可以通过改善 T2DM 大鼠脂代谢水平和氧化应激水平从而起到降血糖作用。

关键词: 桔梗多糖; 抗氧化性; T2DM; 降血糖作用

Abstract: Objective: This study aimed to investigate the antioxidant activity of polysaccharides from *Platycodon grandiflorum* and its hypoglycemic effect on type 2 diabetic rats. **Methods:** Extraction and determination of *P. grandiflorum* polysaccharide

content and its ability to scavenge different free radicals. The rats were fed with high-fat and high-sugar feed for 6 weeks. After 6 weeks, the rats were intraperitoneally injected with STZ (30 mg/kg · BW) to establish type 2 diabetes models (T2DM), which were divided into normal group, model group, and *P. grandiflorum*-polysaccharide high-dose group (400 mg/kg) and low-dose group (200 mg/kg), and positive group (metformin 200 mg/kg). The body weight and fasting blood glucose (FBG) were measured regularly for 8 weeks. In the last week, an oral glucose tolerance (OGTT) test was performed, and rat serum and liver were taken to determine the changes in lipid metabolism indexes and related oxidases in rats. **Results:** The content of *platycodon grandiflorum* polysaccharide was 89.65%, and the scavenging ability of DPPH $\cdot$, ABTS $^{+}\cdot$, $\cdot\text{OH}$ and PTIO at a concentration of 1 000 $\mu\text{g/mL}$ were 91.3%, 89.7%, 83.8%, and 90.4%, respectively. Compared with the model group, *P. grandiflorum* polysaccharide could effectively alleviate the weight loss of T2DM rats, significantly reduced their FBG ($P < 0.05$), and significantly increased the level of OGTT ($P < 0.05$). After high-dose treatment of *P. grandiflorum* polysaccharide, the levels of TC, TG, LDL-C and MDA decreased significantly, and the levels of HDL-C, SOD, GSH, and CAT increased significantly ($P < 0.05$) with dose-dependence. **Conclusion:** *P. grandiflorum* polysaccharide has good antioxidant properties and can reduce blood sugar by improving lipid metabolism and oxidative stress levels in T2DM rats.

Keywords: *Platycodon grandiflorum* polysaccharide; antioxidant; T2DM; hypoglycemic effect

基金项目: 吉林省重点科技攻关项目 (编号: 20170204023YY)

作者简介: 赵凯迪, 男, 延边大学在读硕士研究生。

通信作者: 林长青 (1970—), 男, 延边大学副教授, 博士。

E-mail: lincq0608@163.com

收稿日期: 2021-11-03

桔梗 (*Platycodon grandiflorus*) 为桔梗科桔梗属多年生草本植物, 在中国、韩国、日本和东西伯利亚被广泛种植^[1]。具有多种活性成分, 包括皂苷、黄酮、多糖等^[2-4], 并具有抗炎、抗过敏、抗肥胖、免疫调节等药理活性^[5]。

抗氧化活性是评价多糖生物活性的重要指标^[6]。体内过量的自由基会氧化和破坏正常细胞,诱发炎症、过早衰老、癌症和辐射损伤等身体疾病^[7]。机体内过度的氧化反应也会导致糖尿病及其并发症^[8]。研究^[9-10]表明,多糖具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、免疫调节和抗病毒作用。Wang 等^[11]研究指出,桔梗多糖对氧化磷酸化抑制剂引起的凋亡有保护作用。鲍少杰等^[12]指出枸杞多糖、芦荟多糖等植物多糖均具有降血糖功效。但目前有关桔梗多糖的报道多集中在桔梗多糖的提取工艺以及纯化研究^[13-14],未见桔梗多糖对 2 型糖尿病大鼠降血糖作用的报道。试验拟研究桔梗多糖的抗氧化性和对 2 型糖尿病大鼠降血糖作用及其可能机制,旨在为开发桔梗成为新抗氧化和降血糖产品提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

紫花桔梗:市售;

雄性无特定病原体(SPF)级 SD 大鼠:50 只,体重(250±20)g,许可证号 SCXK(辽)2015-0001,长春亿斯试验动物中心;

无水乙醇:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;

链脲佐菌素(STZ):99.9%,美国 Sigma 公司;

盐酸二甲双胍片:95.0%,北京万辉双鹤药业有限责任公司;

