

葛根芩连汤整方剂量变化治疗糖尿病大鼠的量效关系研究

刘玉晖¹, 王跃生^{1,4*}, 王颖怡¹, 张忠伟¹, 余日跃¹, 徐国良², 蔡光先³

(1. 江西中医学院, 南昌 330006; 2. 江西中医学院 现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330006;
3. 湖南中医药大学, 长沙 410208; 4. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] **目的:**探讨葛根芩连汤整方剂量变化治疗2型糖尿病的量效关系, 获得基于药效学的经方“剂量阈”。**方法:**SD大鼠给予高脂饲料喂养4周后按30 mg·kg⁻¹尾iv新鲜配制的STZ(链脲佐菌素)诱导2型糖尿病大鼠模型, 正常对照组注射同体积的柠檬酸盐缓冲液。实验分组: 正常组、糖尿病模型组、葛根芩连汤整方剂量变化的9个剂量组(分别为生药1.65, 4.95, 8.25, 11.55, 14.85, 18.15, 21.45, 24.75, 28.05 g·kg⁻¹)、阳性药物对照组(二甲双胍200 mg·kg⁻¹)、取血检测血糖、胰岛素水平、胰岛素抵抗指数(IR)、糖化血清蛋白(GSP)、糖化血红蛋白(HbA1c)等指标。**结果:**给药10周后, 葛根芩连汤明显降低2型糖尿病大鼠血清中的血糖水平与IR($P < 0.05$, $P < 0.01$)、降低糖化血清蛋白、糖化血红蛋白水平($P < 0.05$, $P < 0.01$)。指标与葛根芩连汤剂量存在着一定的量效关系, 在一定剂量范围内, 随着葛根芩连汤整方剂量的增大, 药效增强, 其“剂量阈”为27.01~1.09 g·kg⁻¹。**结论:**葛根芩连汤整方剂量变化治疗2型糖尿病具有良好的量-效特征。

[关键词] 葛根芩连汤; 2型糖尿病; 血糖; 胰岛素抵抗; 量效关系

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0258-04

[doi] 10.11653/syjf2013120258

Study of Gegen Qinlian Decoction on Type 2 Diabetes in Rats and the Dose-effect Relationship

LIU Yu-hui¹, WANG Yue-sheng^{1,4*}, WANG Yin-yi¹, ZHANG Zhong-wei¹
YU Ri-yue¹, XU Guo-liang², CAI guang-xian³

(1. Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China; 2. Key Laboratory of Modern Preparation Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China; 3. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 4. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Gegen Qinlian decoction on type 2 diabetes in rats and the dose-effect relationship, to obtain the dosage threshold of the classical prescription. **Method:** SD rats were randomly assigned into normal control group and diabetic model group, which was established by injection small dose of streptozotocin (STZ) (30 mg·kg⁻¹) after feeding a diet with high glucose and lipids for 4 weeks. Diabetic rats were randomly assigned into model group, dimethylbiguanide group (200 mg·kg⁻¹) and different dose of Gegen Qinlian decoction groups (1.65, 4.95, 8.25, 11.55, 14.85, 18.15, 21.45, 24.75, 28.05 g·kg⁻¹ accordingly). The serum glucose, insulin, insulin resistance (IR), glycosylated hemoglobin (HbA1c), glycosylated serum protein (GSP) were determined. **Result:** Compared with model group, Gegen Qinlian decoction could decrease serum glucose, insulin, IR, HbA1c and GSP level ($P < 0.05$, $P < 0.01$). As dose of Gegen Qinlian decoction increased, the drug action was more obviously in the specified dose range. The dosage threshold

[收稿日期] 20121119(003)

[基金项目] 国家科技部“973”项目课题(2010CB530603)

[第一作者] 刘玉晖, 博士, 教授, 从事中药药理研究, Tel: 13330105906, E-mail: liuyuhui77@126.com

[通讯作者] *王跃生, 研究员, 从事中药分析研究, Tel: 0791-87119658, E-mail: wylw915@163.com

of Gegen Qinlian decoction on diabetes in rats was $27.01-1.09 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$. **Conclusion:** The effect of Gegen Qinlian decoction on type 2 diabetes in rats shows fine dose-effect relationship.

