

自拟芪麦汤对糖尿病小鼠糖耐量及 α -糖苷酶的影响

李唯佳¹, 戴关海², 童晔玲², 杨锋² (1.浙江省立同德医院, 杭州 310012; 2.浙江省中医药研究院, 杭州 310007)

摘要: 目的 观察自拟芪麦汤对糖尿病模型小鼠葡萄糖耐量的影响, 体外对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用。方法 四氧嘧啶高血糖模型小鼠随机分为芪麦汤低、中、高剂量组, 芪麦汤低、中、高剂量联合二甲双胍组, 二甲双胍组, 模型对照组及正常对照组。给药 30 d, 结束后取血测空腹血糖, 接着各组动物灌胃葡萄糖 $2.0 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 测给糖后 0.5, 2 h 血糖值, 计算糖耐受量。选用芪麦汤水煎液及水煎醇提液为材料, 采用体外比色法分别测定不同浓度芪麦汤药液对 α -葡萄糖苷酶的抑制率。结果 中、高剂量芪麦汤对糖尿病模型小鼠葡萄糖耐受量均有明显的降低作用, 中、高剂量芪麦汤与二甲双胍合用均可明显降低模型小鼠葡萄糖耐受量, 与单用二甲双胍比较有显著性差异。芪麦汤水煎液及水煎醇提液对 α -葡萄糖苷酶均有较好的抑制作用, 并有良好的量效关系, 而相同剂量的水煎醇提液比水煎液的抑制率效果更好。结论 自拟芪麦汤具有提高模型小鼠葡萄糖耐受量的作用。自拟芪麦汤对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用, 提示了该方降糖作用的可能机制之一。

关键词: 自拟芪麦汤; α -葡萄糖苷酶; 抑制作用; 四氧嘧啶糖尿病模型; 糖耐受量

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)04-0307-04

Effects of Qimai Decoction on Glucose Tolerance in Diabetic Mice and α -Glucosidase

LI Weijia¹, DAI Guanhai², TONG Yeling², YANG Feng² (1. Tongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, China; 2. Zhejiang Province Chinese Medicine Research Institute, Hangzhou 310007, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effects of Qimai decoction on the glucose tolerance and to study its inhibitory effect on α -glucosidase. **METHODS** Diabetic mice model induced by alloxanin were divided into low-dose, middle-dose and high-dose, Qimai decoction groups, low-dose, middle-dose and high-dose Qimai decoction plus metformin groups, metformin control group, model control group, and normal control group. Fasting blood glucose was measured in those mice after 30 days of administration. Then all the mice were given stomach-lavaging of glucose ($2.0 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and the glucose tolerance was

作者简介: 李唯佳, 女, 副主任中医师

Tel: (0571)89972402

E-mail: liweijia0209@163.com

calculated by measuring their blood sugar level after 0.5 h and 2 h. Decoction and decoction alcohol of Qimai decoction were taken as raw material, and inhibitory rate of different concentration of Qimai decoction on α -glucosidase was measured by *in vitro* assay. **RESULTS** Middle-dose and high-dose Qimai decoction could obviously reduce glucose tolerance in diabetic mice, middle-dose and high-dose Qimai decoction plus metformin could also reduce glucose tolerance in diabetic mice and it was significant different from metformin group. Both decoction and decoction alcohol of Qimai decoction can inhibit α -glucosidase, which showed a good dose-effect relationship. The same dose decoction alcohol showed a better inhibitory effect than decoction. **CONCLUSION** Qimai decoction can improve the glucose tolerance of diabetic mice, it also has inhibitory effect on α -glucosidase *in vitro* which may indicate an possible mechanism of Qimai decoction reducing blood sugar.

KEY WORDS: Qimai decoction; α -glucosidase; inhibitory effect; diabetic mice model induced by alloxanin; glucose tolerance

芪麦汤用于糖尿病治疗有良好的临床基础^[1], 笔者结合自己的实践经验, 采用自拟芪麦汤随证加减, 治疗气阴两虚型糖尿病取得一定疗效。自拟芪麦汤由黄芪、麦冬、五味子、葛根、丹参及黄连组成, 具有益气滋阴、清热通络作用。方中黄芪补气升阳益卫固表、麦冬滋阴润肺养胃清心共为君药, 五味子益气生津补肾养心, 葛根清热生津解肌升阳同为臣药, 加强补气滋阴之力, 佐以丹参活血祛瘀通络安神, 黄连清热燥湿。全方补不滋腻, 清不伤正, 共奏益气滋阴、清热通络之功, 切中糖尿病气阴两虚、燥热络阻的中医病机。中医治疗糖尿病的独特优势为通过扶正祛邪、活血通络, 降糖的同时能改善胰岛素敏感性, 提高机体整体免疫力, 预防或减慢并发症的发生发展, 缓解症状, 提高生活质量。

