

黄芪降糖颗粒降糖作用实验研究

马燕, 张晶, 王亚, 喇孝瑾, 张晓鹏, 吕建东, 喇万英*
(河北联合大学, 河北 唐山 063000)

[摘要] 目的:观察黄芪降糖颗粒对链脲佐菌素(STZ)所致的 2 型糖尿病小鼠的降糖作用。方法:80 只 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠,4~5 周龄,维持饲料喂养 1 周,按随机数字表法,随机抽取 10 只作为正常组,其余 70 只采用 KK 饲料喂养加 60 mg·kg⁻¹的 STZ ip 诱导糖尿病,造模成功 60 只。随机分为黄芪降糖颗粒低、中、高剂量组(1.0,2.0,3.0 g·kg⁻¹),盐酸二甲双胍片组(0.3 g·kg⁻¹)、参芪降糖颗粒组(0.2 g·kg⁻¹)、模型组,每组各 10 只。各组 ig 给药,正常组与模型组给同体积蒸馏水,每日 1 次,连续 14 d。观察黄芪降糖颗粒对小鼠空腹血糖(FBG)、体重(Weight)、血清胰岛素(Ins)的影响及胰岛 β 细胞病理改变情况。结果:各治疗组均能明显降低 2 型糖尿病小鼠的空腹血糖,增加血清胰岛素含量,有效控制小鼠体重降低,改善胰岛 β 细胞损坏。与模型组的空腹血糖、血清胰岛素和体重值(28.88 ± 6.79) mmol·L⁻¹, (9.69 ± 2.66) mU·L⁻¹, (20.00 ± 1.18) g 比较,黄芪降糖颗粒高剂量组(13.20 ± 2.02) mmol·L⁻¹, (18.98 ± 1.41) mU·L⁻¹, (26.08 ± 0.63) g 和盐酸二甲双胍片组(13.40 ± 1.92) mmol·L⁻¹, (17.33 ± 1.23) mU·L⁻¹, (25.83 ± 0.89) g 均有显著差异(P < 0.01),黄芪降糖颗粒低剂量组(19.35 ± 2.02) mmol·L⁻¹, (15.89 ± 1.38) mU·L⁻¹, (25.69 ± 0.44) g 和参芪降糖颗粒组(20.38 ± 1.93) mmol·L⁻¹, (15.80 ± 1.21) mU·L⁻¹, (22.90 ± 0.74) g 均有统计学意义(P < 0.05)。结论:黄芪降糖颗粒能明显降低 2 型糖尿病小鼠的空腹血糖,增加血清胰岛素含量,对胰岛 β 细胞具有修复作用。

[关键词] 2 型糖尿病;黄芪降糖颗粒;C57BL/6 小鼠;空腹血糖;血清胰岛素;胰岛 β 细胞

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0157-04

Experimental Study on Hypoglycemic Effect of Astragalus Hypoglycemic Granule

MA Yan, ZHANG Jing, WANG Ya, LA Xiao-jin, ZHANG Xiao-peng, LV Jian-dong, LA Wan-ying*
(Hebei United University, Tangshan 063000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the hypoglycemic effect of the Astragalus Hypoglycemic Granule on type 2 diabetic mice caused by streptozotocin (STZ). **Method:** Eighty SPF male C57BL/6 mice of 4-5 weeks old were given the diet of maintenance fodder for one week. After that 10 mice were selected randomly to form the normal group. Given high fat forage diet and intraperitoneal injection of STZ of 60 mg·kg⁻¹, type 2 diabetic model was established for the other 60 mice. Then, they were randomly divided into low dose of Astragalus Hypoglycemic Granule group(1.0 g·kg⁻¹), middle dose of Astragalus Hypoglycemic Granule group(2.0 g·kg⁻¹), high dose of Astragalus Hypoglycemic Granule group(3.0 g·kg⁻¹), metformin hydrochloride group(0.3 g·kg⁻¹), Ginseng-Astragalus Hypoglycemic Granule group(0.2 g·kg⁻¹), and model control group(n = 10 in each group). The mice in normal and model control groups were given distilled water once a day and the ones in other groups were administrated medicine treatment by ig once a day for 14 days. The changes regarding fasting blood glucose (FBG),

