文章编号: 1001-0580(2007)03-0295-02　中图分类号: R 151.2　文献标志码: A　【论　著】

茶多糖降糖作用机制*

全吉淑[1], 尹学哲[2], 及川和志[3]

摘　要: 目的　研究茶多糖的降糖作用机制。方法　用比色法测定茶多糖对α-葡萄糖苷酶(EC 3.2.1.20)和α-淀粉酶(EC 3.2.1.1)的抑制活性, 用快速过滤法观察茶多糖对兔小肠刷状缘囊泡葡萄糖转运活性的影响。结果　茶多糖显示较强的α-葡萄糖苷酶抑制活性, 其α-葡萄糖苷酶的半抑制浓度(IC_{50})值为 3.2 g/L; 茶多糖对α-淀粉酶的抑制活性则较弱, 浓度为为 1 g/L 时, 其对α-淀粉酶的抑制率为 10%; 茶多糖同时明显降低兔小肠刷状缘囊泡葡萄糖转运能力, 其半抑制浓度(IC_{50})值为 15 g/L。结论　茶多糖可抑制α-葡萄糖苷酶及α-淀粉酶活力和小肠刷状缘囊泡葡萄糖转运能力, 从而可延缓小肠对糖的消化吸收。

关键词: 茶多糖; α-葡萄糖苷酶; α-淀粉酶; 葡萄糖转运体

Study on hypoglycemic mechanism of tea polysaccharide　*QUAN Ji-shu, YIN Xue-zhe, KAZUSHI Oikawa. Department of Biochemistry, Medical College, Yanbian University (Yanji 133000, China)*

Abstract: Objective　To study the hypoglycemic mechanism of tea polysaccharide. **Methods**　The inhibitory activities of tea polysaccharide against alpha-glucosidase (EC 3.2.1.20) and alpha-amylase (EC 3.2.1.1) were tested by colorimetric method, glucose uptake into brush border membrane vehicles were determined by rapid filtration method. **Results**　In alpha-glucosidase inhibitory assay, tea polysaccharide showed potent inhibitory activity with IC_{50} value of 3.2g/L; while inhibitory effect of tea polysaccharide on alpha-amylase was low, the inhibitory activity were about 10% at the concentration of 1 g/L. Tea polysaccharide also significantly decreased glucose transport potency of brush border membrane vehicle of rabbit small intestine with IC_{50} value of 15g/L. **Conclusion**　Tea polysaccharide can inhibit alpha-glucosidase and alpha-amylase activities and glucose uptake into brush border membrane vehicles, therefore can delay carbohydrate digestion and absorption.

Key words: tea polysaccharide; alpha-glucosidase; alpha-amylase; glucose transporter

茶多糖是一类从茶叶提取来的多糖类化合物, 具有增强免疫力、降血脂、降血糖、抗辐射、抗血凝、抗血栓等功效[1,2]。我国和日本民间就有泡饮粗老茶治疗糖尿病的历史[3]。研究初步证实, 茶多糖是粗老茶叶降血糖的主要有效成分[4], 但具体的作用机制尚不清楚。本文以茶多糖为材料, 探讨其对α-葡萄糖苷酶、α-淀粉酶和刷状缘囊泡葡萄糖转运能力的抑制作用, 旨在揭示茶多糖的降糖机制。

1　材料与方法

1.1　试剂和仪器　酵母α-葡萄糖苷酶(日本和光公司); 猪α-胰淀粉酶 type 1-A(美国 Sigma 公司)。Wallac 1209 Rackbeta 闪烁记数器、微量血糖侧定仪(德国 Bayer 公司); U-2010 型紫外分光光度仪(日本 HITACHI 公司)。

1.2　茶多糖的制备　100 g 绿茶用 2 L 蒸馏水侵泡过夜, 将提取液喷雾干燥得茶粉。将茶粉溶解, 用 3 倍体积 95% 的乙醇充分搅拌, 离心。沉淀物用 75% 的乙醇洗涤 2 次, 所得沉淀物再用蒸馏水溶解, 真空冷冻干燥, 得不含茶多酚的灰白色粗茶多糖, 其多糖含量为 15.7% (蒽酮硫酸法)。

1.3　α-葡萄苷酶抑制活性的测定　α-葡萄糖苷酶的抑制活性的测定采用渡边[5]等的方法, 测吸光度(A)$_{400\ nm}$和半抑制浓度(IC_{50})值。IC_{50}定义为抑制酶活性 50% 时所需的抑制剂浓度。

1.4　α-淀粉酶抑制作用的测定　将 10 μl α-淀粉酶溶于 4 ml 含有 50 mmol/L NaCl、5 mmol/L $CaCl_2$、0.5/L TritonX-100 的 pH 6.9, 25 mmol/L Piperazine-N, N'-bis 2-ethanesulfonic acid 缓冲液中作为酶保存液, 测定时用缓冲液稀释 40 倍使用。碘法[6]测定 A_{700nm}和 IC_{50}值。