二苯代苦味肼基自由基(DPPH·):分析纯,上海化成工业有限公司;

2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS):分析纯,北京索莱宝科技有限公司;

一氧化氮清除剂(PTIO):北京绿源伯德生物科技有限公司;

大鼠总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)和过氧化氢酶(CAT)试剂盒:江苏南京建城生物工程研究所;

四孔数显恒温水浴锅:HH-4 型,江苏科析仪器有限公司;

旋蒸冷凝器:CCA-1111-CE 型,东京理化器械株式会社;

血糖仪:AG-605 型,天津九安医疗电子股份有限公司;

离心机:TD-4M 型,山东博科生物产业有限公司;

酶标仪:BK-EL10C 型,山东博科生物产业有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 桔梗多糖提取 将桔梗烘干,粉碎后过 40 目筛,参照陈俊波等^[15]的方法并稍作改动:料液比 1:30(g/mL),提取时间 3 h,提取温度 80℃,浸提两次,合

并提取液,用 85%乙醇醇沉 24 h,取沉淀,采用 Sevage 法除蛋白,脱色,冻干成粉,4℃保存备用。

1.2.2 桔梗多糖含量测定 采用苯酚硫酸法^[16]。

1.2.3 桔梗多糖抗氧化性测定 根据龚雯等^[17]的方法稍作修改,将桔梗多糖配制成质量分数分别为 50,100,200,400,800,1 000 μg/mL 的溶液,以维生素 C 作为对照组,测定其对 DPPH·、ABTS⁺·、·OH、PTIO 的清除能力。

1.2.4 试验动物分组及给药 选取 50 只 SPF 级雄性 SD 大鼠,适应性喂养 1 周,高脂高糖饲料喂养 6 周后,一次性腹腔注射 STZ(30 mg/kg·BW)建立 T2DM 模型,并将其分为正常组、模型组、桔梗多糖高剂量组(400 mg/kg)、桔梗多糖低剂量组(200 mg/kg)、阳性组(二甲双胍 200 mg/kg),连续灌胃 8 周,正常组和模型组灌以等量蒸馏水,每 2 周记录所有大鼠的体重和 FBG。

1.2.5 大鼠 OGTT 测定 参照戴燕铃等^[18]的方法。

1.2.6 大鼠 TC、TG、HDL-C、LDL-C 测定 试验结束后,心脏取血,3 000 r/min 离心 10 min,取上清,依次按各项指标试剂盒说明书进行操作。

1.2.7 大鼠 SOD、GSH、CAT、MDA 测定 将肝脏用 0.1 mol/L Tris-HCl 制备成组织匀浆,并按说明书测定肝脏组织中 SOD、GSH、CAT、MDA 活性。

1.2.8 统计学分析 使用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计学分析和显著性差异分析,结果以均值±标准偏差表示, $P<0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 桔梗多糖含量

试验发现,多糖得率为 10.82%。由图 1 可知,标准曲线方程为 $y=10.48x+0.0036$ ($R^2=0.9976$),多糖质量分数为 89.65%。

2.2 对 DPPH·、ABTS⁺·、·OH、PTIO 的清除能力

由图 2 可知,当桔梗多糖质量浓度为 50 μg/mL 时,其对 DPPH·、ABTS⁺·、·OH、PTIO 的清除率分别为 33.5%,35.5%,10.2%,14.7%;随着桔梗多糖质量浓度的增加,DPPH·、ABTS⁺·、·OH、PTIO 的清除率均呈剂

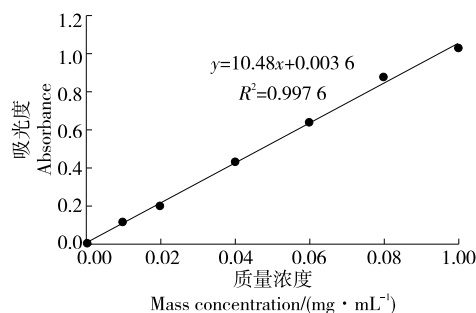


图 1 多糖标准曲线

Figure 1 Standard curve of polysaccharides

量依赖性增加,当多糖质量浓度为 $1\ 000\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 时,其对 DPPH $\cdot$ 、ABTS $^{+}\cdot$ 、 $\cdot\text{OH}$ 、PTIO 的清除能力分别为 91.3%,89.7%,83.8%,90.4%,但与维生素 C 存在极显著差异($P<0.01$)。这主要是由于桔梗多糖属于多羟基化合物,因此具有很强的还原性,极易与 DPPH 发生氧化反应生成醌类物质,其对其他自由基的清除可能是通过糖醛酸与亚铁离子耦合抑制,从而抑制羟自由基的产生^[19-20]。综上,桔梗多糖具有一定的清除自由基的能力,具有抗氧化性。