[收稿日期] 20101130(014)

[基金项目] 中华人民共和国科学技术部国际科技合作项目(2008DFA31050)

[第一作者] 马燕, 硕士研究生, 研究方向:应用中医药防治糖尿病的研究, Tel:13582910795, E-mail: mayan212002@yahoo.com.cn

[通讯作者] *喇万英, 本科, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 主要研究方向:应用中医药防治糖尿病的研究, Tel:13832873908, E-mail: lwy@nmc.edu.cn

body weight, serum insulin and pathological changes in β -Islet-cells were observed after continuous 14 days' medical administration of Astragalus Hypoglycemic Granule. **Result:** FBG was decreased significantly, the content of serum insulin was increased obviously, the body weight was controlled effectively and the damage of β -Islet-cells was repaired in type 2 diabetic mice of each group after medicine administration. Compared with the mice in model control group [FBG: (28.88 ± 6.79) mmol·L⁻¹, serum insulin: (9.69 ± 2.66) mU·L⁻¹, weight: (20.00 ± 1.18) g], there were significant difference with the mice in high dose of Astragalus Hypoglycemic Granule group [FBG: (13.20 ± 2.02) mmol·L⁻¹, serum insulin: (18.98 ± 1.41) mU·L⁻¹, weight: (26.08 ± 0.63) g] and the mice in metformin hydrochloride group [FBG: (13.40 ± 1.92) mmol·L⁻¹, serum insulin: (17.33 ± 1.23) mU·L⁻¹, weight: (25.83 ± 0.89) g] ($P < 0.01$). There showed statistical significance in the mice of low dose of Astragalus Hypoglycemic Granule group [FBG: (19.35 ± 2.02) mmol·L⁻¹, serum insulin: (15.89 ± 1.38) mU·L⁻¹, weight: (25.69 ± 0.44) g] and the mice in Ginseng-Astragalus Hypoglycemic Granule group [FBG: (20.38 ± 1.93) mmol·L⁻¹, serum insulin: (15.80 ± 1.21) mU·L⁻¹, weight: (22.90 ± 0.74) g] ($P < 0.05$). **Conclusion:** Astragalus Hypoglycemic Granule can significantly decrease fast blood glucose, increase the content of serum insulin and has repair function for β -islet-cells.

[**Key words**] type 2 diabetes; Astragalus Hypoglycemic Granule; C57BL / 6 mice; fasting blood glucose; serum insulin; β -islet-cells

糖尿病属中医消渴病的范畴,是一种常见的内分泌代谢性疾病,由于具有患病率、致残率及并发症高的特点,与心血管疾病和癌症并称为危害人类健康的三大疾患。消渴之名,首见于《内经》,根据病机及症状的不同,《内经》还有消瘴、肺消、膈消、消中等名称的记载。

中医药治疗糖尿病是多环节、多途径的,是综合作用的体现。从中药中寻找新的降糖药物,对改善患者的整体状况有独特的优势。黄芪降糖颗粒原方出自《黄帝素问宣明论方》:“(黄芪汤)治肺消,饮少瘦多,补肺平心。”其组成为:黄芪、五味子、人参、桑白皮、麦门冬、枸杞子、熟地黄。人参佐黄芪益气,麦门冬生津止渴,五味子敛汗生津,枸杞子、熟地黄滋补肝肾、生血益精,桑白皮清肺胃虚火、导热下行,全方以益气生津,滋肾养阴,清泻肺热见长,具有治疗消渴之功效。本实验观察了黄芪降糖颗粒对糖尿病模型小鼠的空腹血糖、体重、血清胰岛素的影响及胰岛 β 细胞病理改变情况。

1 材料

1.1 动物 SPF 级,雄性, C57BL/6 小鼠, 4 ~ 5 周龄, 体重 13 ~ 18 g, 从中国医学科学院中国协和医科大学实验动物研究所北京康蓝生物技术有限公司购进, 合格证号 0148604, 设施许可证编号 SYXK(冀) 2005-0038。每笼 10 只, 12 h 光照, 室温 18 ~ 22 °C, 相对湿度 40% ~ 70%, 自由摄食, 饮水。饲养笼具、