1.5　刷状缘囊泡葡萄糖转运能力的测定　将兔小肠浸泡于 300 ml 含 200 mmol/L 甘露醇的 pH 7.4, 2 mmol/L HEPES[N-(2-hydroxyethyl) piperazine-N'-(2-ethanesulfonic acid)]-Tris 缓冲液中, 刮取小肠黏膜, 在冰溶中高速匀浆 2 min。匀浆液中加 0.61 g 固体 $MgCl_2$, 溶搅拌 20 min 后, 在 4 ℃、3 000 g 离心 15 min, 所得上清在 4 ℃、3 500 g 离心 30 min, 此沉淀液用 10 ml 含 100 mmol/L 甘露醇、0.1 mmol/L $MgSO_4$ 的 pH 7.4, 2 mmol/L HEPES-Tris 缓冲液溶解, 在 4 ℃、35 000 g离心 40 min, 所得沉淀用 3 倍体积含 300 mmol/L 甘露醇、0.1 mmol/L $MgSO_4$ 的 pH 7.4, 10 mmol/L HEPES-Tris 缓冲液重新溶解, 用 25 号注射针头反复抽吸, 即得刷状缘囊泡悬液。以^{3}H-D-葡萄糖为底物, 用快速过滤法[7]测定刷状缘囊泡葡萄糖转运能力。抑制葡萄糖转运活性 50% 时所需的抑制剂浓度定义为 IC_{50}。

2　结　果

2.1　茶多糖对α-葡萄糖苷酶和α-淀粉酶的抑制作用(表 1)　茶多糖具有较弱的α-葡萄糖苷酶和α-淀粉酶抑制活性。本实验同时测定了绿茶和乌龙茶提取物的α-葡萄糖苷酶抑制活性作为比较。

表 1　茶多糖对α-葡萄糖苷酶、α-淀粉酶和葡萄糖转运活性的抑制作用

测试样品	α-葡萄糖苷酶 IC_{50}(g/L)	α-淀粉酶抑制活性(%)*	葡萄糖转运活性 IC_{50}(g/L)
茶多糖	3.2	10.4	14.5
乌龙茶提取物	0.17	16.7	5.1
绿茶提取物	0.13	21.2	3.5

注: * 此时所用提取物的浓度为 1 g/L

2.2　茶多糖对兔小肠刷状缘囊泡葡萄糖转运活性的影响　茶多糖降低兔小肠刷状缘囊泡的葡萄糖转运活性, 且在较宽范围内呈剂量依赖性关系。随着浓度升高, 兔小肠刷状缘囊泡葡萄糖转运活性降低幅度明显减小, 呈直角双曲线关系。其对刷状缘囊泡葡萄糖转运的抑制作用为快速反应。

* 基金项目: 国家自然科学基金(30360113)
作者单位: 1. 延边大学医学院生化教研室, 延吉 133000; 2. 延边大学医院; 3. 日本东北食效科学研究所
作者简介: 全吉淑(1968-), 女, 吉林延吉人, 副教授, 硕士, 研究方向: 中草药中生物活性物质的分离及其药理作用。

中国公共卫生 CPH

3 讨 论

有效地控制血糖是糖尿病治疗的基本目标。α-葡萄糖苷酶抑制剂是一组通过延缓糖的消化以降低餐后高血糖的口服降糖药,其作用特点是在糖消化的最后一步抑制双糖降解为单糖[5]。α-淀粉酶抑制剂也能减慢食物淀粉在肠道中的消化,抑制餐后血糖水平的升高,因此,也是近年来糖尿病口服药物开发研究的一个热点[9]。肠道对葡萄糖的吸收则以葡萄糖转运体的主动吸收来完成,因此,抑制葡萄糖转运活性也是降低餐后血糖的重要环节之一[7]。本研究结果表明,茶多糖是α-葡萄糖苷酶和α-淀粉酶的弱抑制剂,同时降低兔小肠刷状缘囊泡的葡萄糖转运活性,从而能够通过延缓或减慢糖在肠道的消化和吸收来降低餐后高血糖。虽然茶多糖对α-葡萄糖苷酶和α-淀粉酶及刷状缘囊泡葡萄糖转运的抑制作用较弱,但因为肠道中茶多糖浓度能达到较高水平,经常饮用可能有助于降低餐后血糖的持续升高。

