

葛根醇提物对糖尿病模型大鼠血脂与血管的保护作用

杨志勇*(成都大学附属医院,成都 610081)

中图分类号 R285;R96 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)43-4063-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.43.10

摘要 目的:研究葛根醇提物对糖尿病模型大鼠血脂与血管的保护作用。方法:以高糖高脂饮食联合一次性腹腔注射链脲霉素以复制大鼠糖尿病模型。实验分为正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组与葛根醇提物高、中、低剂量(300、150、75 mg/kg)组。灌胃给药,每天1次,连续2个月。测定大鼠体质量、日饮水量,自动生化仪测定空腹血糖(FBG)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量;硝酸还原酶法测定一氧化氮(NO)含量;双抗体夹心固相酶免疫法测定内皮素(ET)1含量。结果:与正常对照组比较,模型组大鼠体质量显著减少,饮水量显著增加,FBG显著升高,TC、TG、LDL-C含量显著增加,HDL-C含量显著减少,ET-1含量显著增加,NO含量显著减少($P<0.01$);与模型组比较,葛根醇提物高、中剂量组大鼠体质量显著增加,饮水量显著减少,FBG显著降低,TC、TG、LDL-C含量减少,HDL-C含量增加,ET-1含量减少,NO含量增加($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结论:葛根醇提物对糖尿病模型大鼠血脂、血管有一定改善作用,其机制可能与调节血脂平衡,维持血管活性物质动态稳定有关。

关键词 葛根;高血糖;大鼠;一氧化氮;内皮素1

Protective Effects of Ethanol Extract of *Pueraria lobata* against Blood Lipid and Blood Vessel in Hyperglycemia Model Rats

YANG Zhi-yong(The Affiliated Hospital of Chengdu University, Chengdu 610081, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the protective effects of ethanol extract of *Pueraria lobata* against blood lipid and blood vessel in hyperglycemia model rats. METHODS: Experiment is divided into normal control (constant volume physiological saline) group, model (constant volume physiological saline) group and *P. lobata* alcohol extraction high-dose, medium-dose and low dose (300, 150, 75 mg/kg) group. Rats were intragastrically administered, once a day for two months. High sugar and high fat diet combined with disposable intraperitoneal injection of STZ were adopted to induce hyperglycemia model. The body weight and daily water quantity were determined, and automatic biochemistry analyzer was used to determine the contents of FBG, TC, TG, HDL-C and LDL-C. Nitrate enzyme reduction method was used to determine NO content; double antibody sandwich solid-phase enzyme immunoassay was adopted to determine the levels of ET-1. RESULTS: Compared with normal control group, body weight and the contents of HDL-C and NO were decreased significantly in model group, and daily water quantity, FBG, the levels of TC, TG and LDL-C and the content of ET-1 were increased significantly ($P<0.01$). Compared with model group, body weight, the contents of HDL-C and NO were increased significantly in ethanol extract of *P. lobata* high-dose and medium-dose groups, and daily water quantity, FBG, the contents of TC, TG, LDL-C and ET-1 were decreased significantly ($P<0.01$ or $P<0.05$). CONCLUSIONS: The ethanol extract of *P. lobata* can improve blood lipid and blood vessel in hyperglycemia model rats. Its mechanism may be associated with regulating blood lipid and maintaining dynamic stability of vascular active substances.

KEY WORDS *Pueraria lobata*; Hyperglycemia; Rats; NO; ET-1

下一步开展乌头汤减毒配伍的机制研究提供了一定的参考。

参考文献

- [1] 刘伟栋,施旭光,旷永强,等.乌头汤对RA大鼠相关细胞因子影响的研究[J].中药材,2009,32(8):1 267.
- [2] 余成浩.乌头类有毒中药常用配伍药对的物质基础研究[D].成都:成都中医药大学,2006.
- [3] 刘娜,刘文.HPLC法测定乌头汤水煎液中盐酸麻黄碱的含量[J].中国民族民间医药,2008,20(7):33.
- [4] 李可.李可老中医急危重症疑难病经验专辑[M].太原:山西科学技术出版社,2004:64.
- [5] 张宏,彭成.川乌煎煮时间、剂量与药效的相关性研究[J].中药药理与临床,2006,22(5):30.
- [6] 徐叔云.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1992:201.
- [7] 吕志杰,卢月英,朱方,等.制川乌的毒性实验研究[J].中国中医药科技,1996,3(5):17.
- [8] 何伟,王宁,秦林,等.川乌与白芍配伍前后乌头碱和芍药苷煎出量的测定[J].中国药学杂志,2002,37(9):680.
- [9] 张帆,葛亮,哈木拉提·吾甫尔,等.麻黄附子甘草汤的不同配伍方式对其毒性成分的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(6):83.
- [10] 王颖,陈儒燕,秦波,等.附子配伍甘草对甘草总皂苷的影响[J].成都中医药大学学报,2010,33(2):7.

* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:028-86432423。
E-mail:yy071002@126.com

(收稿日期:2013-01-28 修回日期:2013-04-02)

糖尿病是一组由于胰岛素分泌缺陷和/或胰岛素作用障碍所致的以高血糖为特征的代谢性疾病。糖尿病大血管病变是糖尿病常见的并发症之一,可引起系列血管并发症的发生,如视网膜病变、糖尿病肾病、动脉粥样硬化等^[1-3]。已有研究证明,糖尿病血管并发症发生、发展的病理基础是血管内皮细胞功能损伤^[4],因此保护血管内皮功能是防治糖尿病血管并发症的关键。葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根,《本草纲目》记载:葛根性凉、气平、味甘,具清热、降火、排毒诸功效。已有研究表明,葛根具有一定的降血糖作用,但无综合性指标全面介绍其保护血管的作用^[5-6]。笔者现通过高糖、高脂饮食联合 ip 链脲霉素 (STZ, Streptozotocin) 复制大鼠糖尿病模型,观察葛根醇提物对其血管的保护作用,以为临床应用葛根提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

HF-800B 型自动生化分析仪(济南汉方医疗器械有限责任公司);721 型紫外-可见分光光度计(上海天普分析仪器有限公司);5418 型离心机(德国 Eppendorf 公司);One touch 血糖仪及试纸(美国强生公司)。

1.2 药材

葛根(购自成都大学附属医院中药房)由笔者鉴定为真品。

1.3 试剂

STZ(美国 Sigma 公司);一氧化氮(NO, Nitric oxide)、内皮素(ET, Endothelin)1 测试盒(南京建成生物工程研究所)。

1.4 动物

清洁级 SD 大鼠 50 只,♂,体质量 200~220 g,由四川大学实验动物中心提供[实验动物使用许可证号:SCXK(川)2007-0011]。

2 方法

2.1 葛根醇提物的制备

取适量葛根磨成细粉,加处方量 6 倍的 50% 乙醇,回流提取 2 次,第 1 次 2 h,第 2 次 1.5 h,合并 2 次滤液,即得葛根醇提物,贮藏,备用。

2.2 模型的复制

参考文献^[7]基础上加以改进。大鼠喂饲高糖、高脂饲料(10.0% 猪油、20.0% 蔗糖、2.5% 胆固醇、1.0% 胆酸盐、66.5% 常规饲料),自由饮水。喂饲 1 个月后禁食 12 h,在左下腹腔一次性 ip STZ(用 0.1 mol/L、pH 4.2~4.5 的柠檬酸缓冲液在冰浴下制备成 2% 的 STZ 溶液,现配现用)50 mg/kg。ip 7 d 后尾静脉取血,用血糖仪测大鼠空腹血糖(FBG, Fasting blood-glucose),以不同时间点测 3 次,FBG 均 ≥ 7.8 mmol/L 为糖尿病模型大鼠复制成功。期间继续喂饲高糖、高脂饲料至实验结束。

2.3 分组与给药

实验分为五组,即正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组与葛根醇提物高、中、低剂量(300、150、75 mg/kg)

组。ig 给药,每天 1 次,连续 2 个月。

2.4 样品采集与检测

2.4.1 体质量、日饮水量、FBG 的测定 大鼠禁食 12 h,自由饮水,测体质量、FBG。

2.4.2 血清总胆固醇(TC)、血清三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、NO、ET-1 含量的测定 末次给药后大鼠禁食 12 h,经股动脉采血,取空腹血 3 ml,以离心半径为 8 cm、3 000 r/min 离心 10 min 得血清,生化分析仪测定大鼠 TC、TG、HDL-C、LDL-C 的含量;采用硝酸还原酶法测定 NO 含量;双抗体夹心固相酶免疫法测定 ET-1 含量。所有步骤均严格按照试剂盒说明书进行。