垫料、饲料、饮水均按 SPF 级实验动物的要求进行制备与消毒。

1.2 仪器与试剂 Olympus 光学显微镜(日本 Olympus 公司); Olympus 摄像显微镜(日本日立公司); BFX4-320 型低速自动平衡离心机(白洋离心机厂); 日立 7180 全自动生化分析仪(日本日立公司); FT-630G 微机多探头放免仪(北京核仪器厂); JM 系列电子计数天平(浙江余姚纪铭称重校验设备有限公司); AGM-2300 型唐博士血糖仪(A8H4316)及唐博士血糖试纸(北京唐博士医学科技有限公司, 血糖试纸批号 S09F15202)。链脲佐菌素(美国 Sigma 公司产品, 批号 B57218); 胰岛素放射免疫分析药盒(北京北方生物技术研究, 批号 20090629); 胰岛素抗体、胰岛素样生长因子(IGF) 抗体(北京博奥森生物技术有限公司); 0.3% 戊巴比妥钠(北京北实纵横科技发展有限公司); 4% 多聚甲醛(由华北煤炭医学院中医系实验室提供)。

1.3 药品 黄芪降糖颗粒所用颗粒剂为: 黄芪(批号 0909116)、五味子(批号 0907135)、人参(批号 0909072)、桑白皮(批号 0906175)、麦冬(批号 0909010)、枸杞子(批号 0909410)、熟地黄(批号 0904082), 均为广东一方制药有限公司产品。盐酸二甲双胍片为中美上海施贵宝制药有限公司产品(批号 0908060)。参芪降糖颗粒为鲁南厚普制药有限公司产品(批号 0907526)。

2 方法

2.1 造模与分组 采用 KK 饲料联合 STZ ip 的方法建立 2 型糖尿病小鼠模型^[2]。将 80 只 C57BL/6 小鼠以维持饲料适应性喂养 1 周后,随机取出 10 只作为正常组,全程维持饲料喂养,其余小鼠改用 KK 饲料(配方:脂肪 $7.19 \times 10^6 \text{ J} \cdot \text{kg}^{-1}$,蛋白 $2.91 \times 10^6 \text{ J} \cdot \text{kg}^{-1}$,碳水化合物 $7.35 \times 10^6 \text{ J} \cdot \text{kg}^{-1}$)喂养 2 个月后,禁食 12 h,ip STZ $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 复制 2 型糖尿病小鼠模型^[3](STZ 由 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 柠檬酸缓冲盐配制, pH 4.2~4.4,临用前配制)。5 d 后,禁食 12 h,尾尖采血,FBG $\geq 11.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 者^[4] 为造模成功,成模率为 86%。按照随机表法分为黄芪降糖颗粒低、中、高剂量组,盐酸二甲双胍片组,参芪降糖颗粒组,模型组,每组 10 只。

2.2 给药 黄芪降糖颗粒所含各药,用药剂量参考《中国药典》2005 年版一部确定,该方总药量为 56 g 生药/日,符合临床实际用量。生药按照相应颗粒剂比例转换为颗粒剂用量,根据动物与人的每公斤体重剂量折算系数表折算小鼠给药的临床等效剂量,分别得黄芪降糖颗粒低、中、高剂量为 $1.0, 2.0, 3.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,盐酸二甲双胍片为 $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,参芪降糖颗粒为 $0.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。ig 时均用 0.5 mL 蒸馏水溶解均匀^[1]。正常对照组与模型组 ig 同体积蒸馏水。每日 1 次,连续 14 d。

2.3 标本采集及指标观察

2.3.1 血清学检测 各组用药 14 d 后,禁食 12 h,称体重。末次给药 2 h 后,0.3% 戊巴比妥钠按 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip 麻醉,心脏采血,离心取血清;送河北联合大学(原华北煤炭医学院)附属医院用日立 7180 全自动生化分析仪检测空腹血糖,放免分析仪检测血清胰岛素。

