

黄连联合葛根用药对大鼠的降血糖作用

陈丹丹 孙 琛 卫培峰

(陕西中医药大学, 咸阳, 712046)

摘要 目的:研究黄连联合葛根用药对高血糖大鼠的降血糖作用。方法:选取SD大鼠,采用链脲佐菌素腹腔注射造模,将造模成功的大鼠(血糖 ≥ 11.1 mmol/L)随机分为空白对照组、模型组、二甲双胍组、黄连-葛根大、中、小剂量组,连续给药21 d后,观察黄连-葛根大、中、小剂量组高血糖大鼠血糖、胰岛素敏感指数、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-P_x)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)的影响。结果:黄连-葛根大、中、小剂量可以明显降低高血糖大鼠的血糖值,提高大鼠的胰岛素敏感指数,升高大鼠体内CAT、GSH-P_x和SOD活力,降低MDA水平。结论:黄连-葛根大、中、小剂量可以明显降低高血糖大鼠的血糖值,提高小鼠的抗氧化能力,提高大鼠的胰岛素敏感指数并降低胰岛素抵抗力。

关键词 黄连联合葛根用药;降血糖作用;黄连;葛根;血糖;胰岛素敏感指数;抗氧化作用;胰岛素抵抗力

Study on Hypoglycemic Effects of the Combination of Rhizoma Coptidis and Radix Puerariae Lobatae on Rats

Chen Dandan, Sun Chen, Wei Peifeng

(Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China)

Abstract Objective: To study on hypoglycemic effects of the combination of Rhizoma Coptidis and Radix Puerariae Lobatae on rats. **Methods:** SD rats were selected. Streptozotocin was injected into abdomen for molding. Rat with successful molding (blood sugar ≥ 11.1 mmol/L) were randomly divided into the following groups: blank control group, model group, metformin group, Rhizoma Coptidis and Radix Puerariae Lobatae groups of high-dose, middle-dose and low-dose. After giving medicine for 21 days, blood sugar, the insulin sensitivity index, CAT, SOD, GSH-P_x and MDA in serum of high blood rats, were observed in Rhizoma Coptidis and Radix Puerariae Lobatae groups of high-dose, middle-dose and low-dose. **Results:** The high-dose, middle-dose and low-dose of Rhizoma Coptidis and Radix Puerariae Lobatae could apparently reduce blood sugar value of hyperglycemia rats, significantly improved the insulin sensitivity index, significantly increased the vitality of CAT, GSH-P_x, SOD in rats and lowered the content of MDA. **Conclusion:** The high-dose, middle-dose and low-dose of Rhizoma Coptidis and Radix Puerariae Lobatae could apparently reduce blood sugar value of hyperglycemia rats, improve antioxidant ability of rats and reduce insulin sensitivity index of rats.

Key Words Combination of Rhizoma Coptidis and Radix Puerariae Lobatae; Hypoglycemic effects; Rhizoma Coptidis; Radix Puerariae Lobatae; Blood sugar value; Insulin sensitivity index; Anti-oxidation effect; Insulin resistance

中图分类号: R282 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2018.10.047

现今,糖尿病已经成为世界性疾病,是除了癌症及心脑血管疾病以外危害人类的第3大疾病。近年糖尿病的发病率逐年攀升并且越来越年轻化,在我国糖尿病患病率已上升至11.6%,有近5亿人有早期糖尿病^[1]。糖尿病在中医中属于“消渴”范畴,《黄帝内经》中早已提出消渴概念,如《素问·奇病论》曰:“此人必数食甘美而多肥也,肥者令人内热,甘者令人中满,故其气上溢,转为消渴”。《黄帝内经》中记载的“消瘴、肺消、膈消、消中”等,指消渴病的病机主要是肺燥、胃热、肾虚,3者往往同时存在^[2]。研究表明,葛根芩连汤有降血糖作用,其主要有效成分为“葛根-黄连”药对^[3-5]。葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 或甘葛藤 *Pueraria thomsonii* Benth. 的干燥根,药性为甘、辛,凉。归脾、胃、肺经。功效解肌退热,生津止渴,透疹,升阳止

