

养精补肾胶囊对小肠葡萄糖吸收的体外抑制作用

高秀娟*, 马会霞, 姚荣妹, 孙娜, 江春花, 喇孝瑾
(河北联合大学中医学院, 河北 唐山 063000)

[摘要] 目的: 观察养精补肾胶囊(QJBS)体外抑制小肠葡萄糖吸收的作用。方法: SD大鼠禁食不禁水24 h, 处死, 制备小肠离体外翻模型, 随机分为空白对照组、阿卡波糖对照组(0.25 g·L⁻¹)和QJBS 1~QJBS 5(2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0 g·L⁻¹)。将肠囊分别放入等量的营养液中, 加入麦芽糖及受试药物, 在37℃水浴箱中孵育120 min, 测定葡萄糖浓度并计算抑制率。结果: QJBS各组对离体小肠葡萄糖的吸收具有抑制作用, 当药物质量浓度为20.0 g·L⁻¹, 抑制作用最明显, 抑制率为(67.7±10.5)%, 与阿卡波糖抑制作用相当。结论: QJBS能够抑制小肠对葡萄糖的吸收, 其作用可能与抑制肠道α-糖苷酶类有关。

[关键词] 养精补肾胶囊; 小肠; 葡萄糖吸收

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0214-03

Inhibition of Qiaojing Bushen Capsule on Intestinal Glucose Absorption *in vitro*

GAO Xiu-juan*, MA Hui-xia, YAO Rong-mei, SUN Na, JIANG Chun-hua, LA Xiao-jin
(Hebei United University Traditional Chinese Medicine College, Tangshan 063000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe inhibition of Qiaojing Bushen capsules (QJBS) *in vitro* on glucose absorption in small intestine. **Method:** SD rats were fasted and gave water for 24 hours, then sacrificed to prepare small intestine *in vitro* everted model. Rats were divided into the blank control group, and acarbose tablets group 0.25 g·L⁻¹ and QJBS group; QJBS 1-QJBS 5 (2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0 g·L⁻¹). The sugar substrate and tested drugs were added into gut sac, which were incubated for 120 min at 37℃ to determine glucose concentrations, and the inhibition rate was calculated. **Result:** Each group of QJBS can inhibit small intestinal absorption of glucose, when the drug concentration was 20 g·L⁻¹, inhibitory effect was the most obvious. The inhibition rate was (67.7±10.5)%, which was equal to acarbose. **Conclusion:** QJBS can inhibit intestinal glucose absorption, the effect may be related to inhibition of intestinal α-glucosidase.

[Key words] Qiaojing Bushen capsule; small intestine; glucose absorption

糖尿病已在世界范围蔓延, 其发病率近年来逐年上升, 成为影响人们身体健康的普遍问题。运用中医药治疗糖尿病, 祖国医学已有两千多年的丰富临床经验, 但对其作用机制的研究尚在起步阶段。本课题组前期研究发现养精补肾胶囊(QJBS)对糖尿病大鼠血糖及糖耐量有改善作

用^[1]。本研究以阿卡波糖为阳性对照品, 建立体外小肠外翻肠囊模型^[2], 旨在研究QJBS对小肠葡萄糖吸收的影响。

1 材料

1.1 药品与试剂 QJBS水提物(本课题组制备), 阿卡波糖(拜耳医药保健有限公司生产), 血糖试剂盒(北京北化康泰临床试剂有限公司, 批号20070811), 其余试剂均为国产分析纯。

1.2 动物 清洁级雄性SD大鼠(180~200 g), 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 合格证号SOXX(京)2007-0001; 大鼠离体肠营养液配制方法: 大鼠离体肠营养液选用Kreb's缓冲液配制而成, pH 7.4。

[收稿日期] 20110915(006)

[基金项目] 唐山市科技局课题(10150204A-12)

[通讯作者] *高秀娟, 讲师, 从事中医药治疗代谢性疾病的临床与实验研究, Tel: 13933435015

1.3 仪器 Teacan 型酶标仪,奥地利。

2 方法

2.1 QJBS 水提物的制备 QJBS 由黄精、女贞子、生地黄、玄参、菟丝子等中药组成,取上述中药各 10 g,加 8 倍量水煎煮 2 h,过滤,得到水煎液和药渣。药渣加 8 倍量水煎煮 2 h,过滤,得到水煎液。两次得到的水煎液合并,过滤,12 000 $r \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 弃去沉淀,上清液浓缩得水煎液(1 000 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$),4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

