

日本毛连菜降血糖作用的实验研究

张志勇, 葛睿, 刘恩荔, 高建平*

(山西医科大学药学院, 太原 030001)

[摘要] 目的:研究日本毛连菜对正常小鼠及糖尿病模型小鼠血糖的影响。方法:尾静脉注射四氧嘧啶 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 72 h 后血糖高于 $11.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为糖尿病模型。小鼠随机分为6组:正常组、模型组、消渴丸组 ($0.75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、日本毛连菜低、中、高剂量组 ($1.5, 3, 6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), ig 给予药物 14 d, 测定空腹血糖, 并进行了日本毛连菜急性毒性实验。结果:给药 14 d 后, 日本毛连菜水提取物低、中、高剂量组的血糖值分别达到 (7.52 ± 1.47), (7.33 ± 2.99), (7.79 ± 1.84) $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 与模型组比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。急性毒性实验表明最大给药量为 $120 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。结论:日本毛连菜对实验性高血糖小鼠有明显降糖作用, 且毒性较小。

[关键词] 日本毛连菜; 降血糖; 糖尿病模型

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0215-04

Study on Hypoglycemic by *Picris japonica*

ZHANG Zhi-yong, GE Rui, LIU En-li, GAO Jian-ping*

(Pharmacy College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of the water extract from *Picris japonica* Thunb on blood glucose in normal mice and diabetic model mice. **Method:** Diabetic model in mice was induced by caudal vein injection of $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ alloxan. Mice were randomly divided into 6 groups: control group, model group, Xiaokewan pill group ($0.75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), low dose, moderate dose and high dose groups of *P. japonica* ($1.5, 3, 6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). The drugs were administrated to mice for 14 days. Determination of fasting blood glucose by blood sampling, in the corresponding time, and acute toxicity experiment were carried out. **Result:** The blood glucose value of low dose, moderate dose and high dose group of *P. japonica* achieved respectively was (7.52 ± 1.47), (7.33 ± 2.99), (7.79 ± 1.84) $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ after administrated for 14 days, there were significant difference in blood glucose value compared with model group. The acute toxicity experiment revealed that the maximum dose of intragastric administration was $120 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. **Conclusion:** The total extracts of *P. japonica* had obvious hypoglycemic activity and little toxicity in hyperglycemia model mice.

[Key words] *Picris japonica*; hypoglycemic activity; diabetes model

日本毛连菜为菊科植物,又名:枪刀菜,在我国主要分布于河北、山西等地,生于山坡草地、灌丛中

或田边、河边,海拔 650 ~ 3650 m。全草入蒙药,具有清热、消肿及止痛作用^[1]。山西中药资源名录记载:“生于山区半阴坡,辛凉、宣散、泄热、解毒”。《中华本草》记载,日本毛连菜具有理肺止咳,化痰平喘,宽胸之功效,用于咳嗽,痰多,咳喘,胸腹闷胀。国内学者王冰等人曾对兴安毛连菜进行了染色体核型分析,并阐述了兴安毛连菜系统演化位置和相近种亲缘关系^[2]。日本毛连菜已由野生发展为可栽培,药用资源丰富。民间用日本毛连菜全草煎煮口服防治糖尿病已有多年历史,但防治糖尿病的作用尚未见报道,本文对日本毛连菜的降糖作用进行实

[收稿日期] 20111014(001)

[基金项目] 山西医科大学大学生创新项目基金(教师培训项目)

[第一作者] 张志勇,硕士,从事中药药理及其活性成分研究, Tel: 0351-4690071, E-mail: zhiyongshanyi @sohu.com

[通讯作者] *高建平,教授,硕士生导师,从事中药资源及其活性成分研究、中药鉴定新技术与中药质量评价, Tel:0351-4690345, E-mail:jpgao123@sina.com

验研究。

1 材料

1.1 药物及试剂 实验用日本毛连菜采自山西省娄烦县,经山西医科大学药学院高建平教授鉴定为菊科日本毛连菜属二年生草本植物日本毛连菜 *Picris japonica* Thunb.。四氧嘧啶(美国 Sigma 公司);消渴丸(广东中一药业有限公司,批号 k03120);盐酸肾上腺素注射液(天津金耀氨基酸有限公司,批号 0608181)。葡萄糖注射液(山西银湖制药有限责任公司,批号 071119022);葡萄糖试剂盒(中生北控生物科技股份有限公司,批号 071101);其余所用试剂均为分析纯。日本毛连菜水提物:称取日本毛连菜 100 g 置煎煮容器内→15 倍量的蒸馏水浸泡 15 min,回流 1 h,过滤→药渣加 10 倍量蒸馏水继续回流 1 h→滤过→合并两次滤液→浓缩成每 1 mL 相当于原药材 1 g 的药液,备用。