2.3.2 免疫组化染色 小鼠麻醉后,切取胰腺组织,滤纸吸干,置于 4% 多聚甲醛中固定,常规脱水、透明、包埋、切片。切片厚度 $4 \mu\text{m}$ 。石蜡切片脱蜡至去离子水,采用枸橼酸修复缓冲液进行抗原高压热修复,滴加 3% 过氧化氢封闭内源性过氧化物酶,分别滴加一抗稀释度为 1:80, PV6001 试剂盒中的试剂(抗兔抗体酶复合物,生物素化二抗工作液),室温下滴加 DAB 显色剂,镜检观察显色效果,至棕黄色时终止显色,苏木素复染,脱水,二甲苯透明,封片剂封片。

2.4 统计学方法 所有数据进行整理分析,用

Excel 建立数据库,用 SPSS 13.0 统计分析软件进行数据分析,定量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组之间资料比较用 One-way ANOVA 方差分析,两组资料的比较用 *t* 检验, $P < 0.01$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对血清 FBG, Ins, 体重的影响 见表 1。与正常组相比,模型组 FBG 均显著升高, Ins 和体重显著降低,造模成功。与模型组 FBG, Ins 相比:黄芪降糖颗粒低、中剂量组和参芪降糖颗粒组均 $P < 0.05$, 黄芪降糖颗粒高剂量组和盐酸二甲双胍片组均 $P < 0.01$ 。与模型组体重相比:黄芪降糖颗粒低剂量组 $P < 0.05$, 黄芪降糖颗粒高剂量组和盐酸二甲双胍片组均 $P < 0.01$ 。

表 1 对糖尿病小鼠空腹血糖、血清胰岛素、体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	FBG / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	Ins / $\text{mU} \cdot \text{L}^{-1}$	体重 / g
正常	-	5.80 ± 0.38	20.39 ± 2.70	26.34 ± 1.95
模型	-	28.88 ± 6.79	9.69 ± 2.66	20.00 ± 1.18
黄芪降糖颗粒	1.0	$19.35 \pm 2.02^{1)}$	$15.89 \pm 1.38^{1)}$	$25.69 \pm 0.44^{1)}$
	2.0	$18.04 \pm 2.18^{1)}$	$15.72 \pm 2.00^{1)}$	24.90 ± 0.77
	3.0	$13.20 \pm 2.02^{2)}$	$18.98 \pm 1.41^{2)}$	$26.08 \pm 0.63^{2)}$
盐酸二甲双胍	0.3	$13.40 \pm 1.92^{2)}$	$17.33 \pm 1.23^{2)}$	$25.83 \pm 0.89^{2)}$
参芪降糖颗粒	0.2	$20.38 \pm 1.93^{1)}$	$15.80 \pm 1.21^{1)}$	22.90 ± 0.74

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 免疫组化染色结果 光镜下观察:阳性部位位于细胞浆,呈棕黄色。正常组胰岛 β 细胞数量多,形态规整,结构正常,细胞分布规则。少见或未见胰岛素及 IGF 阳性表达颗粒,胰岛素染色阳性面积百分比大。与正常组相比较,模型组可见胰岛萎缩,胰岛细胞数明显减少,胰岛细胞肥大,脱颗粒, β 细胞大小不一。各治疗组与模型组相比,胰岛数及胰岛内细胞数增多,形态较为规则结构较为正常,核仁较清晰,细胞排列均匀,少部分核固缩。而黄芪降糖颗粒高剂量组与盐酸二甲双胍组,胰岛数及胰岛内细胞数明显增多,细胞分布均匀,核仁较清晰,细胞排列均匀,核大小基本相等。 β 细胞数量增多,分泌颗粒明显增多,较参芪降糖颗粒组改变明显。各治疗组均可见胰岛素及 IGF 阳性表达颗粒,但黄芪降糖颗粒高剂量组与二甲双胍组着色强度及范围明显减轻。