2.3 对大鼠体重、FBG 的影响

由表 1 可知,灌胃 8 周后,与正常组相比,T2DM 大鼠的体重均显著降低($P<0.05$),经桔梗多糖治疗后的糖尿病大鼠可以有效缓解体重的下降,效果与阳性组相当。由表 2 可知,经 8 周的桔梗多糖灌胃后,各大鼠的 FBG 差异显著($P<0.05$),灌胃了桔梗多糖的 T2DM 大鼠的 FBG 与模型组相比极显著下降($P<0.01$),与阳性组间差

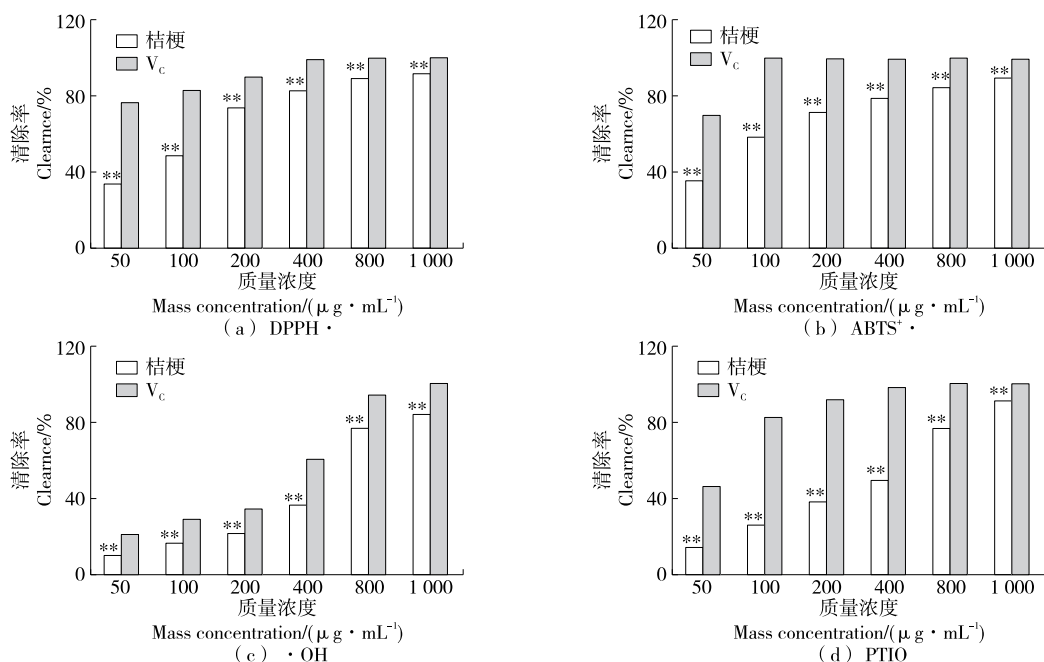
异不显著,说明桔梗多糖能有效缓解 T2DM 大鼠体重的下降,恢复其血糖水平。

2.4 对 T2DM 大鼠 OGTT 的影响

由图 3 可知,经桔梗多糖灌胃后,能够提高 T2DM 大鼠的糖耐量,且高剂量组的糖耐量极显著优于模型组($P<0.01$)。经桔梗多糖灌胃后,可能调节了 T2DM 大鼠体内对葡萄糖的摄取及利用,从而降低了其 FBG 水平,提高了机体的 OGTT 水平。刘丹奇等^[21]研究指出,红茶多糖、桑叶多糖和枸杞多糖均具有显著的降血糖效果。

2.5 对大鼠 TC、TG、HDL-C、LDL-C 的影响

由图 4 可知,模型组 TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平与正常组存在极显著性差异($P<0.01$),经桔梗多糖治疗后能够显著改善 TC、TG、HDL-C、LDL-C 的水平($P<0.05$)。这可能由于桔梗多糖经体内吸收后参与了 T2DM 大鼠的脂代谢,使 TC、TG、LDL-C 水平降低,HDL-C 水平提高。殷亚楠^[22]研究指出,薏苡多糖能够改善 T2DM 大鼠的异