[Key words] Gegen Qinlian decoction; type 2 diabetes; serum glucose; insulin resistance; dose-effect relationship

葛根芩连汤出自张仲景《伤寒论》,方由葛根、黄芩、黄连、甘草组成,主治太阳病邪热内传、大肠传导失司所致的下利,临床实践表明,葛根芩连汤除能治疗肠炎、细菌性痢疾等肠道疾病外^[1-3],还可治疗糖尿病、脑梗死、心律失常等疾病,临床应用颇为广泛^[4-6]。实验研究证实,此方可明显降低正常小鼠及四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠血糖,能减轻四氧嘧啶引起的氧自由基对胰岛 β 细胞的损害^[1]。

剂量是方剂的中药组成部分,经方为方剂之祖,然而经方的原本剂量是多少,古往今来,众说纷纭。《伤寒论》中方药剂量单位的“两”折合今日为多重,从1,3,7.8,13.8 g直至16.8 g。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与文献以及理论研究的基础^[7]。迄今为止,对于中药经方的量效关系的研究甚少。本研究拟以葛根芩连汤为研究对象,对糖尿病模型动物采用变换剂量的方法,并用动态模式研究方法,考察经方剂量的变化引起药效变化的规律,引入数据挖掘的相关性分析方法,揭示比较全面的剂量与效应的变化规律,建立能够有效沟通“量”与“效”的研究模式,获得基于药效学的经方“剂量阈”,揭示中医方药量-效关系的科学内涵,丰富中医药的剂量理论。

1 材料

1.1 动物 SPF级SD雄性大鼠,体重160~200 g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,动物合格证号HNASKJ20101144。高脂饲料由上海斯莱克实验动物有限公司加工(批号20101013042)。

1.2 试剂与仪器 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,由江西中医学院国家工程研究中心提供),盐酸二甲双胍(深圳海王药业有限公司),链脲佐菌素(STZ, Sigma公司,北京夏斯康特生物技术中心分装,用 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 柠檬酸缓冲液配成质量浓度 $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,现用现配),稳步型血糖仪[L6159RB01021,强生(中国)医疗器械有限公司],强生稳步型血糖试纸(批号3075149008、3074021004)强生(中国)医疗器械有限公司。

2 方法

2.1 动物造模:分组与给药 2型糖尿病模型:大

鼠(160~200 g)适应性喂养后,除正常组大鼠进行正常饲料喂养外,其余给予高脂饲料喂养4周后,大鼠按 $30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 尾iv柠檬酸缓冲液新鲜配制的STZ诱导糖尿病大鼠模型,正常对照组注射同体积的柠檬酸盐缓冲液。大鼠自由饮水进食,给药3,7 d后测定大鼠尾尖空腹血糖(FPG),2次血糖均 $>11.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为造模成功。造模成功后,正常组与模型组以蒸馏水灌胃,阳性药物组二甲双胍 $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃,葛根芩连汤分别以生药1.65,4.95,8.25,11.55,14.85,18.15,21.45,24.75,28.05 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (相当于按照1两=1,3,5,7,9,11,13,15,17 g),各给药组处理至12周末。

2.2 指标检测

2.2.1 血糖 大鼠禁食6 h后,剪尾挤出1滴血液用血糖测量仪进行测量,每2周测1次血糖。

2.2.2 血清胰岛素(FIns)、糖化血红蛋白(HbA1c)、糖化血清蛋白(GSP)的检测 以上指标均由江西中医学院附属医院检验科检测。

2.2.3 胰岛素抵抗指数(IR)

$$\text{IR} = \text{FPG} \times \text{FIns} / 22.5$$

2.3 统计学处理 采用SPSS 11.0软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析及Newman-Student多重比较 t 检验分析, $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 整方剂量变化对糖尿病大鼠血清FPG, FIns, IR水平的影响 模型组FPG(23.58 ± 1.30) $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 明显高于正常组(3.60 ± 0.30) $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($P < 0.01$), FIns(7.73 ± 0.16) $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 明显高于正常组(2.10 ± 0.11) $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($P < 0.01$), IR(8.11 ± 0.48)明显高于正常组(0.34 ± 0.03) ($P < 0.01$)。葛根芩连汤(1.65~18.15) $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 对于FPG, FIns, 与IR的影响具有明显的量效关系,其中以18.15 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (对应于1两=11 g)组FPG下降的药效最显著。见表1。

3.2 整方剂量变化对糖尿病大鼠HbA1c, GSP的影响 模型组血清HbA1c水平明显高于正常组($P < 0.05$),血清GSP浓度明显高于正常组($P < 0.05$)。葛根芩连汤(1.65~28.05 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)剂量之间对于