参考文献

〔1〕 陈海霞,谢笔钧. 茶多糖对小鼠实验性糖尿病的防治作用[J]. 营养学报, 2002, 24(1): 85- 86.
〔2〕 Tadakazu T, Tomoki U, Hitoshi K, et al. The chemical properties and functional effects of polysaccharides dissolved in green tea infusion[J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi, 1998, 45(4): 270- 272.
〔3〕 刘强. 茶的保健功能与药用便方[M]. 北京: 金盾出版社, 1990: 31
〔4〕 汪东风,谢晓凤. 粗老茶治糖尿病的药理成分分析[J]. 中草药, 1995, 26(5): 255- 257.
〔5〕 Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, et al. Isolation and identification of alpha- glucosidase inhibitors from Tochu- cha(*Eucommia ulmoides*)[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1997, 61(1): 177- 178.
〔6〕 Sawada S, Takeda Y, Kanamori M, et al. Purification and characterization of α-amylase inhibitors from the seeds of three cultivars of the genus Phaseolus[J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi, 2001, 48(3): 182- 188.
〔7〕 Vedavanam K, Srijayanta S, O' Reilly J, et al. Antioxidant action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid- containing soybean phytochemical extract(SPE)[J]. Phytother Res, 1999, 13: 601- 608.
〔8〕 Layer P, Rizza PA, Zinsmeister AR, et al. Effect of a purified amylase inhibitor on carbohydrate tolerance in normal subjects and patients with diabetes mellitus[J]. Mayo Clin Proc, 1986, 61(6): 442 - 447.

收稿日期: 2006-06-20 (文涛编校)

文章编号: 1001-0580(2007)03-0296-01 中图分类号: R 197.3 文献标志码: B 【基层公共卫生】

突发公共卫生事件病原学快速检测方法探讨

王世平[1], 聂秀敏[2], 刘衷芳[1], 张桂荣[1]

在各类水传疾病、食物中毒等突发公共卫生事件中,病原检测是确定引发事件原因的关键,也是最终诊断的基本依据。如何能尽快而又准确检出病原,是检验工作者需要解决的问题。本文通过对 90 起水传疾病、食物中毒等突发公共卫生事件的病原学检测发现,先对可疑样品进行毒性检测,以推断被检样品是化学性中毒或生物性中毒,然后按中毒的性质,有针对性地进行与病原相关检验项目,即可节省时间,又有效地提高实验室病原检出率和诊断准确性。现报告如下。

材料与方法 (1) 样品: 1990~ 2005 年发生在哈尔滨市 8 区 11 县的 90 起水传疾病、食物中毒等突发事件中的样品,包括食物、饮用水、腹泻便、植物、药品、调料等,分别由哈尔滨市卫生防疫站和各区、县卫生防疫站提供。(2) 动物: 常用动物为小白鼠、大白鼠和家兔,主要以小白鼠为主(哈尔滨兽医研究所)。(3) 检测方法: 急性毒性试验检测依据文献〔1〕; 微生物检测依据文献〔2〕食物中毒检测方法; 化学毒物和植物中毒检测方法采用卫生部食检所提供的快速检毒箱。

结 果 (1) 90 起水传疾病、食物中毒等突发事件中样品病原学检测结果(表 1); (2) 毒性试验与病原学检出率比较(表 2)。结果可见,先进行毒性试验后查病原与先查病原未进行毒性试验 2 种方式比较,经统计学处理, $x^2 = 76.5$, $P < 0.01$,差异有统计学意义,表明先进行毒性试验后查病原,检出率可达 75%~ 100%,即增加了准确性,也为下一步检验提供了依据。

讨 论 简单、快速、准确检出病原是处理重大、疑难食物中毒、水传疾病等突发公共卫生事件的重要技术保证。但由于各种事件采集的样品有其复杂性和特殊性,检验人员掌握的检验技术也有一定的局限性,因此,病原检测确认少则几天,多则几十天,时间长、消耗大,易延误案件的确认和处理。本实验结果表明,检测可疑样品时先进行毒性试验,用于初筛、定性,再进行病原学检验,可收到满意的效果。通过毒性试验检验阳性的样品,病原学检出率可达到 75%~ 100%。该方法简单、快速、实用性强,便于推广应用,适合突发事件的应急和处理。

表 1 90 起水传疾病、食物中毒等突发事件中样品病原学检测结果

毒物种类	水传疾病	食物中毒	其他	合计
化学毒物	1	26	8	35
微生物	4	42	2	48
植物毒素	0	5	2	7

表 2 毒性试验与病原学检出率比较

毒物种类	病原总数	先毒性试验后查病原	检出率(%)	先查病原未作毒性试验	检出率(%)
化学毒物	35	31	88	4	12
微生物	48	36	75	12	25
植物毒素	7	7	100	0	0
合计	90	74	82	16	18

参考文献

〔1〕 中华人民共和国卫生部. 食品安全性毒理学评价程度和方法[S]. GB15193.3, 2004.
〔2〕 王世平,聂秀敏,李秀斌. 68 起食物中毒分析[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(4): 403.

作者单位: 1. 黑龙江省哈尔滨市疾病预防控制中心, 150056; 2. 黑龙江省哈尔滨市道外区疾病预防控制中心
作者简介: 王世平(1958-), 黑龙江人, 主任医师, 硕士, 研究方向: 病原微生物的分离鉴定及毒性检测。

收稿日期: 2006-06-10 (宋艳萍编辑 文涛校对)

中国公共卫生 CPH