* 与维生素 C 相比差异显著($P<0.05$), ** 与维生素 C 相比差异极显著($P<0.01$)

图 2 桔梗多糖对 DPPH $\cdot$ 、ABTS $^{+}\cdot$ 、 $\cdot\text{OH}$ 、PTIO 的清除能力

Figure 2 The ability of platycodon grandiflorum polysaccharide to clear DPPH $\cdot$, ABTS $^{+}\cdot$, $\cdot\text{OH}$, PTIO

表 1 T2DM 大鼠体重[†]

Table 1 Body weight of T2DM rats

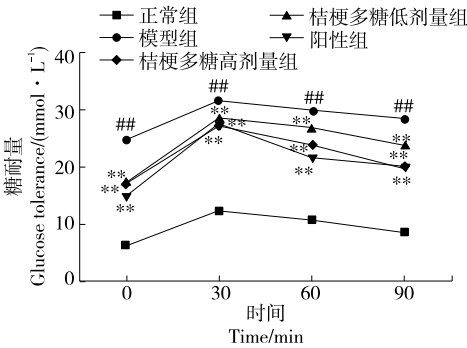
组别	0 周	2 周	4 周	6 周	8 周
正常组	305.16±3.27 ^a	326.82±4.36 ^a	348.78±3.12 ^a	374.27±4.05 ^c	388.69±4.63 ^d
模型组	352.68±3.58 ^b	387.37±3.96 ^c	380.15±4.63 ^b	362.76±4.07 ^a	343.23±4.92 ^a
桔梗多糖低剂量组	356.84±5.63 ^b	375.62±6.37 ^b	386.79±6.79 ^b	370.35±5.78 ^b	360.26±6.04 ^b
桔梗多糖高剂量组	346.36±4.38 ^b	370.16±5.06 ^b	382.86±4.94 ^b	376.26±5.12 ^b	365.34±5.68 ^c
阳性组	353.78±5.24 ^b	370.36±6.39 ^b	388.21±5.96 ^b	379.95±6.27 ^b	370.55±6.04 ^c

[†] 字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

表 2 T2DM 大鼠空腹血糖值[†]

Table 2 Fasting blood glucose of T2DM rats					mmol/L
组别	0 周	2 周	4 周	6 周	8 周
正常组	5.9±0.7 ^a	6.2±0.5 ^a	6.3±0.6 ^a	5.8±0.9 ^a	6.0±0.7 ^a
模型组	17.7±0.4 ^c	21.3±0.8 ^b	22.6±0.7 ^c	24.9±0.5 ^c	24.6±0.9 ^c
桔梗多糖低剂量组	20.5±0.5 ^b	21.2±0.6 ^b	19.6±0.4 ^b	18.3±0.8 ^b	17.7±0.6 ^b
桔梗多糖高剂量组	19.8±0.6 ^b	20.2±0.4 ^b	19.3±0.7 ^b	17.2±0.8 ^b	16.5±0.6 ^b
阳性组	20.8±0.4 ^b	21.2±0.6 ^b	19.6±0.5 ^b	16.5±0.8 ^b	14.6±0.2 ^b

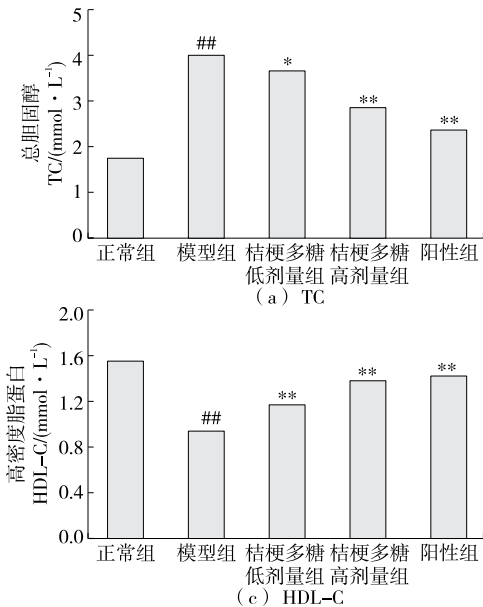
[†] 字母不同表示差异显著($P<0.05$)。



#与正常组相比差异显著($P<0.05$), ##与正常组相比差异极显著($P<0.01$); *与模型组相比差异显著($P<0.05$), **与模型组相比差异极显著($P<0.01$)