2.2 离体小肠外翻肠囊的制备 实验大鼠禁食不禁水 24 h,处死,剖开腹腔,在十二指肠上端切开取出整段小肠,剪去约 10 cm 左右的十二指肠部分,余下肠段用 37 $^{\circ}\text{C}$ 的生理盐水冲洗内容物,小心地剥离肠系膜和脂肪,不损伤肠壁,然后用 37 $^{\circ}\text{C}$ 的大鼠离体肠营养液洗干净后剪成 5 cm 等长的肠段。肠段一端结扎后,用灌胃针将肠段翻转使其黏膜面朝外,注入 1 mL 营养液后结扎另一端即可。

2.3 反应体系的优化 实验前分别对底物浓度、孵育时间及对照品阿卡波糖浓度进行筛选,选出最佳反应底物浓度、最佳反应时间及对照品阿卡波糖最佳反应浓度。方法:按照上述方法制备小肠囊腔,加入底物,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 震荡水浴中分别孵育相应时间,取出肠囊内液体,用葡萄糖试剂盒在 505 nm 波长测吸光度(A)。结果底物麦芽糖最适浓度为 0.5 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,反应最佳时间为 120 min,对照品阿卡波糖最佳质量浓度为 0.25 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.4 分组及剂量设置 取 SD 实验大鼠 18 只,制备离体小肠外翻肠囊,分为空白对照组、拜唐平对照组和养精补肾胶囊组 QJBS 1~5(质量浓度依次为 2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$),每组 6 段肠囊,分别放入等量的营养液中,加入麦芽糖及阿卡波糖或受试药物,37 $^{\circ}\text{C}$ 震荡水浴 120 min,取出肠囊内液体,用葡萄糖试剂盒在 505 nm 测 A,计算药物对小肠葡萄糖吸收的抑制率。

2.5 数据统计 本实验应用 SPSS 11.5 软件对数据进行系统分析。实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

QJBS 质量浓度 5.0~40.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 组对小肠葡萄糖吸收具有抑制作用($P < 0.01$),但当质量浓度由 20 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加到 40 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,抑制作用减弱。以阿卡波糖为阳性对照,发现 20 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ QJBS 与 0.25 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿卡波糖对小肠葡萄糖吸收的抑制作用无显著

性差异。见表 1。

表 1 养精补肾胶囊对离体大鼠小肠葡萄糖吸收的抑制作用($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	质量浓度 / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	葡萄糖浓度 / $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	抑制率 /%
养精补肾胶囊	2.5	9.785 \pm 0.548 ²⁾	12.0 \pm 6.6 ²⁾
	5.0	7.921 \pm 1.203 ^{1,2)}	27.3 \pm 11.0 ^{1,2)}
	10.0	6.742 \pm 0.599 ^{1,2)}	38.1 \pm 5.5 ^{1,2)}
	20.0	3.516 \pm 1.146 ¹⁾	67.7 \pm 10.5 ¹⁾
	40.0	6.558 \pm 1.007 ^{1,2)}	39.8 \pm 9.3 ^{1,2)}
阿卡波糖	0.25	3.856 \pm 1.402 ¹⁾	64.6 \pm 12.9 ¹⁾
空白对照	-	10.892 \pm 0.735	-

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与阿卡波糖组比较²⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

近年来研究发现许多单味中药具有糖苷酶抑制作用,其方法多为建立以 4-硝基酚- α -D-吡喃葡萄糖苷(PNPG)为底物的酶-抑制药筛选模型。PNPG 是麦芽糖类物质,以 PNPG 为底物测定中草药提取物或降糖活性成分对 α -葡萄糖苷酶抑制活性大小,从中草药中筛选降糖活性强的成分是目前最常用、最经典的筛选方法^[3,4]。上述方法是将中药药液直接与麦芽糖及糖苷酶反应,最后在特定波长下比色,但是由于中药复方多具有颜色,对实验结果有一定影响。作者采用小肠外翻模型研究,检测液为肠囊内液体,而非中药药液,因此很好的避免了中药颜色的干扰,取得了较好的效果。