本课题通过自拟芪麦汤对四氧嘧啶造模小鼠葡萄糖耐受量影响的研究, 观察了该方的药效作用。同时观察了自拟芪麦汤体外对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用, 为该方的降糖机制提供实验依据。

1 材料

1.1 药物与试剂

1.1.1 受试药 自拟芪麦汤, 由黄芪 30 g、麦冬 12 g、五味子 9 g、葛根 15 g、丹参 15 g、黄连 6 g 组成, 用水煎醇提制备成 4.35 g 生药·mL⁻¹, 使用时用蒸馏水配成所需浓度。

1.1.2 对照药及试剂 盐酸二甲双胍片(北京中惠药业有限公司, 批号: 20101203, 规格: 0.25 g·片⁻¹, 48 片·瓶⁻¹); 葡萄糖(GLU)测定试剂盒(上海荣盛生物有限公司, 批号: 20101001); 四氧嘧啶(Sigma 公司, 批号: 37H1381); α -葡萄糖苷酶(日本东京化工工业株式会社, 批号: FGI01); 4-硝基酚- α -D-吡喃葡萄糖苷(PNPG, Elmerck 公司); 还原型谷胱甘肽(中科院上海生物化学研究所); 其余试剂均为国产分析纯试剂。

1.2 动物

ICR 小鼠, δ , 体质量 25~28 g, 合格证号: 0043310, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 实验动物许可证号: SCXK(沪)2007-0005。实验动物均饲养于本院(25 \pm 2) $^{\circ}$ C 的屏障实验室, 实验动物许可证: SYXK(浙)2009-0122。

1.3 仪器

721 型分光光度计(上海精密科学仪器有限公司); GS-6R 离心机(Beckman 公司); BS210S 电子天平(北京 Sartorius 公司); DNM-9602G 酶标分析仪(北京普朗新技术有限公司); GS-6R 离心机(Beckman 公司); BS210S 电子天平(北京 Sartorius 公司)。

1.4 统计学处理

两组均数之间显著性统计方法采用 *t* 检验。

2 方法

2.1 自拟芪麦汤的制备

按配方, 取黄芪 750 g、麦冬 300 g、五味子 225 g、葛根 375 g、丹参 375 g、黄连 150 g 共 2 175 g 生药, 加入 8 000 mL 水浸泡 1 h, 加热至沸, 煎煮 1.5 h, 过滤药渣, 加水 6 000 mL, 再煎煮 1.0 h, 过滤, 滤液合并, 浓缩至 2.0 g 生药·mL⁻¹, 放至室温, 边加入 95%乙醇边搅拌, 使含醇量为 50%, 4 $^{\circ}$ C 静置 48 h, 过滤去沉淀, 滤液回收乙醇至无醇味, 制成 4.35 g 生药·mL⁻¹ 浸膏备用。

2.2 自拟芪麦汤对四氧嘧啶糖尿病模型小鼠葡萄糖耐受量影响的研究^[2-3]

取 ICR 小鼠, δ , 适应性饲养 2~3 d, 小鼠禁食 24 h 后, 尾静脉注射四氧嘧啶溶液(55 mg·kg⁻¹)。5 d 后模型小鼠随机分为芪麦汤低剂量(13.1 g 生药·kg⁻¹)组、芪麦汤中剂量(26.2 g 生药·kg⁻¹)组、芪麦汤高剂量(52.4 g 生药·kg⁻¹)组、芪麦汤低剂量(13.1 g 生药·kg⁻¹)+二甲双胍(0.23 g·kg⁻¹)组、芪麦汤中剂量(26.2 g 生药·kg⁻¹)+二甲双胍(0.23 g·kg⁻¹)组、芪麦汤高剂量(52.4 g 生药·kg⁻¹)+二甲双胍(0.23 g·kg⁻¹)组及模型对

照组。实验同时取 10 只小鼠作为正常对照组，正常对照组和模型对照组喂蒸馏水(25 mL·kg⁻¹)。各组动物均每日灌胃给药 1 次，连续 30 d。实验当天各组动物禁食 5 h，末次给药后 1.5 h，眼眶取血，分离血清，用葡萄糖氧化酶法测定血糖值。接着各组动物均经口灌胃葡萄糖 2.0 g·kg⁻¹，测给葡萄糖后 0.5 h 和 2 h 的血糖值，观察动物的葡萄糖耐受量。

2.3 自拟芪麦汤对 α -葡萄糖苷酶抑制作用的研究^[4-5]