图 3 桔梗多糖对 T2DM 大鼠 OGTT 的影响

Figure 3 Effect of platycodon grandiflorum polysaccharide on OGTT of T2DM rats



#与正常组相比差异显著($P<0.05$), ##与正常组相比差异极显著($P<0.01$); *与模型组相比差异显著($P<0.05$), **与模型组相比差异极显著($P<0.01$)

图 4 桔梗多糖对 T2DM 大鼠 TC、TG、HDL-C、LDL-C 的影响

Figure 4 The effect of platycodon grandiflorum polysaccharide on TC, TG, HDL-C, LDL-C in T2DM rats

常脂代谢,说明植物多糖具有调节异常脂代谢的作用,也更加确定桔梗多糖能够改善 T2DM 大鼠异常脂代谢。

2.6 对 T2DM 大鼠 SOD、GSH、CAT、MDA 的影响

由表 3 可知,与正常组相比,模型组中 SOD、GSH、CAT 含量均极显著下降($P<0.01$),MDA 含量极显著升高($P<0.01$),经桔梗多糖治疗后可有效恢复 T2DM 大鼠的 SOD、GSH、CAT 水平,有效降低 MDA 水平,且与模型组相比,高剂量桔梗多糖组能够极显著提高 SOD、GSH、CAT 水平($P<0.01$),极显著降低 MDA 水平($P<0.01$)。孙广平等^[23]研究指出,紫苏叶多糖能够调节糖尿病小鼠体内的氧化应激指标,具有抗糖尿病作用,并认为该作用可能与降低氧化应激水平有关,与试验结果一致。由此推测,桔梗多糖可能是通过改善 T2DM 大鼠机体内的氧化应激水平从而起到降血糖作用。

3 结论

试验表明,桔梗多糖具有很好的抗氧化作用,并能够

表 3 T2DM 大鼠 SOD、GSH、CAT、MDA 含量[†]
Table 3 SOD, GSH, CAT, MDA content in T2DM rats

组别	SOD/(U · mg ⁻¹)	GSH/(μmol · g ⁻¹)	CAT/(U · mg ⁻¹)	MDA/(U · mg ⁻¹)
正常组	586.24±10.85 ^a	234.12±6.25 ^a	88.26±2.85 ^a	4.16±1.28 ^d
模型组	265.78±8.43 ^e	95.46±3.86 ^e	40.54±1.67 ^d	15.24±2.58 ^a
桔梗多糖低剂量组	382.46±9.67 ^d	128.82±4.42 ^d	46.78±1.89 ^d	9.86±2.06 ^b
桔梗多糖高剂量组	485.52±10.12 ^c	178.65±5.71 ^c	62.53±3.24 ^c	7.38±1.76 ^c
阳性组	506.39±11.36 ^b	190.34±6.62 ^b	70.24±4.28	6.81±1.64 ^c

[†] 字母不同表示差异显著 (P<0.05)。

对 2 型糖尿病大鼠起到缓解体重下降、降低血糖、改善异常脂代谢以及改善机体氧化应激的作用,证实了桔梗多糖在体外的抗氧化作用,又补充了其在体内的抗氧化作用,弥补了桔梗多糖在 2 型糖尿病研究方面的空白。后续可对桔梗多糖进行组分分离,并对其在动物蛋白以及细胞水平进行深入研究。

参考文献

[1] URBANSKA N, GIEBULTOWICZ J, OLSZOWSKA O, et al. The growth and saponin production of *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. (Chinese bellflower) hairy roots cultures maintained in shake flasks and mist bioreactor[J]. *Acta Soc Bot Pol*, 2014, 88(3): 229-237.

[2] 于海艳, 杨雯, 王栋, 等. 桔梗皂苷提取工艺及药理作用研究进展[J]. *疾病监测与控制*, 2021, 15(4): 330-333.

YU Hai-yan, YANG Wen, WANG Dong, et al. Research progress in extraction technology and pharmacological effects of platycodon grandiflorum saponins[J]. *Disease Surveillance and Control*, 2021, 15(4): 330-333.

