

基于基线等比增减设计法优选葛根-黄连抗消渴最佳配比

王霜¹, 赵兴冉¹, 南星梅¹, 谭睿², 顾健^{1*}

(1. 西南民族大学民族医药研究院, 成都 610041;

2. 西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610031)

[摘要] 目的: 通过不同配比葛根-黄连(葛-黄)对不同模型糖尿病小鼠血糖影响, 对链尿佐菌素(STZ)复合高脂饲料喂养致糖尿病小鼠模型血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)含量的影响, 探索葛根-黄连伍用抗消渴的最佳配比方案。方法: 雄性 SPF 级小鼠, 对正常小鼠血糖影响实验随机分为空白组、二甲双胍组(0.5 g·kg⁻¹)、葛-黄 0:10, 8:3, 6:5, 3:8, 10:0 组(4 g·kg⁻¹); 对四氧嘧啶和 STZ 所致糖尿病小鼠实验, 造模 72 h 后尾尖取血测定小鼠空腹血糖(FBG), 成模小鼠随机分为空白组、模型组、二甲双胍组、葛-黄 10:0, 8:3, 6:5, 3:8, 0:10 组, 给药后 7, 14 d 分别观察不同配比葛-黄对正常小鼠及四氧嘧啶致糖尿病小鼠 FBG 的影响, 对 STZ 复合高脂饲料致糖尿病小鼠 FBG, TC, TG 的影响。结果: 葛-黄 10:0, 8:3, 6:5, 3:8, 0:10 这 5 组均能明显降低四氧嘧啶致高血糖小鼠模型和 STZ 复合高脂饲料喂养致糖尿病小鼠模型空腹血糖, 降低 STZ 复合高脂饲料致糖尿病小鼠模型血清 TG, TC 含量, 同时降低正常小鼠空腹血糖, 其中降糖、降低 TG, TC 效果葛-黄 3:8 组疗效突出($P < 0.01$), 黄连单味药次之。结论: 葛根、黄连单用及伍用抗消渴疗效确切, 能明显改善糖尿病相关生化指标, 伍用后药效优于单味药且存在最佳配比。

[关键词] 葛根; 黄连; 伍用; 空腹血糖

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)20-0128-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014200128

[收稿日期] 20140508(014)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09103-002-014); 成都市科技局项目(11DXYB263JH-027); 西南民族大学研究生创新型科研项目(CX2014SZ64)

[第一作者] 王霜, 硕士研究生, 从事民族药物及中药的研究开发, Tel:18683939133, E-mail:cindywangkx1108@sina.com

[通讯作者] * 顾健, 博士, 教授, 博士生导师, 从事民族药物及中药的研究开发, Tel:028-85523968, E-mail:gujianed@163.com

实验中测定 APP 的指标中可见, 与对照组比较, 模型组小鼠海马组织 APP 含量明显增加($P < 0.05$), 说明模型组 APP 含量多; 与模型组比较, BYHWD 高、中剂量组小鼠海马组织 APP 含量明显降低($P < 0.05$), 说明 BYHWD 高、中剂量对小鼠海马组织 APP 影响明显。提示采用 BYHWD 高、中剂量治疗 AD 效果好, 也说明 AD 的发病与 APP 相关, BYHWD 可以通过抑制 APP 来达到治疗 AD 的目的。

综上所述, BYHWD 可以改善 APP/PS1 双转基因小鼠学习、记忆能力, 降低 APP 的水平, 减轻 AD 的症状, 提示 BYHWD 可通过降低 APP 的水平改善小鼠的行为学指标, 具体机制还有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] 孙博, 费洪新, 姜波, 等. 阿尔茨海默病发病机制初探[J]. 中医药信息, 2014, 31(3): 26.
- [2] 刘俊娥, 张继平. 补阳还五汤药效物质基础的研究进展[J]. 中医药信息, 2012, 29(5): 117.
- [3] 王晚霞, 李荣亨. 补阳还五汤作用机制研究进展[J].

中西医结合心脑血管病杂志, 2008, 6(5): 574.