泻,通经活络,解酒毒。研究表明葛根的水煎剂可以明显降低高血糖小鼠的血糖,并且抑制血糖的升高^[6-7]。黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao. 或云连 *Coptis teeta* wall. 的干燥根茎,药性苦寒,功效清热燥湿,泻火解毒。现代研究表明,黄连可以降低糖尿病小鼠的血糖,其主要有效成分为其中的生物碱类^[8]。目前黄连-葛根药对在临床上较多用于治疗高血糖及糖尿病及其并发症^[9-11]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SD大鼠,雄性体重180~200 g。由西安交通大学医学院实验动物中心提供,许可证号:SCXK(陕)2012-003。大鼠饲养于SPF动物实验室,温度(20 $\pm$ 5) $^{\circ}$ C,湿度(55 $\pm$ 5)%。

基金项目:陕西中医药大学校级课题(2015QN25)

作者简介:陈丹丹(1980.10—),女,硕士,讲师,研究方向:中药提取物分离及药理作用研究,E-mail:chendandan2017@sina.com

通信作者:卫培峰(1972.06—),男,博士,医学教授,硕士研究生导师,研究方向:中药学,E-mail:weipeifeng@163.com

1.1.2 药物 二甲双胍(石家庄市华新药业有限公司,国药准字 H20060164)。黄连与葛根购自陕西省药材市场,经鉴定为黄连和葛根。黄连与葛根水提液,本实验室自制,制备方法为用蒸馏水煎煮药材,得到水提液后浓缩成浸膏,再冷冻干燥为粉末,获得率约为 26%,剂量为 2.5 g/d。

1.1.3 试剂与仪器 链脲佐菌素(STZ)(Sigma 公司);超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(南京建成生物科技有限公司,生产批号:20160115);谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-P_x)试剂盒(南京建成生物科技有限公司,生产批号:20160109);过氧化氢酶(CAT)试剂盒(南京建成生物科技有限公司,生产批号:20160118);丙二醛(MDA)试剂盒(南京建成生物科技有限公司,生产批号:20160113);葡萄糖(成都蓉药集团四川长威制药有限公司,国药准字 H51020441)。电子天平(赛多利斯,Practum-5101-1CN);离心机(上海雅程仪器设备有限公司,TGL-20B);血糖仪(三诺生物传感股份有限公司);血糖试纸(三诺生物传感股份有限公司),安准血糖试纸。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 SD 大鼠 60 只,体重 180~200 g,在正常条件下喂养 7 d,根据体重随机分成 6 组(空白对照组与 5 组造模组),每组 10 只。其中空白对照组喂养普通饲料,其余各组除喂养饲料外每天喂养葡萄糖水(30 g/kg)。造模组第 1、7、17 天腹腔注射链脲佐菌素(STZ)溶液 30 mg/kg(在冰浴中用 0.1 mol/mL 柠檬酸-枸橼酸钠缓冲液配置),空白对照组腹腔注射生理盐水 30 mg/kg。21 d 后检测空腹血糖,血糖值大于 11.1 mmol/L 为造模成功。取造模成功的大鼠,根据血糖值用随机区组法分成 5 组每组 10 只,分别为模型组、二甲双胍组、黄连-葛根大剂量组、黄连-葛根中剂量组、黄连-葛根小剂量组。空白对照组 10 只。

1.2.2 给药方法 给药期间各组大鼠喂以水和普

通饲料,各组分别灌胃给药剂量如下:二甲双胍灌胃给药(0.3 g/kg),黄连-葛根大、中、小剂量组(0.2 g/kg、0.4 g/kg、0.8 g/kg)。空白对照组和模型组给予同样剂量的生理盐水。连续灌胃给药 27 d,每次灌胃给药的体积以每 100 g 给予 1 mL 计算。

