

葛根芩连汤对2型糖尿病模型大鼠的降糖作用

万正兰¹,肖佩玉^{2#},齐同珍³(1.中山大学附属第五医院药学部,广东珠海 519000;2.中山大学附属第三医院药剂科,广州 510630;3.荆州市第三人民医院,湖北荆州 434001)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)23-2131-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.23.07

摘要 目的:研究葛根芩连汤对2型糖尿病模型大鼠的降糖作用。方法:高脂饲料喂饲联合腹腔注射链脲佐菌素以复制大鼠2型糖尿病模型。120只SD大鼠随机均分为正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、二甲双胍(0.3 mg/kg)组与葛根芩连汤①、②、③、④、⑤、⑥、⑦、⑧、⑨(28.05、24.75、21.45、18.15、14.85、11.55、8.25、4.95、1.65 g/kg)组。灌胃给药,每天1次,连续8周。测定大鼠血糖(FBG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、糖化血清蛋白(GSP)、胰岛素(Fins)与胰岛素抵抗指数(IRI)。结果:与模型组比较,葛根芩连汤①、②、③、④、⑤、⑥、⑦、⑧组大鼠FBG、HbA1c、GSP、Fins、IRI降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。葛根芩连汤起效剂量范围为4.95~28.05 g/kg。结论:葛根芩连汤对2型糖尿病模型大鼠具有良好的降糖作用,且呈量效关系。

关键词 葛根芩连汤;2型糖尿病;血糖;胰岛素抵抗;量效关系

Hypoglycemic Effect of Gegen Qinlian Decoction on Type 2 Diabetes Rats

WAN Zheng-lan¹, XIAO Pei-yu², QI Tong-zhen³(1.Dept. of Pharmacy, The Fifth Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangdong Zhuhai 519000, China; 2.Dept. of Pharmacy, The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China; 3.Jinzhou Third People's Hospital, Hubei Jinzhou 434001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the hypoglycemic effect of Gegen qinlian decoction on type 2 diabetes rats. METHODS: Type 2 diabetes model was induced by high fat diet combined with intraperitoneal injection of STZ. 120 SD rats were randomly divided into normal control group (constant volume of normal saline), model group (constant volume of normal saline) metformin group (0.3 mg/kg) and Gegen qinlian decoction ①, ②, ③, ④, ⑤, ⑥, ⑦, ⑧ and ⑨ groups (1.65, 4.95, 8.25, 11.55, 14.85, 18.15, 21.45, 24.75, 28.05 g/kg). They were given relevant medicines intragastrically once a day for consecutive 8 weeks. FBG, HbA1c, glycosylated serum protein (GSP), insulin (FIns) and insulin resistance index (IRI) were all determined. RESULTS: Compared with model group, FBG, HbA1c, GSP, Fins and IRI decreased in Gegen qinlian decoction ①, ②, ③, ④, ⑤, ⑥, ⑦, ⑧ groups; there was statistical significance ($P<0.01$ or $P<0.05$). There was dose-effect relationship of Gegen qinlian decoction with hypoglycemic doses, with effective dose range of 4.95-28.05 g/kg. CONCLUSIONS: Gegen qinlian decoction has good treatment effect on type 2 diabetes model rat, and shows a certain dose-effect relationship.

KEYWORDS Gegen qinlian decoction; Type 2 diabetes; FBG; Insulin resistance; Dose-effect relationship

2型糖尿病是一种复杂的代谢性疾病,以血糖增高和糖尿为主要特点,进而导致多系统、多脏器损害。随着社会的发展和水平的提高,2型糖尿病的发病率也呈逐年升高趋势^[1]。糖尿病病因复杂,现代医学至今缺乏针对病因的有效治疗手段。糖尿病属于中医学“消渴病”范畴,中医药治疗糖尿病的作用机制和途径表现为多向性、多层面、多靶点的特点,在预防和控制糖尿病及慢性并发症、提高患者生存质量方面具有极大的优势^[2]。剂量是方剂的组成部分,经方为方剂之祖,但是经方的原本真实剂量却众说纷纭,包括《伤寒论》药物剂量的争论由来已久,令人莫衷一是^[3]。现在有不少学者认为,经方按照1两=13.8 g或15.6 g才是合适剂量,有可能是最佳剂量,而这些依据大部分是来源于文献以及理论研究的基础^[4]。在临床实践中发现,葛根芩连汤(为《伤寒论》中治疗“消渴病”

之名方)中整方的剂量与临床效果密切相关。本研究通过大鼠糖尿病模型对葛根芩连汤降糖作用的量效关系进行研究,以期临床合理用量提供理论基础。

1 材料

1.1 仪器

AGM-2200型血糖仪及AGM-2200型血糖试纸(韩国All Medicus公司);7080型全自动生化测定仪(日本日立公司);糖化血红蛋白(HbA1c)、糖化血清蛋白(GSP)测试盒(美国Roche公司);胰岛素(Fins免疫印迹(ELISA)法测试盒(瑞典Mercodia公司)。