- [4] 邱顺辉, 章常华, 高书亮, 等. 补阳还五汤抗动脉粥样硬化与间隙连接蛋白关系的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 161.
- [5] 韩雪燕, 李宝龙, 刘旭, 等. 补阳还五汤对 AD 大鼠血清中胰岛素含量影响的实验研究[J]. 中医药信息, 2010, 27(1): 93.
- [6] 韩玉生, 周忠光. 补阳还五汤对 $A\beta_{1-40}$ 所致老年性痴呆大鼠海马区 β 淀粉样前体蛋白及相关基因表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(1): 9.
- [7] 周忠光, 韩玉生, 姜波, 等. 补阳还五汤及拆方对 $A\beta_{1-40}$ 所致 AD 大鼠血清与海马组织 $A\beta$ 和细胞因子含量的影响[J]. 山西医药杂志, 2008, 37(2): 129.
- [8] 刘旭, 李宝龙, 周忠光, 等. 补阳还五汤胶囊对 $A\beta_{1-40}$ 所致 AD 大鼠免疫功能影响的实验研究[J]. 中医药信息, 2012, 29(2): 36.
- [9] 周妍妍, 刘艳丽, 董春雪, 等. 五味子醇甲对 APP/PS1 双转基因痴呆模型小鼠脑组织突触素、 α 突触核蛋白表达的影响[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(8): 1076.

[责任编辑 聂淑琴]

Optimization of the Best Ratio of *Puerariae Lobatae Radix* and *Coptidis Rhizoma* Against Diabetes Based on Increase-decrease Baseline Geometric Proportion Design Method

WANG Shuang¹, ZHAO Xing-ran¹, NAN Xing-mei¹, TAN Rui², GU Jian^{1*}

(1. Institute of National Medicine, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China;

2. School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the influence of different proportions of *Puerariae Lobatae Radix* (PLR) and *Coptidis Rhizoma* (CR) on fasting blood glucose (FBG) of different diabetic mice model, and serum triglyceride (TG) and total cholesterol (TC) levels of diabetic mice mode induced by streptozotocin (STZ), further to explore the best ratio of PLR and CR against diabetes. **Method:** Male SPF mice were randomly divided into blank control group, metformin group, PLR and CR 10:0, 8:3, 6:5, 3:8, 0:10 groups; the mice diabetes model was induced by alloxan and STZ, the tail blood was collected to determine the levels of FBG after 72 hours, the die mice were randomly divided into control group, model group, metformin group, PLR-CR 10:0, 8:3, 6:5, 3:8, 0:10 groups. To observe impact of different proportions of PLR and CR on the FBG of normal mice and alloxan-induced diabetic mice, FBG, TC and TG levels were measured. **Result:** 10:0, 8:3, 6:5, 3:8, 0:10 all groups could significantly reduce the FBG in mice induced by alloxan or STZ, reduce the serum TG and TC levels in mice induced by STZ combined with high fat diet. The group with 3:8 of PLR to CR had more obvious effect than CR group. **Conclusion:** The single and combined administration of PLR and CR and have efficacy against diabetes, and could significantly improve diabetes-related biochemical marker. The combine administration is better than single one.

[Key words] *Puerariae Lobatae Radix*; *Coptidis Rhizoma*; combine compatibility of traditional Chinese medicine; fasting blood glucose

葛根芩连汤出自于张仲景《伤寒论·太阳篇》，由葛根、黄芩、黄连、甘草 4 味药组成，有清泄里热、解肌散邪之功效，主治表证未解、邪热入里等证。现代药理研究的深入研究表明，葛根芩连汤有治疗 2 型糖尿病的确切疗效，全小林教授运用不同剂量葛根芩连汤治疗 2 型糖尿^[1-2]，证实了葛根芩连汤治疗糖尿病的药效。经过拆方研究，方中“葛根-黄连”药对是降糖的主要有效成分^[3-6]，黄连能够降低糖尿病小鼠血糖，降低正常小鼠肝脏糖原含量，降低糖尿病大鼠丙二醛 (MDA)、内皮素-1 (ET-1)、细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 等水平，提高一氧化氮 (NO) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 水平；葛根能够改善糖尿病小鼠的糖耐量，降低肾上腺素的升血糖作用，改善组织细胞对胰岛素敏感性。而其拆方后最佳比例是否仍为《中国药典》记载的 8:3，课题组以基线等比法^[7-9]为基础，以药典中记载配比葛根: 黄连 8:3 为基线向两侧扩展，直至扩大到极大点 (葛根: 黄连