2.5 统计学分析

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,SPSS 11.5 统计软件进行统计分析。多样本比较采用单因素方差分析;两两比较采用 *t* 检验或秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 葛根醇提物对模型大鼠体质量、日饮水量、FBG 的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠体质量显著减轻,日饮水量显著增加,FBG 含量显著增加($P < 0.01$);与模型组比较,葛根醇提物高、中剂量组大鼠体质量显著增加,日饮水量显著减少,FBG 含量显著减少($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。表明葛根醇提物可减少糖尿病模型大鼠体质量,控制其饮水量,降低其 FBG 含量。葛根醇提物对模型大鼠体质量、日饮水量、FBG 的影响见表 1。

表 1 葛根醇提物对模型大鼠体质量、日饮水量、FBG 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 1 Effects of ethanol extract of *P. lobata* on body weight, daily water quantity and FBG in model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量,mg/kg	体质量,g	饮水量,ml	FBG,mmol/L
正常对照组		356.47 ± 13.41	110.57 ± 13.06	5.07 ± 0.04
模型组		219.34 ± 8.65*	245.24 ± 16.18*	26.63 ± 2.05*
葛根醇提物高剂量组	300	280.63 ± 10.37**	169.42 ± 5.38**	17.48 ± 1.83**
葛根醇提物中剂量组	150	247.19 ± 9.72*	206.93 ± 9.76*	21.29 ± 2.17*
葛根醇提物低剂量组	75	226.55 ± 10.86	227.61 ± 12.85	24.66 ± 3.26

与正常对照组比较: * $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. normal control group: * $P < 0.01$; vs. model group: # $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.2 葛根醇提物对模型大鼠血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C 含量的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠血清 TG、TC、LDL-C 含量显著增加,HDL-C 含量显著减少($P < 0.01$);与模型组比较,葛根醇提物高、中剂量组大鼠血清 TG、TC、LDL-C 含量显著减少,HDL-C 含量显著增加($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。表明葛根醇提物对糖尿病模型大鼠血脂有显著改善作用。葛根醇提物对模型大鼠血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C 含量的影响见表 2。

3.3 葛根醇提物对模型大鼠血清 NO、ET-1 含量的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠血清 NO 含量显著减少,ET-1 含量显著增加($P < 0.01$);与模型组比较,葛根醇提物高、

表2 葛根醇提物对模型大鼠血清TC、TG、HDL-C、LDL-C含量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 2 Effects of ethanol extract of *P. lobata* on the contents of TC, TG, HDL-C and LDL-C in model rats($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,mg/kg	TG,mmol/L	TC,mmol/L	LDL-C,mmol/L	HDL-C,mmol/L
正常对照组		0.87±0.04	0.91±0.37	0.76±0.04	1.41±0.08
模型组		1.93±0.03*	1.43±0.86	1.64±0.07*	0.69±0.11*
葛根醇提物高剂量组	300	1.32±0.11**	1.14±0.52*	1.28±0.09*	0.97±0.13*
葛根醇提物中剂量组	150	1.59±0.12**	1.28±0.63*	1.47±0.12*	0.81±0.09*
葛根醇提物低剂量组	75	1.75±0.14	1.37±0.79	1.57±0.16	0.73±0.11

与正常对照组比较:* $P<0.01$;与模型组比较:** $P<0.05$,*** $P<0.01$

vs.normal control group: * $P<0.01$;vs. model group: ** $P<0.05$, *** $P<0.01$

0.01

中剂量组大鼠血清NO含量显著增加,ET-1含量显著减少($P<0.05$)。表明葛根醇提物对糖尿病模型大鼠血管内皮因子有较好的改善作用。葛根醇提物对模型大鼠血清NO、ET-1含量的影响见表3。

表3 葛根醇提物对模型大鼠血清NO、ET-1含量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 3 Results of ethanol extract of *P. lobata* on the contents of NO and ET-1 in model rats($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,mg/kg	NO,nmol/L	ET-1,pg/ml
正常对照组		53.68±14.19	19.36±3.25
模型组		26.41±7.47*	31.76±7.94*
葛根醇提物高剂量组	300	36.58±8.43*	24.68±6.41*
葛根醇提物中剂量组	150	32.15±9.52*	27.03±7.59*
葛根醇提物低剂量组	75	28.77±9.84	29.61±78.06