[3] 王晓林, 金龙哲, 钟方丽, 等. 桔梗茎总黄酮的纯化工艺及其抗氧化性研究[J]. *保鲜与加工*, 2019, 19(6): 133-141.

WANG Xiao-lin, JIN Long-zhe, ZHONG Fang-li, et al. Study on the purification process of total flavonoids from *Platycodon grandiflorum* stem and its antioxidant activity[J]. *Preservation and Processing*, 2019, 19(6): 133-141.

[4] 陈俊波, 符秀娟. 桔梗多糖的提取工艺及抗氧化性研究[J]. *广东化工*, 2020, 47(16): 43-44.

CHEN Jun-bo, FU Xiu-juan. Study on the extraction process and antioxidant activity of platycodon grandiflorum polysaccharides[J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2020, 47(16): 43-44.

[5] 陈丹丹, 洪挺, 王栋, 等. 桔梗的化学成分及其药理作用研究概况[J]. *药品评价*, 2020, 17(15): 9-11.

CHEN Dan-dan, HENG Ting, WANG Dong, et al. General situation of research on the chemical constituents and pharmacological effects of platycodon grandiflorum[J]. *Drug Evaluation*, 2020, 17(15): 9-11.

[6] KUANG Hui, JIAO Ying-chun, WANG Wei, et al. Characterization and antioxidant activities of intracellular polysaccharides from *Agaricus bitorquis* (QuéL.) Sacc[J]. *Int J BiolMacromol*, 2019, 156: 1 112-1 125.

[7] MEI Xin-ya, YANG Wen-jian, HUANG Gang-ling, et al. The an-

tioxidant activities of balsam pear polysaccharide [J]. *Biol Macromol*, 2020, 142: 232-236.

[8] 金智一, 邢桂红, 屈丹. 生肌玉红膏联合西洛他唑对糖尿病足溃疡患者周围神经传导速度及氧化应激的影响[J]. *当代医学*, 2021, 27: 26-28.

JIN Zhi-yi, XING Gui-hong, QU Dan. Effect of Shengjiyuhong ointment combined with cilostazol on peripheral nerve conduction velocity and oxidative stress in patients with diabetic foot ulcer[J]. *Contemporary Medicine*, 2021, 27: 26-28.

[9] KURT A. Development of a water-resistant salep glucomannan film via chemical modification Carbohydr[J]. *Polym*, 2019, 213: 286-295.

[10] ABDULLAH K, TALIP K. Purification of glucomannan from salep Part I: Detailed rheological characteristics[J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 168: 138-146.

[11] WANG Cheng, CHENG Guo-dong, YANG Shu-juan, et al. Protective effects of platycodon grandiflorus polysaccharides against apoptosis induced by carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazine in 3D4/21 cells[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 141: 1 220-1 227.

[12] 鲍少杰, 乔东, 尹茂源, 等. 天然食材中的降血糖活性成分研究[J]. *美食研究*, 2021, 38(2): 73-77.

BAO Shao-jie, QIAO Dong, YIN Mao-yuan, et al. Study on the blood glucose-lowering active ingredients in natural foods[J]. *Gastronomic Research*, 2021, 38(2): 73-77.

[13] 郎德龙. 超声波提取桔梗多糖工艺研究[J]. *黑龙江工业学院学报(综合版)*, 2019, 19(11): 63-66.

LANG De-long. Study on ultrasonic extraction technology of platycodon grandiflorum polysaccharides [J]. *Journal of Heilongjiang Institute of Technology (Comprehensive Edition)*, 2019, 19(11): 63-66.

[14] 董增, 曹稳根, 段红, 等. 桔梗多糖提取、分离纯化以及生物活性研究[J]. *基因组学与应用生物学*, 2018, 37(8): 3 534-3 539.

DONG Zeng, CAO Wen-gen, DUAN Hong, et al. Extraction, isolation and purification and biological activity of platycodon grandiflorum polysaccharides[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2018, 37(8): 3 534-3 539.

[15] 陈俊波, 符秀娟. 桔梗多糖的提取工艺及抗氧化性研究[J]. *广东化工*, 2020, 47(16): 43-44.

CHEN Jun-bo, FU Xiu-juan. Study on the extraction process and antioxidant activity of platycodon grandiflorum polysaccharides[J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2020, 47(16): 43-44.

(下转第 198 页)