作者前期研究发现 QJBS 有控制血糖、改善糖耐量、保护糖尿病大鼠肾损害的作用^[5]。本方中苦养及黄精均有一定的葡萄糖苷酶的抑制作用^[6-8];本研究发现养精补肾胶囊能够抑制小肠葡萄糖吸收。说明养精补肾胶囊能够通过抑制 α -葡萄糖苷酶的活性来实现其对小肠葡萄糖吸收的抑制作用。结果还显示当养精补肾胶囊增加到一定剂量时,其对小肠葡萄糖吸收的抑制作用增强不显著,没有呈现出剂量依赖性,可能因为药物浓度过大,影响了小肠的活性。总之,QJBS 具有一定的糖苷酶抑制作用,其具体有效成分还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 马会霞,高秀娟,江春花,等.养精补肾胶囊对糖尿病大鼠血糖及糖耐量的影响[J].华北煤炭医学院学报,2009,11(6):777.
- [2] Racusen L C M D, Binder H J M D. Alteration on large intestinal electrolyte transport by vasoactive intestinal polypeptide in the rat [J]. Gastroenterology, 1977,

三化汤对脑缺血再灌注大鼠脑组织胞质附着蛋白表达的影响

樊凯芳¹, 梁晓东², 李晓亮³, 唐迎雪^{2*}

(1. 山西中医学院, 太原 030024; 2. 山东中医药大学, 济南 250355;
3. 山西中医学院附属医院, 太原 030024)

[摘要] **目的:**观察三化汤对脑缺血再灌注大鼠脑组织胞质附着蛋白(ZO-1)表达的影响。**方法:**将大鼠随机分为假手术组、模型组、三化汤低、高剂量组(7.2, 14.4 g·kg⁻¹)、尼莫地平组(8.1 mg·kg⁻¹)。大鼠常规饲养3 d后灌胃给药,每日1次,连续7 d后采用线栓法制备脑缺血再灌注大鼠模型。脑缺血2 h再灌注24 h后,取脑组织采用免疫组织化学法检测各组大鼠ZO-1的表达。**结果:**与假手术组比,模型组脑组织ZO-1表达显著降低($P < 0.01$);与模型组比,三化汤高剂量组脑组织ZO-1表达显著升高($P < 0.01$),尼莫地平组脑组织ZO-1表达也明显升高($P < 0.05$),三化汤低剂量组脑组织ZO-1表达升高不明显,无显著性差异;三化汤高剂量组升高脑组织ZO-1表达较尼莫地平组明显($P < 0.05$)。**结论:**三化汤对大鼠脑缺血再灌注损伤具有一定的保护作用。

[关键词] 三化汤;脑缺血再灌注;脑组织ZO-1

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0216-04

The Effect of Sanhua Tang on Expression of ZO-1 in Brain Tissues of Cerebral Ischemia-reperfusion Rat

FAN Kai-fang¹, LIANG Xiao-dong², LI Xiao-liang³, TANG Ying-xue^{2*}

(1. Shanxi College of Traditional Chinese Medicine (TCM), Taiyuan 030024, China;
2. Shandong University of TCM, Ji'nan 250355, China;
3. The Affiliated Hospital of Shanxi College of TCM, Taiyuan 030024, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Sanhua Tang on expression of zona occludens-1 (ZO-1) in brain tissues of cerebral ischemia-reperfusion rat. **Method:** The rats were randomly divided into sham operation group, model group, low dose group of Sanhua Tang, large dose group of Sanhua Tang and nimodipine group. The middle cerebral artery was blocked with suture method to prepare cerebral ischemia reperfusion model. After

[收稿日期] 20111031(001)

[基金项目] 山东省教育厅资助课题(J06L18)

[第一作者] 樊凯芳,博士,主要从事中药及复方的理论和应用研究,Tel:18935153825,E-mail:fankaiyang108@163.com

[通讯作者] *唐迎雪,E-mail:doctoryxt@sina.com

73;790.

2011,17(12):156.

[3] 孟爱国,刘春艳,马红翠. Radicamine B 体外抑制小肠葡萄糖的吸收作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(16):217.

[6] 余红,王志路,韩淑英,等. 荞麦种子提取物对 α -糖苷酶及餐后血糖影响的实验研究[J]. 四川中医,2010,28(5):60.

[4] Duplexw, Marie-Christine L, David D C, et al. α -Glucosidase inhibitory constituents from stem bark of *Term in alia superba* (Combretaceae) [J]. *Phytochemistry*,2007, 68(15): 2096.

[7] 陈浙江,袁萍,叶晓平. 治疗糖尿病常用中药对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制活性研究[J]. 中成药,2008,30(11):1661.

[5] 马会霞,柳月娟,李洁,等. 养精补肾胶囊对糖尿病大鼠肾脏损害的抑制作用[J]. 中国实验方剂学杂志,

[8] 滕俊英,邱继红,张月红,等. 苦荞提取物抑制 α -葡萄糖苷酶的作用[J]. 中国临床康复,2006,10(19):92.

[责任编辑 聂淑琴]