10:0, 葛根: 黄连 0:10), 最后形成葛-黄 10:0, 8:3, 6:5, 3:8, 0:10 配比组, 探索“葛根-黄连”药对降低糖尿病小鼠血糖的药理作用机制, 优选最佳配比。

1 材料

1.1 动物 雄性 SPF 级 ICR 小鼠, 体重 18 ~ 22 g, 由四川省医学科学院实验动物研究所提供, 合格证号 SCXK(川)2008-24。

1.2 药材 葛根、黄连购于四川省成都市荷花池药材市场, 经西南民族大学民族药物研究所顾健教授鉴定为藤本植物野葛 *Pueraria lobatae* 的块根、毛茛科植物云连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎。

1.3 试剂及设备 盐酸二甲双胍片 (北京四环制药有限公司生产, 批号 20130703), 四氧嘧啶、链脲佐菌素 (STZ, Sigma 公司)。稳豪倍易型血糖仪 (Onetouch UltraEasy) 及配套血糖试纸 [强生 (中国) 医疗器材有限公司], 艾柯 AKRY-UP-1824 超纯水机 (台湾艾柯) 成都康宁实验专用纯水设备厂。

2 方法

2.1 药品的制备 称取葛根、黄连药材,按葛根:黄连药对(葛-黄)质量比 10:0,8:3,6:5,3:8,0:10 混合药材,打成粗粉,分别用 10, 8, 8 倍量蒸馏水提取 3 次,合并煎液,减压浓缩煎液相当于原生药至 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.2 对正常小鼠空腹血糖(FBG)的影响 小鼠 70 只,按体重随机分为 7 组,分别为空白组、二甲双胍组、葛-黄 0:10,8:3,6:5,3:8,10:0 组,二甲双胍组按 $0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,葛-黄配比组按 $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃 *ig* 给药,,每日 *ig* 给药 1 次,连续 14 d,分别于第 7,14 天末次给药后 1 h(禁食不禁水 4 h),小鼠尾尖取血测定 FBG。

2.3 对四氧嘧啶致小鼠高血糖模型的影响 小鼠按体重分层随机选出 10 只作为空白组,剩余小鼠实验前禁食不禁水 18 h 后尾静脉注射 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 四氧嘧啶溶液,空白组注射等量生理盐水。造模 72 h 后,小鼠尾尖取血测定 FBG,以 $\text{FBG} \geq 11.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为成模标准。选取成模小鼠进入正式试验,将成模小鼠按体重分层随机分为 7 组。分组和 *ig* 给药剂量同 2.2,每日给药 1 次,连续 14 d,分别于第 7,14 天末次给药后 1 h(禁食不禁水 4 h),小鼠尾尖取血测定 FBG。

2.4 对 STZ 复合高脂饲料致 2 型 DM 模型的影响 小鼠按体重分层随机选出 10 只作为空白组,其余小鼠实验前禁食不禁水 18 h 后腹腔注射 STZ 缓冲溶液 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,参照 2.3 中标准选取成模小鼠进入正式试验,试验中给予含 35% 脂肪的高脂饮食。给药各组分和 *ig* 给药剂量同 2.2,每日给药 1 次,连续 14 d,分别于第 7,14 天末次给药后 1 h(禁食不禁水 4 h),小鼠尾尖取血,测定 FBG。第 14 天末次给药后 2 h 眼眶取血,将血液以 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min,取上层血清,按试剂盒说明书要求分别测定小鼠血清甘油三酯(TG)和胆固醇(TC)。

2.5 统计方法 SPSS 18.0 统计学软件进行数据处理,以不同给药组 FBG,TC,TG 值与模型组进行组间比较,*t* 检验判断其显著性, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对正常小鼠 FBG 的影响 与空白组对照,葛-黄各配比组均能降低正常小鼠空腹血糖,且黄连单味药效果较优。见表 1。