1.2.3 检测指标与方法 各组大鼠分别于给药后 7 d、17 d、27 d 尾静脉取血测定大鼠的空腹血糖并记录实验结果。实验期间每天记录大鼠体重。于灌胃给药的 28 天,禁食不禁水,并于第 29 天早上用 3% 的戊巴比妥钠(45 mg/kg)麻醉大鼠,主动脉取血,静置,用离心机离心(3 000 r/min)10 min,迅速分离血清,将血清置于冰箱(海尔,BCD-206LST)中贮存,分别测量其 SOD、GSH-P_x、CAT、MDA 指标。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件处理数据,剔除异常数据,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 6 组大鼠空腹血糖比较 各给药组血糖和空白对照组比较发现差异有统计学意义($P < 0.05$)说明造模成功。黄连-葛根大、中、小剂量组给药后 7、17、27 d 均能显著降低高血糖大鼠的空腹血糖($P < 0.05$)。二甲双胍组在给药后 7、17、27 d 和模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 对大鼠胰岛素敏感指数(INS)的影响 胰岛素敏感指数(INS) = $\ln[1/(\text{胰岛素} \times \text{空腹血糖})]$ 。各给药组与模型组比较,大鼠血清胰岛素水平明显下降,胰岛素敏感指数明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 黄连-葛根联合用药对大鼠 CAT、SOD、GSH-P_x、MDA 的影响 模型组的 CAT、SOD、GSH-P_x 水平与空白对照组比较明显降低($P < 0.05$),MDA 水平与空白对照组比较有显著性升高($P < 0.05$),说明造模成功。黄连-葛根大、中、小剂量组合和模型组比较均可显著升高 CAT、SOD、GSH-P_x 水平($P <$

表 1 黄连-葛根对高血糖大鼠空腹血糖的影响($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	给药前	给药后 7 d	给药后 17 d	给药后 27 d
空白对照组($n=10$)	6.17 ± 0.37	6.38 ± 1.59	5.94 ± 0.92	6.08 ± 1.24
模型组($n=10$)	18.21 ± 3.54 *	22.34 ± 2.44 *	24.63 ± 2.61 *	25.57 ± 2.39 *
二甲双胍组($n=10$)	18.18 ± 4.03 *	18.51 ± 2.42 * [△]	19.23 ± 2.35 * [△]	19.79 ± 3.54 * [△]
黄连-葛根大剂量组($n=10$)	18.42 ± 3.49 *	18.31 ± 2.66 * [△]	19.75 ± 1.90 * [△]	20.07 ± 3.46 * [△]
黄连-葛根中剂量组($n=10$)	18.22 ± 4.16 *	18.71 ± 2.93 * [△]	20.12 ± 2.48 * [△]	20.64 ± 2.92 * [△]
黄连-葛根小剂量组($n=10$)	18.35 ± 3.84 *	19.75 ± 1.77 * [△]	20.38 ± 2.59 * [△]	21.14 ± 2.99 *

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$

表2 血清胰岛素及胰岛素敏感指数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	血清胰岛素 (mmol/L)	INS
空白对照组($n=10$)	12.63 $\pm$ 1.75 [△]	-1.89 [△]
模型组($n=10$)	21.72 $\pm$ 1.38 [*]	-2.74
二甲双胍组($n=10$)	13.59 $\pm$ 2.37 ^{*△}	-2.43 ^{*△}
黄连-葛根大剂量组($n=10$)	12.83 $\pm$ 1.85 ^{△*}	-2.41 ^{*△}
黄连-葛根中剂量组($n=10$)	13.17 $\pm$ 1.61 [△]	-2.43 ^{*△}
黄连-葛根大剂量组($n=10$)	13.32 $\pm$ 1.52 [△]	-2.45 [*]

注:与空白对照组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[△] $P<0.05$

表3 黄连-葛根对大鼠CAT、SOD、GSH-P_x、MDA的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	CAT(U/mL)	SOD(U/mL)	GSH-P _x (U/mL)	MDA(nmol/mL)
空白对照组($n=10$)	3.69 $\pm$ 1.33 [*]	71.63 $\pm$ 3.68 [*]	95.69 $\pm$ 11.71 [*]	4.73 $\pm$ 1.75 [*]
模型组($n=10$)	1.31 $\pm$ 0.86 [△]	45.71 $\pm$ 5.34 [△]	69.31 $\pm$ 9.59 [△]	12.59 $\pm$ 1.26 [△]
二甲双胍组($n=10$)	3.37 $\pm$ 0.81 [*]	68.58 $\pm$ 3.21 [*]	92.35 $\pm$ 10.32 [*]	5.17 $\pm$ 1.28 [*]
黄连-葛根大剂量组($n=10$)	3.46 $\pm$ 0.95 [*]	66.61 $\pm$ 4.26 [*]	95.12 $\pm$ 11.97 [*]	6.28 $\pm$ 1.07 [*]
黄连-葛根中剂量组($n=10$)	2.97 $\pm$ 1.08 [*]	60.43 $\pm$ 2.12 [*]	93.97 $\pm$ 8.74 [*]	6.57 $\pm$ 1.37 [*]
黄连-葛根大剂量组($n=10$)	3.13 $\pm$ 1.21 [*]	58.21 $\pm$ 5.36 [*]	91.78 $\pm$ 8.82 [*]	6.98 $\pm$ 0.79 [*]