1.2 动物 昆明种小鼠,体重 18~22 g,清洁级,雌雄各半,购自山西医科大学实验动物中心,动物许可证号 SCXK(晋)2009-0001。本实验所有动物饲养条件一致,开始实验前 3 d 置本实验室观察饲养,自由摄食、饮水,各组饲料与饮用水来源均相同。

1.3 仪器 RE-52 AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),SHZ-D(Ⅲ)型循环水式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂),电热恒温水浴锅(上海贺德实验设备有限公司),752 紫外-可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司),KDM 型控温电热套(山东鄄城华鲁仪器公司),LXJ-IIB 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

2 方法

2.1 对正常小鼠血糖的影响 昆明种小鼠 60 只,随机分为 5 组,分别 ig 高、中、低剂量(6,3,1.5 g·kg⁻¹·d⁻¹)日本毛连菜水提物,消渴丸混悬液(0.75 g·kg⁻¹·d⁻¹)及同体积的生理盐水;连续给药 14 d,分别测定给药前、给药第 7,14 天小鼠血糖值,测血糖前禁食不禁水 8 h,给药后继续禁食不禁水,眼眶后静脉丛采血,3 500 r·min⁻¹离心 15 min,取血清 10 μL,按葡萄糖试剂盒的葡萄糖氧化酶法测各组的空腹血糖值^[3]。

2.2 对四氧嘧啶致小鼠高血糖的影响 小鼠尾静脉注射新鲜配制的四氧嘧啶 50 mg·kg⁻¹造成高血糖模型,72 h 后,对禁食不禁水的小鼠眼眶后静脉丛采血,测血糖值,选取空腹血糖高于 11.1 mmol·L⁻¹者用于实验^[4-5]。取合格模型小鼠 50 只,随机分为 5 组,分别 ig 高、中、低剂量日本毛连菜水提物,

消渴丸混悬液及同体积的生理盐水,操作及 ig 剂量同 2.1 项下;另取同批正常小鼠作为正常对照组。连续给药 14 d,分别测定第 7,14 天小鼠血糖值,测血糖前禁食不禁水 8 h,给药后继续禁食不禁水,眼眶后静脉丛采血,按 2.1 测各组的空腹血糖值。

2.3 对肾上腺素致小鼠高血糖的影响 取合格昆明种小鼠 72 只,随机分为 6 组,分别 ig 高、中、低剂量日本毛连菜水提物,消渴丸混悬液,操作及 ig 剂量同 2.1 项下;模型对照组和空白对照组 ig 等体积生理盐水,连续给药 10 d。于末次给药前小鼠禁食不禁水 8 h,给药后继续禁食不禁水,除正常对照组外,每只小鼠 ip 肾上腺素 0.2 mg·kg⁻¹,正常对照组 ip 等容量生理盐水。30 min 后,眼眶后静脉丛采血,按 2.1 测各组的空腹血糖值。

2.4 对小鼠糖耐量的影响 取正常昆明种小鼠 72 只,随机分为 5 组,分别 ig 高、中、低剂量日本毛连菜水提物,消渴丸混悬液及同体积的生理盐水,操作及 ig 剂量同 2.1;另取同批正常小鼠作为正常对照组。连续给药 10 d 后,于末次给药前小鼠禁食不禁水 8 h,测零时血糖,给药后继续禁食不禁水 2 h 后,除正常对照组外,每只小鼠 ig 葡萄糖 2 g·kg⁻¹,正常对照组 ig 等体积生理盐水。于 ig 给药后 0.5,1,2 h,小鼠眼眶后静脉丛采血,测定血糖值,并以空腹血糖值作为零时血糖描记血糖值随时间变化曲线^[3,6-7]。

2.5 急性毒性实验 取合格昆明种小鼠 20 只(雌雄各半),实验前禁食不禁水 12 h,1 次性 ig 给药。给药质量浓度为生药 4 g·mL⁻¹,体积为 30 mL·kg⁻¹,给药后观察动物反应,外观、四肢活动、摄食、饮水、排泄等情况,连续观察 7 d。根据总给药量推算出相当于临床用药量的倍数^[8]。

2.6 统计学处理 采用 SPSS 11.5 统计软件进行统计分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 *t* 检验比较组间差异的显著性。*P* < 0.05 有统计学意义。

3 结果

3.1 对正常小鼠血糖的影响 连续给予日本毛连菜水提物 14 d,分别测定给药后第 7,14 天小鼠的空腹血糖值。结果显示日本毛连菜水提物在 1.5~6.0 g·kg⁻¹·d⁻¹浓度范围内对正常小鼠的血糖水平无显著影响。