3.2 对四氧嘧啶致糖尿病小鼠血糖的影响 四氧

表 1 不同配比葛根-黄连对正常小鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	血糖/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$		
		给药前	药后 7 d	药后 14 d
空白	-	4.41 ± 0.42	4.53 ± 0.35	4.33 ± 0.38
二甲双胍	0.5	4.37 ± 0.35	4.17 ± 0.17	4.05 ± 0.22
葛根	4	4.45 ± 0.30	4.60 ± 0.26	4.52 ± 0.21
葛-黄 8:3	4	4.26 ± 0.25	4.27 ± 0.40	4.23 ± 0.55
葛-黄 6:5	4	4.49 ± 0.45	4.57 ± 0.15	4.51 ± 0.21
葛-黄 3:8	4	4.63 ± 0.47	4.52 ± 0.21	4.46 ± 0.21
黄连	4	4.72 ± 0.21	4.44 ± 0.38	4.27 ± 0.12 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

嘧啶尾静脉注射 72 h 后,小鼠出现“三多一少”(多食、多饮、多尿和体重降低)的典型糖尿病症状,空腹血糖检测均 $> 11 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。与模型组对照,葛-黄各配比组灌胃给药后,糖尿病小鼠血糖均明显降低,且葛-黄 3:8 组($P < 0.01$)和黄连组($P < 0.01$)效果突出,7,14 d 降糖率分别为 30.73%,25.31%和 37.46%,34.68%。见表 2。

表 2 不同配比葛根-黄连药对对四氧嘧啶致糖尿病小鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	血糖/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$		
		给药前	药后 7 d	药后 14 d
空白	-	4.40 ± 0.26	4.53 ± 0.25	4.73 ± 0.15
模型	-	23.93 ± 1.81	21.83 ± 2.75	22.39 ± 2.08
二甲双胍	0.5	23.1 ± 1.50	15.23 ± 1.31 ²⁾	12.80 ± 2.36
葛根	4	22.23 ± 2.31	18.27 ± 2.25	17.14 ± 2.50 ¹⁾
葛-黄 8:3	4	22.80 ± 1.44	18.03 ± 1.65 ¹⁾	16.63 ± 1.91 ²⁾
葛-黄 6:5	4	22.53 ± 1.61	17.81 ± 1.38 ²⁾	15.97 ± 2.25 ²⁾
葛-黄 3:8	4	23.20 ± 1.98	16.07 ± 1.82 ²⁾	14.51 ± 1.75 ²⁾
黄连	4	23.47 ± 1.95	17.53 ± 1.37 ²⁾	15.33 ± 2.21 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 3~4 同)

3.3 对 STZ 复合高脂饲料致 2 型 DM 模型的影响 如表 3 所示,ip STZ 36 h 后,空腹血糖监测均 $> 11 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。与模型组对照,二甲双胍组和葛-黄各给药组均能降低糖尿病小鼠血糖及 TC, TG, 且降糖效果葛-黄 3:8 组($P < 0.01$)疗效最优,7 d 和 14 d 降糖率分别为 36% 和 42.83%,降低 TG, TC 效果葛-黄 3:8 组和黄连组疗效突出。

4 讨论

葛根芩连汤作为《伤寒论》中的经典名方,沿用至今已有 1800 余年,从最初主治表证未解,邪热入里证到现在广泛应用于糖尿病的治疗^[10],已取得显著成效。方中葛根、黄连单味药抗消渴研究较多,而