表1 葛根芩连汤对糖尿病大鼠 FPG, FIns, IR 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| 组别 | 剂量 | FPG | FIns | IR |
|-------|---------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | /g·kg ⁻¹ | /mmol·L ⁻¹ | /U·mL ⁻¹ | |
| 正常 | - | 3.60 ± 0.30 | 2.10 ± 0.11 | 0.34 ± 0.03 |
| 模型 | - | 23.58 ± 1.30 ¹⁾ | 7.73 ± 0.16 ¹⁾ | 8.11 ± 0.48 ¹⁾ |
| 二甲双胍 | 0.2 | 21.73 ± 1.45 ²⁾ | 6.92 ± 0.52 ²⁾ | 6.97 ± 0.34 ²⁾ |
| 葛根芩连汤 | 1.65 | 22.45 ± 0.90 | 6.90 ± 0.24 ²⁾ | 7.01 ± 0.36 |
| | 4.95 | 21.13 ± 2.53 ²⁾ | 6.97 ± 0.61 ²⁾ | 6.53 ± 0.86 ²⁾ |
| | 8.25 | 20.15 ± 3.55 ²⁾ | 7.17 ± 0.26 ²⁾ | 6.68 ± 1.10 ²⁾ |
| | 11.55 | 18.00 ± 2.77 ²⁾ | 7.27 ± 0.30 | 6.06 ± 1.01 ²⁾ |
| | 14.85 | 17.78 ± 4.16 ²⁾ | 7.33 ± 0.56 | 5.86 ± 1.22 ²⁾ |
| | 18.15 | 16.43 ± 4.58 ²⁾ | 6.66 ± 0.75 ²⁾ | 4.98 ± 1.28 ²⁾ |
| | 21.45 | 21.38 ± 2.52 ²⁾ | 7.18 ± 0.35 ²⁾ | 6.84 ± 1.00 ²⁾ |
| | 24.75 | 23.50 ± 3.24 | 7.15 ± 0.34 | 7.52 ± 0.96 |
| | 28.05 | 22.05 ± 3.19 | 7.23 ± 0.33 | 7.07 ± 0.95 |

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表2同)。

表2 葛根芩连汤对糖尿病大鼠 HbA1c, GSP 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| 组别 | 剂量 | HbA1c | GSP |
|-------|---------------------|----------------------------|---------------------------|
| | /g·kg ⁻¹ | /% | /mmol·L ⁻¹ |
| 正常 | - | 1.73 ± 0.14 | 1.81 ± 0.48 |
| 模型 | - | 10.22 ± 0.36 ¹⁾ | 3.29 ± 0.96 ¹⁾ |
| 二甲双胍 | 0.2 | 8.88 ± 0.40 ²⁾ | 1.93 ± 0.27 ²⁾ |
| 葛根芩连汤 | 1.65 | 9.25 ± 0.15 ²⁾ | 1.87 ± 0.27 ²⁾ |
| | 4.95 | 9.10 ± 0.95 ²⁾ | 2.54 ± 0.29 ²⁾ |
| | 8.25 | 9.20 ± 0.47 ²⁾ | 1.80 ± 0.35 ²⁾ |
| | 11.55 | 9.27 ± 0.59 ²⁾ | 1.98 ± 0.57 ²⁾ |
| | 14.85 | 8.55 ± 1.20 ²⁾ | 1.89 ± 0.50 ²⁾ |
| | 18.15 | 8.57 ± 1.18 ²⁾ | 1.98 ± 0.48 ²⁾ |
| | 21.45 | 9.40 ± 0.42 ²⁾ | 1.59 ± 0.35 ²⁾ |
| | 24.75 | 9.35 ± 0.34 ²⁾ | 1.98 ± 0.39 ²⁾ |
| | 28.05 | 9.45 ± 0.40 ²⁾ | 2.13 ± 0.41 ²⁾ |

HbA1c, GSP 水平的影响具有明显的量效关系,其中分别以 18.15 g·kg⁻¹(对应于 1 两 = 11 g)与 21.45 g·kg⁻¹(对应于 1 两 = 13 g)组的药效最显著。