3.2 对四氧嘧啶致小鼠高血糖的影响 与正常组相比,四氧嘧啶模型各组小鼠血糖显著升高(*P* < 0.05),表明模型成功。连续给予不同剂量日本毛连菜水提物 14 d,分别测定给药后第 7,14 天小鼠的空腹血糖,日本毛连菜水提物低、中剂量组的血糖和

消渴丸组的血糖在第7,14天与模型组血糖比较均显著下降($P < 0.05$);日本毛连菜水提取物高剂量组给药14 d后的血糖与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$),见表1。

表1 日本毛连菜水提取物对四氧嘧啶糖尿病小鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	血糖/mmol·L ⁻¹		
		造模后	给药后7 d	给药后14 d
模型	-	19.68 ± 3.07 ¹⁾	16.21 ± 3.51 ¹⁾	15.82 ± 5.91 ¹⁾
正常对照	-	6.00 ± 0.59	5.80 ± 0.59	5.24 ± 0.92
日本毛连菜	1.5	17.34 ± 3.95 ¹⁾	7.88 ± 0.91 ²⁾	7.52 ± 1.47 ²⁾
	3	18.03 ± 3.28 ¹⁾	7.59 ± 1.26 ²⁾	7.33 ± 2.99 ²⁾
	6	19.24 ± 2.72 ¹⁾	15.84 ± 2.66	7.79 ± 1.84 ²⁾
消渴丸	0.75	18.38 ± 3.45 ¹⁾	7.29 ± 1.20 ²⁾	6.87 ± 1.94 ²⁾

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表3~4同)。

3.3 对肾上腺素致小鼠高血糖的影响 给予日本毛连菜水提取物10 d后,小鼠腹腔注射盐酸肾上腺素,模型组的血糖明显高于正常组,差别有显著性意义($P < 0.05$),说明小鼠高血糖模型成功。日本毛

连菜水提物的中、高剂量组和消渴丸组的血糖均明显低于模型组,差别有显著性意义($P < 0.05$)。结果显示,日本毛连菜水提取物中、高剂量组对肾上腺素引起的小鼠高血糖有显著的抑制作用,见表2。

表2 日本毛连菜水提取物对肾上腺素糖尿病小鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	药后血糖/mmol·L ⁻¹
正常	-	7.29 ± 0.87
模型	-	15.44 ± 1.97 ¹⁾
日本毛连菜水提取物	1.5	14.78 ± 1.52
	3	12.72 ± 0.48 ²⁾
	6	9.19 ± 1.11 ²⁾
消渴丸	0.75	8.82 ± 1.59 ²⁾

3.4 对小鼠口服葡萄糖耐量的影响 给予葡萄糖0.5 h,各给药组的血糖值均低于模型组,差别有显著性意义($P < 0.05$);给予葡萄糖1,2 h,各给药组的血糖值均低于模型组,日本毛连菜低剂量组和消渴丸组与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$);实验结果显示日本毛连菜水提取物能增强正常小鼠的葡萄糖耐受能力。见表3。

表3 日本毛连菜水提取物对正常小鼠糖耐量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	血糖/mmol·L ⁻¹			
		0 h	0.5 h	1 h	2 h
正常	-	5.13 ± 0.62	5.19 ± 0.83	5.27 ± 0.79	5.32 ± 0.55
模型	-	5.41 ± 0.78	12.72 ± 0.93 ¹⁾	7.40 ± 0.98 ¹⁾	6.71 ± 0.35 ¹⁾
日本毛连菜水提取物	1.5	4.82 ± 0.67	11.79 ± 1.26 ²⁾	6.18 ± 0.98 ²⁾	5.53 ± 0.64 ²⁾
	3	4.97 ± 0.69	11.93 ± 1.10 ²⁾	6.97 ± 0.63	6.41 ± 0.98
	6	4.57 ± 0.68	11.07 ± 1.76 ²⁾	6.72 ± 0.30	6.33 ± 0.42
消渴丸	0.75	4.81 ± 0.76	10.08 ± 0.82 ²⁾	5.39 ± 1.20 ²⁾	5.62 ± 1.18 ²⁾

3.5 急性毒性实验 日本毛连菜水提取物给小鼠ig,给药后第1天,个别小鼠粪便黑色。第2天开始恢复正常。连续观察14 d,各鼠活动正常,动物外观、行为、进食、四肢活动、呼吸及大小便等未见异常,亦无死亡发生,体重增长正常。因此将生药120 g·kg⁻¹定为日本毛连菜水提取物最大给药量。临床人日拟用最大剂量为生药15 g·(60 kg)⁻¹,按照中药药理研究方法学^[8]所规定的:以小鼠耐受人用量口服100倍以上为安全。本试验小鼠的最大耐受倍数为400倍。可认为本品按临床拟用日剂量口服应是安全的。