4 讨论

小鼠造模成功后,逐渐出现不同程度的多饮、多

食、多尿、消瘦等症状,且毛色杂乱无光,反应迟钝,精神萎靡。14 d 后,各治疗组上述症状均有好转,且黄芪降糖颗粒高剂量组疗效最为突出。

实验结果显示:各治疗组均能降低 2 型糖尿病小鼠的 FBG,增加血清 Ins 含量,有效控制小鼠体重降低,改善胰岛 β 细胞损坏。黄芪降糖颗粒高剂量组和盐酸二甲双胍片组作用相似,均能显著改善上述指标($P < 0.01$)。黄芪降糖颗粒低剂量组和参芪降糖颗粒组作用相似,均能改善上述指标($P < 0.05$)。

很多实验研究已表明黄芪降糖颗粒中 7 味中药均有降糖作用:应用黄芪注射液 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给 STZ 所致的糖尿病大鼠模型 ig 治疗,可以降低大鼠血糖、蛋白尿、抑制肾脏肥大,减轻肾脏病理改变^[5]。徐承水报道,SD 大鼠 ip 四氧嘧啶后给予由人参水提液 $100 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓缩制备的标准基础饲料,可显著降低受试动物血糖^[6]。黄琦等报道,麦冬经水提醇沉后提取出麦冬多糖,制成胶囊,给糖尿病病人服用检测其空腹血糖、空腹血浆胰岛素等,总有效率为 91.49%,且能稳定血糖,改善胰岛素敏感性,使周围组织对胰岛素抵抗降低^[7]。五味子也可降低血糖,防治并发症的产生^[8]。地黄水提液可以上调胰岛素原(proinsulin)基因的表达,修复胰岛 β 细胞功能,从而达到治疗 2 型糖尿病的目的^[9]。桑白皮所含 1-脱氧野尻霉素能促进外周组织的葡萄糖代谢、提高肝细胞对胰岛素的敏感性^[10]。宁夏枸杞子提取物可引起大鼠血糖显著而持久的降低,同时糖耐量升高^[11]。

综上所述,黄芪降糖颗粒能明显降低 2 型糖尿病小鼠的空腹血糖,增加血清胰岛素含量,对胰岛 β 细胞具有修复作用。虽然与盐酸二甲双胍片接近,但其对胰岛 β 细胞具有更好修复作用,且无毒副作用,

可以长期服用。

[参考文献]

- [1] 唐丽琴,魏伟,陈礼明,等.复方黄连胶囊降血糖作用的实验研究[J].中国新药杂志,2006,15(18):1555.
- [2] 李桂云,吴正治.STZ 建立 2 型糖尿病大鼠模型的剂量探讨[J].深圳中西医结合杂志,2007(2):74.
- [3] 杨巍,罗春元,于春雷,等.不同剂量 STZ 诱导小鼠糖尿病模型的发病机制[J].吉林大学学报:医学版,2006,32(3):432.
- [4] 张俐勤,戚向阳,陈维军,等.罗汉果皂苷提取物对糖尿病小鼠血糖、血脂及抗氧化作用的影响[J].中国药理学通报,2006,22(2):237.
- [5] 宋恩峰,刘晶晶,贾汝汉,等.黄芪对 2 型糖尿病大鼠肾脏结缔组织生长因子的影响[J].中国中西医结合肾病杂志,2008,9(5):431.
- [6] 徐承水,张祥沛.人参对大鼠血糖水平的影响[J].泰山医学院学报,2003,25(3):75.
- [7] 黄琦,许家鸾.麦冬多糖对 2 型糖尿病血糖及胰岛素抵抗的影响[J].浙江中西医结合杂志,2002,12(2):81.
- [8] 古丽卡拉木·吾布力艾山,库尔班·乌布力.维吾尔医草药五味子治疗糖尿病的作用[J].中国民族医药杂志,2009,11:51.
- [9] 孟庆宇,吕秀芳,金秀东,等.地黄水提液对 2 型糖尿病大鼠 proinsulin 基因表达的影响[J].中药材,2008,31(3):397.
- [10] 汪宁,朱荃,周义维,等.桑枝、桑白皮体外降糖作用研究[J].中药药理与临床,2005,21(6):35.
- [11] 侯庆宁,何兰杰.枸杞多糖对 2 型糖尿病大鼠血糖、血脂及 TNF- α 水平的影响[J].宁夏医学杂志,2009,31(3):201.

[责任编辑 聂淑琴]