1.2 药品与试剂

葛根芩连汤(葛根8 g,黄芩3 g,黄连3 g,炙甘草2 g,干姜0.5 g)由中山大学附属第五医院中药房提供;盐酸二甲双胍(深圳海王药业有限公司,批号:200123543);链脲佐菌素(STZ,美国Sigma公司);柠檬酸、柠檬酸三钠均购自江西核工业实验化工厂。

1.3 动物

* 主管药师。研究方向:临床药学。电话:0756-2528959。E-mail:491589476@qq.com

通信作者:主管药师。研究方向:医院药学。E-mail:546071355@qq.com

SD大鼠120只,♀♂兼半,体质量160~180g,购自广东省中山大学实验动物中心(实验动物生产合格证号:0087130)。在温度为(23±2)℃、湿度为(50±10)%、12h光照交替的环境中饲养。

2 方法^[5-6]

2.1 复制模型与分组、给药

大鼠禁食12h后ip STZ 30 mg/kg,3d后ip STZ 20 mg/kg,1周后空腹血糖(FBG)≥11.1 mmol/L为模型复制成功^[5-6]。120只SD大鼠随机均分为12组,即正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、二甲双胍(0.3 mg/kg)组与葛根芩连汤①、②、③、④、⑤、⑥、⑦、⑧、⑨(28.05、24.75、21.45、18.15、14.85、11.55、8.25、4.95、1.65 g/kg)组。ig给药,每天1次,连续8周。给药期间正常对照组大鼠以普通颗粒饲料喂养,其余大鼠继续以高脂饲料喂养。

2.2 指标的测定

分别于给药前及给药8周后大鼠眼内眦静脉取全血,室温下静置30 min,待血样完全凝固,以离心半径为13.5 cm、3 000 r/min离心10 min,分离得血清,分别测定大鼠FBG、HbA1c、GSP、Fins,采用以下公式计算胰岛素抵抗指数(IRI):IRI=FBG×FIns/22.5。

2.3 统计学方法

统计分析采用SPSS 15.0软件,计数资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 分析,组内前后比较采用配对 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 葛根芩连汤对模型大鼠FBG水平的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠FBG升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,葛根芩连汤①、②、③、④、⑤、⑥、⑦、⑧组大鼠FBG降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。葛根芩连汤对模型大鼠FBG水平的影响见表1。

表1 葛根芩连汤对模型大鼠FBG的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 1 Effects of Gegen qinlian decoction on FBG in model rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量,g/kg	FBG,mmol/L	
		给药前	给药后
正常对照组		4.13±0.32	4.16±9.29
模型组		24.75±1.89	25.16±2.12 [#]
二甲双胍组	0.3 mg/kg	24.81±1.92	17.89±1.85 [#]
葛根芩连汤⑨组	1.65	24.69±1.78	24.39±2.13
葛根芩连汤⑧组	4.95	24.85±1.87	22.17±1.97 [#]
葛根芩连汤⑦组	8.25	24.79±1.85	21.25±1.99 [#]
葛根芩连汤⑥组	11.55	24.77±1.89	20.29±1.96 [#]
葛根芩连汤⑤组	14.85	24.92±1.80	20.96±1.95 [#]
葛根芩连汤④组	18.15	24.89±1.94	19.49±2.06 [#]
葛根芩连汤③组	21.45	24.88±1.90	18.93±1.92 [#]
葛根芩连汤②组	24.75	24.76±1.91	19.38±1.89 [#]
葛根芩连汤①组	28.05	24.86±1.89	21.23±1.92 [#]

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

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

3.2 葛根芩连汤对模型大鼠HbA1c水平的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠HbA1c升高,差异有统计

学意义($P < 0.01$);与模型组比较,葛根芩连汤①、②、③、④、⑤、⑥、⑦、⑧组大鼠HbA1c降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。葛根芩连汤对模型大鼠HbA1c水平的影响见表2。

表2 葛根芩连汤对模型大鼠HbA1c的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 2 Effects of Gegen qinlian decoction on HbA1c in model rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量,g/kg	HbA1c,%	
		给药前	给药后
正常对照组		3.54±0.42	3.56±0.40
模型组		9.53±0.74	9.61±0.37 [#]
二甲双胍组	0.3 mg/kg	9.57±0.80	6.15±0.58 [#]
葛根芩连汤⑨组	1.65	9.55±0.89	9.23±0.39
葛根芩连汤⑧组	4.95	9.58±0.79	8.21±0.43 [#]
葛根芩连汤⑦组	8.25	9.56±0.84	7.85±0.38 [#]
葛根芩连汤⑥组	11.55	9.63±0.82	7.12±0.40 [#]
葛根芩连汤⑤组	14.85	9.59±0.85	6.68±0.38 [#]
葛根芩连汤④组	18.15	9.61±0.83	6.63±0.43 [#]
葛根芩连汤③组	21.45	9.59±0.79	6.76±0.42 [#]
葛根芩连汤②组	24.75	9.62±0.84	7.12±0.39 [#]
葛根芩连汤①组	28.05	9.58±0.84	7.26±0.36 [#]