4 讨论

本实验研究发现,日本毛连菜水提取物不影响正

常小鼠的血糖水平,能明显降低四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠、肾上腺素高血糖小鼠的血糖,能够改善正常小鼠的糖耐量。糖尿病小鼠给予不同剂量的日本毛连菜水提取物后,高剂量的降血糖效果不如低、中剂量,这可能与本品水提取物中含有大量的多糖成分有关,研究表明,多糖是本品降糖的有效成分之一,随着剂量的增大,多糖的代谢有可能对小鼠的血糖值有一定的影响,此工作正在进一步实验验证中。

本课题分别对四氧嘧啶糖尿病模型和肾上腺素糖尿病模型分别进行了实验,确定了日本毛连菜水提取物对两种糖尿病模型降糖作用的有效剂量,实验数据显示本品对两种糖尿病模型降糖有效剂量存在一定差异,具体作用机制有待于进一步研究实验。

二陈汤化痰止咳有效部位的筛选研究

张超云^{1*}, 张晓芬¹, 张雪鹏¹, 席先蓉²

(1. 南阳理工学院, 河南 南阳 473004; 2. 贵阳中医学院, 贵阳 550002)

[摘要] **目的:**初步筛选二陈汤化痰止咳的有效部位。**方法:**小鼠随机分为12组:生理盐水组、克立停组(DHS)、二陈汤5个提取部位的高、低剂量组(15, 3.75 g·kg⁻¹), 各组分别ig给药, 连续3 d, 2次/d, 末次给药后1 h, 采用氨水引咳法观察不同提取部位对小鼠咳嗽次数的影响; 小鼠随机分为12组:生理盐水组、沐舒坦组(AHOS)、二陈汤5个提取部位的高、低剂量组(15, 3.75 g·kg⁻¹), 各组分别ig给药, 连续3 d, 2次/d, 末次给药后30 min, 采用酚红法观察不同提取部位对小鼠气管酚红分泌量的影响; 豚鼠随机分为12组:生理盐水组、氨茶碱组(Ami)、二陈汤5个提取部位的高、低剂量组(8.32, 2.08 g·kg⁻¹), 各组分别ig给药, 连续3 d, 2次/d, 末次给药后1 h, 采用组胺诱喘法观察不同提取部位对小鼠翻倒时间的影响。并通过上述方法对5个不同提取部位进行药效学筛选。**结果:**二陈汤挥发油部位、正丁醇部位和水部位可显著抑制小鼠咳嗽次数、增加小鼠酚红分泌量及延长豚鼠翻倒时间($P < 0.01$, $P < 0.05$), 而石油醚部位、乙酸乙酯部位对此作用不显著。**结论:**初步排除石油醚部位、乙酸乙酯部位, 并确定二陈汤治疗湿痰证的有效部位为挥发油部位、正丁醇部位和水部位。

[关键词] 二陈汤; 祛痰; 止咳; 有效部位

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0218-04

Screening the Effective Parts from Erchen Decoction for Expectorant and Antitussive

ZHANG Chao-yun^{1*}, ZHANG Xiao-fen¹, ZHANG Xue-peng¹, XI Xian-rong²

(1. Nanyang Institute of Technology, Nanyang 473004, China;

2. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To screen the effective parts from Erchen Tang for expectorant and antitussive. **Method:** The mice were allotted into 12 groups as following: physiological saline, DHS group, the five part from Erchen decoction groups with high dose (HD) and low dose (LD, 15, 3.75 g·kg⁻¹), the mice were orally administered for 3 days, the antitussive effect was observed by concentrated ammonia method after 1 h. The mice

[收稿日期] 20111115(015)

[基金项目] 南阳理工学院2009年度科研基金项目(NG2009KYJJ17)

[通讯作者] *张超云, 讲师, 中药学硕士, 从事中药复方研究, Tel: 0377-62071302, E-mail: chaoyun801123@yahoo.com.cn

[参考文献]

- [1] 钱崇澍, 陈焕镛. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 53.
- [2] 王冰. 兴安毛连菜染色体的核型分析[J]. 中药材, 2003, 26(5): 317.
- [3] 侣丽红, 赵余庆. 苦瓜的降血糖作用及活性成分的研究[J]. 中药材, 2002, 25(6): 449.
- [4] 郭健, 艾静, 李青松, 等. 中药血糖安降血糖作用的研究[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2001, 35(6): 399.
- [5] 杨帆, 戚进, 朱丹妮, 等. 增液汤降糖作用实验研究

[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8): 98.

- [6] 覃振林, 韦海英, 廖冬燕, 等. 瑶药柚子枫提取物降血糖作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 108.
- [7] 邓航, 贺敏, 李江柿, 等. 柿叶多糖对糖尿病小鼠降血糖作用及其机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 114.
- [8] 王北婴, 李仪奎. 中药新药研制开发技术与方法[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 791.

[责任编辑 聂淑琴]