表3 不同配比葛根-黄连对STZ复合高脂饲料致2型DM模型血糖的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	血糖/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$		
		药前	药后7 d	药后14 d
空白	-	4.67 ± 0.34	4.87 ± 0.42	4.78 ± 0.37
模型	-	26.75 ± 2.87	25.83 ± 3.08	27.39 ± 2.71
二甲双胍	0.5	26.12 ± 3.57	17.27 ± 3.12 ²⁾	13.04 ± 4.22 ²⁾
葛根	4	27.23 ± 3.13	22.21 ± 3.24 ¹⁾	21.01 ± 2.41 ¹⁾
葛-黄 8:3	4	26.48 ± 2.81	20.08 ± 2.19 ²⁾	19.41 ± 2.39 ²⁾
葛-黄 6:5	4	26.53 ± 2.75	19.32 ± 3.27 ²⁾	18.17 ± 3.17 ²⁾
葛-黄 3:8	4	27.20 ± 2.99	17.41 ± 2.16 ²⁾	15.55 ± 3.19 ²⁾
黄连	4	26.47 ± 3.17	18.52 ± 2.25 ²⁾	16.01 ± 2.35 ²⁾

表4 不同配比葛根-黄连药对对STZ复合高脂饲料致2型DM模型血脂的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	TC/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$		TG/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	
		TC/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	TG/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	TC/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	TG/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$
空白	-	1.821 ± 0.21 ²⁾	0.723 ± 0.18 ²⁾		
模型	-	2.623 ± 0.31	1.262 ± 0.21		
二甲双胍	0.5	2.094 ± 0.29 ²⁾	0.816 ± 0.12 ²⁾		
葛根	4	2.586 ± 0.40	1.277 ± 0.11		
葛-黄 8:3	4	2.318 ± 0.21	1.092 ± 0.12 ¹⁾		
葛-黄 6:5	4	2.443 ± 0.23	1.055 ± 0.13 ¹⁾		
葛-黄 3:8	4	2.056 ± 0.20 ²⁾	0.905 ± 0.18 ²⁾		
黄连	4	2.153 ± 0.27 ¹⁾	0.963 ± 0.20 ²⁾		

本实验组以葛根芩连汤和基线等比法为基础,探索葛根-黄连伍用抗消渴的实验表明:拆方后最优配伍比例发生改变,由原方葛根:黄连 8:3改变为葛根:黄连 3:8,这可能是因为原方含有葛根、黄芩、黄连和甘草4味药,合煎时由于甘草的存在使pH降低,降低了黄连有效成分的煎出率,同时黄芩和甘草对葛根和黄连的降糖作用有一定的拮抗作用^[11-12]。实验证明最优配比组能够明显降低四氧嘧啶和STZ复合高脂饲料致不同类型糖尿病模型血糖,同时能够降低正常小鼠血糖,降低STZ复合高脂饲料致糖

尿病模型TC, TG。说明拆方后葛根和黄连组成的相须药对有明确的“抗消渴”疗效,且葛根和黄连在剂量上最佳比例为葛根:黄连3:8。

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] 傅伯熙.葛根芩连汤的临床应用[J].浙江中医学院学报,1995,19(5):25.
- [3] 李佳川,顾健,谭睿.葛根芩连汤有效组分“止消渴”药效作用研究[J].中药材,2012,35(7):1132.
- [4] 邹文俊,白红艳,高小平.中药葛根改善胰岛素抵抗作用的实验研究[J].中国药理学通报,2004,20(6):715.
- [5] 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.
- [6] 杜利军,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.
- [7] 商洪才,张伯礼,王永炎,等.一种适用于中药小复方配比优选设计方法的建立[J].中国实验方剂学杂志,2003,9(3):1.
- [8] 朱文峰,刘晓萍,曹莹,等.高脂饮食+STZ诱导2型糖尿病动物模型的优化和评价[J].中国热带医学,2010,10(5):529.
- [9] 苗明三,马瑞娟,魏荣瑞.组分中药配比研究方法及其思考[J].河南大学学报:医学版,2011,30(1):1.
- [10] 刘秀英.葛根芩连汤治疗糖尿病经验浅识[J].实用中医内科杂志,2007,7(21):7.
- [11] 吴艳萍.葛根芩连汤配伍主要成分药代动力学研究[D].广州:第一军医大学,2006.
- [12] 曹佩雪,梁光义,李霞葛,等.根芩连汤不同配伍情况下葛根素、黄芩苷、小檗碱的含量比较[J].中国医药学报,2003,18(8):459.

[责任编辑 聂淑琴]