与正常对照组比较:* $P<0.01$;与模型组比较:** $P<0.05$

vs.normal control group: * $P<0.01$;vs. model group: ** $P<0.05$

4 讨论

脂肪代谢异常会使血清TC、TG、LDL-C含量增高,HDL-C含量降低,血液黏稠度增加,TG、LDL-C代谢清除率降低,使胆固醇和胆固醇酯在细胞内堆积,黏附在血管内皮上,损害动脉血管内皮。

血管内皮是高血糖损害的重要靶器官,内皮源性舒张因子NO和缩血管活性多肽ET-1是血管内皮细胞分泌的具有拮抗作用的血管活性物质,二者的动态平衡维持着正常的血管内皮功能^[8]。糖尿病环境下,多元醇通路激活,促进二酰甘油合成、激活蛋白激酶C(PKC)与磷酸戊糖通路,导致NO合成减少与生物活性下降,进而导致血管内皮功能不全^[9]。高血糖引起PKC活性增强,还可促进内皮素转化酶(ECE)1的异常表达,促使血管内皮ET-1含量增高,ET-1含量增高又可抑制NO的生成,从而进一步引起血管持续性收缩,导致血管平滑肌增生、血管变窄、血管基膜增厚,加剧血管内皮功能障碍^[10]。

本研究中笔者参考文献采用高脂、高糖联合ip STZ法制

备大鼠糖尿病模型^[7]。结果表明,与正常对照组比较,模型组大鼠体质量显著减少,饮水量显著增加,FBG显著升高,TC、TG、LDL-C含量显著增加,HDL-C含量显著减少,ET-1含量显著增加,NO含量显著减少,表明模型复制成功。经过2个月ig葛根醇提物后,与模型组比较,葛根醇提物高、中剂量组大鼠体质量显著增加,饮水量显著减少,FBG显著降低,TC、TG、LDL-C含量显著减少,HDL-C含量显著增加,ET-1含量显著减少,NO含量显著增加($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。

研究表明,葛根醇提物可通过减少TC、TG、LDL-C含量,增加HDL-C含量,减少ET-1含量,增加NO含量,从而维持血管活性物质动态稳定,起到保护糖尿病模型大鼠血脂与血管的作用。

参考文献

- [1] Thompson CS. Animal models of diabetes mellitus: relevance to vascular complications[J]. *Curr Pharm Des*, 2008, 14(4):309.
- [2] 纪立农.对2型糖尿病新的大型临床试验结果的解读和分析[J].中国糖尿病杂志,2008,16(11):642.
- [3] 李永强,黄海长,白秀珍,等.足细胞与糖尿病肾病[J].中国中西医结合肾病杂志,2005,12(6):739.
- [4] Khan ZA, Chakrabarti S. Therapeutic targeting of endothelial dysfunction in chronic diabetic complications[J]. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov*, 2006, 1(2):167.
- [5] 缪亚东,欧阳臻,袁斌.葛根、山楂、制首乌的提取物降血脂作用的研究[J].现代中药研究与实践,2008,2(3):27.
- [6] 刘竹青,张克良,麻风华.葛根煎剂对糖尿病大鼠降血糖机理的研究[J].中医药信息,2006,23(3):56.
- [7] 郭啸华,刘志红,李恒,等.高糖高脂饮食诱导的2型糖尿病大鼠模型及其肾病特点[J].中国糖尿病杂志,2002,10(5):290.
- [8] Kalani M. The importance of endothelin-1 for microvascular dysfunction in diabetes[J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2008, 4(5):1 061.
- [9] Cosentino F, Eto M, De Paolis P, et al. High glucose cause upregulation of cyclooxygenase-2 and alters prostanoid profile in human endothelial cells: role of protein kinase C and reactive oxygen species[J]. *Circulation*, 2003, 107(7):1 017.
- [10] Keynan S, Khamaisi M, Dahan R, et al. Increased expression of endothelin-converting enzyme-1c isoform in response to high glucose levels in endothelial cells[J]. *J Vasc Res*, 2004, 41(2):131.

(收稿日期:2013-07-21 修回日期:2013-09-07)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊,欢迎投稿、订阅