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

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

3.3 葛根芩连汤对模型大鼠GSP水平的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠GSP升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,葛根芩连汤①、②、③、④、⑤、⑥、⑦、⑧组大鼠GSP降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。葛根芩连汤对模型大鼠GSP水平的影响见表3。

表3 葛根芩连汤对模型大鼠GSP的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 3 Effects of Gegen qinlian decoction on GSP in model rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量,g/kg	GSP,mmol/L	
		给药前	给药后
正常对照组		1.67±0.18	1.70±0.17
模型组		3.56±0.39	3.55±0.37 [#]
二甲双胍组	0.3 mg/kg	3.53±0.35	1.81±0.21 [#]
葛根芩连汤⑨组	1.65	3.49±0.36	3.29±0.35
葛根芩连汤⑧组	4.95	3.51±0.38	2.89±0.27 [#]
葛根芩连汤⑦组	8.25	3.50±0.37	2.55±0.32 [#]
葛根芩连汤⑥组	11.55	3.52±0.39	2.05±0.29 [#]
葛根芩连汤⑤组	14.85	3.48±0.41	1.97±0.30 [#]
葛根芩连汤④组	18.15	3.50±0.38	1.90±0.27 [#]
葛根芩连汤③组	21.45	3.52±0.37	2.05±0.32 [#]
葛根芩连汤②组	24.75	3.55±0.39	2.15±0.26 [#]
葛根芩连汤①组	28.05	3.54±0.41	2.13±0.29 [#]

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

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

3.4 葛根芩连汤对模型大鼠Fins、IRI水平的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠Fins活性增强,IRI升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,葛根芩连汤①、②、③、④、⑤、⑥、⑦、⑧组大鼠Fins活性减弱,IRI降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。葛根芩连汤对模型大鼠Fins、IRI水平的影响见表4。

4 讨论

糖尿病是临床常见的内分泌代谢疾病,发病率仅次于肿

表4 葛根芩连汤对模型大鼠 FIns 和 IRI 的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 4 Effects of on FIns and IRI in model rats($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,g/kg	Fins,U/ml		IRI	
		给药前	给药后	给药前	给药后
正常对照组		2.35±0.18	2.41±0.21	0.55±0.06	0.56±0.07
模型组		8.14±0.41	8.18±0.59 [*]	8.78±0.68	8.84±0.60 [*]
二甲双胍组	0.3 mg/kg	8.16±0.37	6.53±0.43 [#]	8.72±0.65	6.64±0.49 [#]
葛根芩连汤⑨组	1.65	8.20±0.38	8.04±0.34	8.69±0.69	8.35±0.62
葛根芩连汤⑧组	4.95	8.17±0.40	7.37±0.43 [#]	8.73±0.58	8.02±0.59 [#]
葛根芩连汤⑦组	8.25	8.18±0.43	7.05±0.41 [#]	8.74±0.63	7.78±0.55 [#]
葛根芩连汤⑥组	11.55	8.22±0.39	6.73±0.39 [#]	8.71±0.60	7.59±0.58 [#]
葛根芩连汤⑤组	14.85	8.19±0.41	6.72±0.42 [#]	8.74±0.59	7.39±0.54 [#]
葛根芩连汤④组	18.15	8.21±0.39	6.67±0.38 [#]	8.68±0.61	7.18±0.54 [#]
葛根芩连汤③组	21.45	8.15±0.36	6.76±0.39 [#]	8.73±0.62	6.98±0.45 [#]
葛根芩连汤②组	24.75	8.21±0.39	6.81±0.40 [#]	8.75±0.64	7.11±0.47 [#]
葛根芩连汤①组	28.05	8.19±0.37	7.01±0.43 [#]	8.74±0.63	7.16±0.44 [#]

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

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

瘤和心血管疾病^[7]。其病因和发病机制异常复杂,发症多并且严重,死亡率高^[8]。因此,研究糖尿病的防治具有重要的临床意义。虽然目前治疗糖尿病的药物很多,其作用机制不同,药效、副作用也不尽相同,但控制血糖仍是治疗糖尿病和预防并发症的关键所在^[9]。中医药治疗糖尿病已有数千年历史,在治疗糖尿病方面具有温和持久,不良反应少,改善糖耐量和有效缓解并发症发生发展等优点,作用机制表现出多靶点、多向性、多层次特点,具有不可比拟的优势^[5]。因此,从传统中医药中研究开发新型抗糖尿病中药制剂具有重要的意义和广阔的前景^[10]。