注:与模型组比较,^{*} $P<0.05$;与空白对照组比较,[△] $P<0.05$

0.05),显著降低MDA水平($P<0.05$);二甲双胍组与模型组比较CAT、SOD、GSH-P_x水平显著升高($P<0.05$),MDA水平显著降低($P<0.05$)。见表3。

3 讨论

黄连-葛根为古籍记载经典药对,自古在民间就用其治疗消渴症,关于黄连联合葛根用药的配比,在之前的研究中主要以《伤寒论》中的经典名方葛根芩连汤为基础,并运用基线等比法最终确定黄连-葛根的最佳配比为8:3。

黄连-葛根具有较好的降血糖作用,其中黄连具有清热燥湿、泻火解毒的作用,其黄连水煎液、小檗碱均能抗糖尿病。葛根具有解肌退热,生津止渴,透疹,升阳止泻,通经活络,解酒毒的作用,葛根具有降血糖、降血脂、抗氧化作用。黄连-葛根联用能够增强其降血糖作用,具有很高的研究价值。

现代研究表明,造成2型糖尿病的因素有:缺乏锻炼、摄入高热量食品、肥胖、年龄增长等^[12]。本实验采用除喂养正常饲料外每天灌服高浓度葡萄糖水,并于实验第1、7、17天腹腔注射链脲佐菌素,喂养21d后测定空腹血糖值,发现大鼠空腹血糖值明显上升,说明造模成功。模型大鼠表现为多饮、多食、多尿、情绪焦躁且皮毛不光滑等,明显的高血糖症状。实验结果表明黄连-葛根联合用药能够明显降低高血糖大鼠的血糖值并提高胰岛素敏感指数,可显著升高CAT、SOD、GSH-P_x水平,降低MDA水平。说明降血糖作用可能与氧化应激有所关联,为今后进一步研究奠定了基础。

参考文献

[1] Xu Y, Wang L, He J, et al. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults[J]. JAMA,2013,310(9):948.

[2] 王米渠,吴斌,严石林,等.论虚寒证基因芯片及生物信息的高起点切入研究——分子中医研究系列报道(1)[J].中医杂志,2003,30(3):169-171.

[3] 赵林华,连凤梅,姬航宇,等.全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):249-251.

[4] 陈新,黄静,李盼盼,等.黄连生物碱对糖尿病小鼠降糖和氧化应激作用研究[J].亚太传统医药,2012,4(4):24-25.

[5] 杜力军,徐治国,於兰,等.从葛根黄酮的药理作用探讨其中药药性[J].中医杂志,1998,39(10):626-628.

[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):56-58.

[7] 张再超,叶希韵,徐敏华,等.葛根黄酮降血糖防治糖尿病并发症的实验研究[J].华东师范大学学报:自然科学版,2010,3(2):77-81.

[8] 陈东方,张聪恪,高慧艳,等.葛根胶囊对2型糖尿病患者辅助降糖功能观察[J].中国卫生检验杂志,2014,24(16):2365-2367.

[9] 鲍国瑞.加味葛根黄芩黄连汤治疗糖尿病38例[J].云南中医中药杂志,2014,35(3):46-47.

[10] 陈新,黄静,李盼盼,等.黄连生物碱对糖尿病小鼠降糖和氧化应激作用研究[J].亚太传统医药,2012,8(4):24-25.

[11] 马燕,袁月新,张俊梅,等.黄连相关中药复方治疗糖尿病及其并发症的研究概况[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(12):272-275.

[12] 翁建平.对糖尿病流行病学、循证医学及基础研究的探索[J].中山大学学报(医学科学版),2010,31(2):166-171.