3.3 量效关系曲线以及主要参数 葛根芩连汤各个剂量组与 2 型糖尿病大鼠的血糖之间存在着一定的量效关系,经过数据拟合得到图 1 为抛物线形的量效关系,趋势为剂量增大,效应增强。回归方程为 $Y = 0.019X^2 - 0.534X + 23.464, R^2 = 0.715$;量效剂量范围: $[D]_{0.8} \sim [D]_{0.2} = 27.01 \sim 1.09 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($[D]_{0.8}$:产生最大效应 80%的对应剂量, $[D]_{0.2}$:产生最大效应 20%的对应剂量)中位剂量: $[D]_{0.5} = 3.81 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ OR $24.30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。见图 1。

4 讨论

2 型糖尿病的基本病变是 Ins 分泌减少,IR 是指机体细胞、器官、组织对 Ins 的敏感性和/或反应

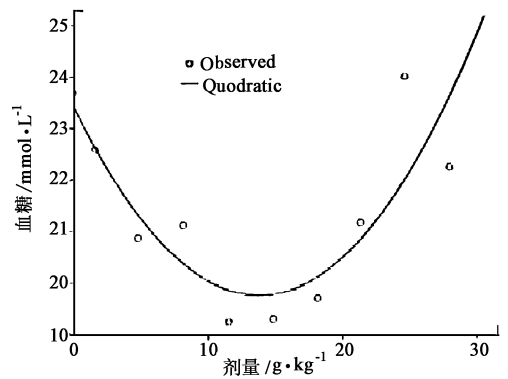


图1 葛根芩连汤和血糖间量-效关系曲线

性降低的一种病理状态。IR 出现在 Ins 分泌缺陷之前,仅有 IR 还不足以构成 2 型糖尿病,只要胰岛 β 细胞能够代偿 IR,血糖浓度仍可维持正常。当机体不能代偿由 IR 造成的血糖升高时,最终导致 2 型糖尿病的发生。研究表明给予实验动物少量 STZ,破坏一部分胰岛 β 细胞功能,同时饲以高脂、高糖饲料造成外周组织对 Ins 素不敏感,两者结合便诱导出接近人类 2 型糖尿病 IR 的动物模型^[8]。根据 2 型糖尿病发病机制,本课题选用雄性 SD 大鼠先以高脂饲料喂养 4 周后,尾 iv STZ $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 诱导 IR 形成 2 型糖尿病模型。造模后发现,大鼠 FPG 升高的同时 FIns 虽然升高,但 IR 也升高,说明此时分泌的 Ins 并没有起到降低血糖的作用,说明此模型与 2 型糖尿病 IR 模型相符。

葛根芩连汤方中各药均有不同程度的降糖和(或)改善糖尿病慢性并发症的作用,赵林华等^[9]取葛根芩连汤清热化湿、润燥生津的功效,用于糖尿病湿热证及其并发症的治疗,降糖作用明显,疗效肯定。曾艺鹏等^[10]发现对伴湿热证的 2 型糖尿病患者,在短期 Ins 强化治疗基础上,联合葛根芩连汤加味治疗,可以相对减少 Ins 用量,取得较好的临床疗效。提示葛根芩连汤在改善糖尿病患者湿热证候的过程中,对减轻 2 型糖尿病患者 IR、促进胰岛 β 细胞的功能恢复有帮助。但对葛根芩连汤整方以及其方剂的剂量变化与其功效之间的关系如何,迄今未见报道。本实验发现,葛根芩连汤可明显地降低 2 型糖尿病大鼠 FPG, IR, Ins, HbA1c, GSP 水平;同时葛根芩连汤(1.65 ~ 18.15 g·kg⁻¹)对 FPG, IR, HbA1c 的影响有明显的量效关系,其 8.25 ~ 18.15 g·kg⁻¹对 FIns 的影响有明显的量效关系,葛根芩连汤(4.95 ~ 21.45 g·kg⁻¹)对于 GSP 的下降具有量效关系;可见葛根芩连汤在一定范围内随着剂量的增

三七总皂苷肠溶微丸和三七总皂苷 对家兔动脉粥样硬化预防作用比较

秦艳娥¹, 刘华钢^{2*}, 陆仕华³, 张慧玲², 文丽³, 陈明⁴, 刘冠萍⁴

(1. 南宁市第一人民医院, 南宁 530022; 2. 广西医科大学, 南宁 530021;

3. 广西食品药品监督管理局, 南宁 530022; 4. 广西梧州制药集团股份有限公司, 广西 梧州 543000)