葛根芩连汤是东汉末年张仲景创立的经典古方之一,由葛根、黄芩、黄连、炙甘草4味药组成。方中葛根为主药,具有解肌透表的作用;黄芩、黄连苦寒,清除里热,甘草和中安正,解热毒。诸药合用共奏解表清里、解肌散邪之功。葛根芩连汤的活性成分包括黄芩苷(黄酮类)、葛根素(异黄酮)、小檗碱(生物碱)与甘草酸(三萜皂苷类)^[11-12]。现代药理研究证明,葛根芩连汤具有解热、解痉、增强免疫、降糖等作用^[13-15]。

FBG反映瞬时血糖的变化,而HbA1c和GSP可反映出血糖长期控制水平^[16]。本研究结果表明,葛根芩连汤剂量为4.95~28.05 g/kg时均可使糖尿病模型大鼠FBG、HbA1c和GSP水平与Fins、IRI降低($P<0.01$)。当葛根芩连汤剂量为18.15 g/kg时,对模型大鼠HbA1c、GSP Fins影响最强。2型糖尿病的发病机制主要为胰岛素抵抗及胰岛素分泌障碍,因此改善胰岛素抵抗、增加胰岛素敏感性是治疗糖尿病的途径之一。当葛根芩连汤剂量为21.45 g/kg时,对模型大鼠FBG、IKI影响最强。

综上,葛根芩连汤对2型糖尿病模型大鼠具有一定保护作用。

参考文献

[1] Rild S, Roglic G, Green A, et al. Global prevalence of diabetes estimates for the year 2000 and projected for

2030[J]. *Diabetes Care*, 2004, 27(6): 1 047.

[2] 方飞,吴新荣,郑鹏成.中药复方制剂降血糖机制的研究进展[J]. *中药材*, 2011, 34(6): 996.

[3] 赵林华,连凤梅,姬航宇,等.仝小林教授运用不同剂量葛根芩连汤治疗2型糖尿病验案[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(4): 249.

[4] 傅延龄,蔡坤坐,宋佳.方药剂量关系文献与理论研究的思考[J]. *北京中医药大学学报*, 2010, 33(9): 601.

[5] 田春雨,刘志霞,王亚,等.双益降糖方对2型糖尿病大鼠糖、脂代谢的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(9): 177.

[6] 常秀亭,李婕,谢曦,等.糖脉交泰胶囊对高糖高脂糖尿病大鼠糖脂代谢及肝脏葡萄糖激酶、低密度脂蛋白受体的影响[J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(2): 234.

[7] 高秀娟,林清,姚荣妹,等.双黄降糖胶囊对2型糖尿病模型大鼠血糖、糖耐量及血脂的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(14): 3 363.

[8] 党旭云,景桂霞,常建华,等.磷酸肌酸对糖尿病大鼠心肌缺血再灌注损伤心功能的影响[J]. *西安交通大学学报: 医学版*, 2013, 34(3): 353.

[9] 黎同明,邓敏贞.石斛合剂对2型糖尿病模型大鼠的降糖作用及其对胰岛细胞凋亡的影响[J]. *中药材*, 2012, 35(5): 765.

[10] 顾红岩,喇孝瑾,白素芬,等.栝蒌根散对糖尿病模型大鼠血糖、血脂的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(15): 144.

[11] 王跃,安靓,张艺竹,等.葛根芩连汤配伍对黄连生物碱肠吸收特性的影响[J]. *中成药*, 2013, 35(6): 1 170.

[12] 陈丽红,唐于平,王强.葛根芩连汤的现代研究进展[J]. *中草药*, 2010, 41(4): 8.

[13] 毛莹,张贵君,刘晶晶,等.葛根芩连汤中14种药效组分的HPLC分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(2): 108.

[14] 毛海梅,张效科,季小玲,等.芪药消渴胶囊比较葛根芩连汤对高脂膳食诱导追赶生长模型大鼠IR及IL-6、TNF- α 的影响[J]. *陕西中医学院学报*, 2012, 35(2): 61.

[15] 金莉,安文灿,安文铎.葛根芩连汤治疗糖尿病120例[J]. *长春中医药大学学报*, 2012, 28(2): 315.

[16] Perry RC, Shankar RR, Fineberg N, et al. Early Diabetes Intervention Program (EDIP). HbA1c measurement improves the detection of type 2 diabetes in high-risk individuals with nondiagnostic levels of fasting plasma glucose: the early diabetes intervention program (EDIP) [J]. *Diabetes Care*, 2001, 24(3): 465.

(收稿日期:2014-02-26 修回日期:2014-04-11)