[摘要] 目的:比较三七总皂苷(panax notoginsenoside, PNS)肠溶微丸和三七总皂苷对家兔实验性动脉粥样硬化的预防作用。方法:50 只家兔随机分为空白对照组、动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)模型组、PNS 原料药组、注射用血栓通(冻干)组和 PNS 肠溶微丸组,耳缘静脉注射牛血清白蛋白 250 mg·kg⁻¹后(空白对照组除外),分别喂食普通饲料+生理盐水、高脂饲料+生理盐水、高脂饲料+PNS 原料药(30 mg·kg⁻¹·d⁻¹, ig)、高脂饲料+血栓通(15 mg·kg⁻¹·d⁻¹, 肌肉注射)和高脂饲料+PNS 肠溶微丸(30 mg·kg⁻¹·d⁻¹, ig)。于 12 周末耳缘静脉取血测定血脂含量,摘取主动脉观察病理学改变。结果:给药 12 周后, PNS 原料药组、注射用血栓通(冻干)组和 PNS 肠溶微丸组能显著降低家兔总胆固醇(T-CHO),甘油三酯(TG)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平($P < 0.01$),升高高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平($P < 0.01$);注射用血栓通(冻干)组和 PNS 肠溶微丸组降低 T-CHO, TG 和 LDL-C 的效果优于 PNS 原料药组($P < 0.01$),升高 HDL-C 水平优于 PNS 原料药组($P < 0.01$); PNS 肠溶微丸组降低 LDL-C 效果优于注射用血栓通(冻干)组($P < 0.01$)。主动脉病理结果表明:注射用血栓通(冻干)组和 PNS 肠溶微丸组均能减轻主动脉内膜病变程度($P < 0.01$),且两者差异没有统计学意义;PNS 肠溶微丸组减轻主动脉内膜病

[收稿日期] 20121207(002)

[第一作者] 秦艳娥, 硕士研究生, 药师, Tel:0771-2636306, E-mail: qinyane1986@163.com

[通讯作者] *刘华钢, 教授、博士生导师, 从事中药药理学、中药新制剂的开发研究工作, Tel: 0771-5700208, E-mail: hgliu@263.net

大, 药效越显著。

中医方药剂量理论体系包含着“以药为本体”的剂量理论,反映的是药物集体作用的客观结果,即阐释方药剂量与病证效应变化关系及其影响因素的作用规律,当方、证确定后,其方药的“量”是决定“效的关键因素,并有其最佳的剂量范围,可以表述为“剂量域”。本研究得到的葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病大鼠的“剂量域”为 $[D]_{0.8} \sim [D]_{0.2} = 27.01 \sim 1.09 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而最佳剂量范围大致处于 $18.15 \sim 24.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而对应原方相当于 1 两 = $13 \sim 15 \text{ g}$ 之间,这个研究结果与大多数学者关于方药中“两”的量值较吻合。

[参考文献]

[1] 朱薇,贾满仓. 复方葛根芩连汤治疗急性菌痢 32 例临床观察[J]. 河南中医, 2006, 26(3): 30.
[2] 齐国有, 齐晓霞. 葛根芩连汤和白头翁汤四神丸加减治疗慢性结肠炎 106 例[J]. 陕西中医, 2006, 26(9): 1055.
[3] 赵翠丽, 张丽雯, 杨以超. 葛根芩连汤加白及灌肠治疗慢性溃疡性结肠炎急性发作 30 例[J]. 中医药导

报, 2012, 18(7): 31.

[4] 穆磊, 龙子江, 杨杰, 等. 葛根芩连汤对心律失常模型大鼠血管保护作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(24): 312.
[5] 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.
[6] 潘竞铿, 韩超, 刘惠纯. 葛根芩连汤降血糖作用的实验研究[J]. 中国新药杂志, 2000, 9(3): 167.
[7] 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.
[8] Luo J, Quan J, Tsai J, et al. Nongenetic mouse models of non-insulin-dependent diabetes mellitus [J]. Metabolism, 1998, 47(6): 663.
[9] 赵林华, 仝小林, 连凤梅, 等. 经方葛根芩连汤治疗糖尿病及其并发症初探[C]. 北京: 第四届国际中医糖尿病大会论文汇编, 2009: 352.
[10] 曾艺鹏, 黄云胜, 胡蕴刚, 等. 葛根芩连汤配合胰岛素强化治疗湿热证 2 型糖尿病临床观察[J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(6): 514.

[责任编辑 李玉洁]