自拟芪麦汤水煎液及水煎醇提液用 0.1 mol·L⁻¹，pH 7.0 磷酸缓冲液倍比稀释成 10 个浓度(80~0.156 mg·mL⁻¹)，检测在 96 孔板上进行，各药设 3 个组，每组每一浓度设 2 个复孔，分别为：a. 对照组(缓冲液+底物+酶液)、b. 样品测定组(样品+底物+酶液)、c. 样品对照组。实验时预先往 96 孔板里加入 80 μ L 不同浓度的样品溶液，然后加入 40 μ L 40 mmol·L⁻¹ 底物(PNPG)，37 $^{\circ}$ C 保温 5 min，加入酶溶液 20 μ L，37 $^{\circ}$ C 保温 15 min，加入 120 μ L 0.1 mol·L⁻¹ Na₂CO₃ 终止酶反应，样品对照在终止

酶反应后再加药液。在酶标仪 405 nm 处测定在酶作用下从 PNPG 中释放出的对硝基苯(PNP)的吸光度值。酶活力单位定义：在 37 $^{\circ}$ C，pH 6.8 条件下 1 min 内水解 PNPG 释放出 1 μ mol PNP 所需的酶量。抑制剂活力单位定义：在 37 $^{\circ}$ C，pH 6.8 条件下相同时间内能使 1 个酶活力单位失活为 1 个抑制单位。按下列方法计算抑制率：抑制率(%)=100-(b-c)/a \times 100%。

3 结果

3.1 自拟芪麦汤对糖尿病模型小鼠葡萄糖耐受量的影响

中、高剂量芪麦汤均可降低糖尿病模型小鼠给糖后 0, 0.5, 2 h 血糖值及曲线下面积，与模型对照组比较有显著性差异。中、高剂量芪麦汤+二甲双胍均能降低给糖后 0, 0.5, 2 h 血糖值及曲线下面积，与模型对照组比较有显著性差异；同时两组各指标均低于二甲双胍组，两者与二甲双胍组比较有显著性差异。结果见表 1。

表 1 自拟芪麦汤对糖尿病模型小鼠糖耐量的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of Qimai decoction on glucose tolerance in diabetic mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血糖值/mol·L ⁻¹			曲线下面积
		0 h	0.5 h	2 h	
芪麦汤低剂量组	10	29.79 \pm 11.30	35.09 \pm 5.51	31.15 \pm 11.30	65.90 \pm 14.90
芪麦汤中剂量组	10	15.56 \pm 9.32 ¹⁾	28.64 \pm 6.67 ²⁾	15.57 \pm 8.13 ³⁾	44.20 \pm 15.04 ²⁾
芪麦汤高剂量组	10	17.16 \pm 8.03 ¹⁾	25.88 \pm 5.99 ³⁾	16.41 \pm 8.15 ³⁾	42.48 \pm 12.72 ²⁾
芪麦汤低剂量+二甲双胍组	10	18.32 \pm 11.98	29.56 \pm 8.30 ²⁾	23.20 \pm 11.09	51.54 \pm 20.49 ¹⁾
芪麦汤中剂量+二甲双胍组	10	12.18 \pm 7.32 ²⁾⁴⁾	26.60 \pm 6.70 ³⁾⁴⁾	15.19 \pm 7.52 ³⁾⁴⁾	41.04 \pm 13.56 ³⁾⁴⁾
芪麦汤高剂量+二甲双胍组	10	12.97 \pm 6.95 ²⁾⁴⁾	23.12 \pm 4.31 ³⁾⁶⁾	12.96 \pm 5.93 ³⁾⁵⁾	36.08 \pm 8.11 ³⁾⁵⁾
二甲双胍组	10	17.39 \pm 7.45 ¹⁾	30.35 \pm 8.07 ¹⁾	20.76 \pm 10.17 ¹⁾	50.27 \pm 15.23 ¹⁾
模型对照组	12	27.44 \pm 12.88 ⁷⁾	38.70 \pm 7.71 ⁷⁾	32.57 \pm 11.88 ⁷⁾	69.99 \pm 18.83 ⁷⁾
正常对照组	10	4.48 \pm 0.76	11.95 \pm 2.68	8.68 \pm 0.61	19.58 \pm 2.62

注：与模型对照组比较，¹⁾P<0.05，²⁾P<0.01，³⁾P<0.001；与二甲双胍组比较，⁴⁾P<0.05，⁵⁾P<0.01，⁶⁾P<0.001；与正常对照组比较，⁷⁾P<0.001

Note: Compared with model group, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01, ³⁾P<0.001; compared with metformin group, ⁴⁾P<0.05, ⁵⁾P<0.01, ⁶⁾P<0.001; compared with normal control group, ⁷⁾P<0.001

3.2 自拟芪麦汤对 α -葡萄糖苷酶的影响

自拟芪麦汤水煎液及水煎醇提液对 α -葡萄糖苷酶均有较好的抑制作用，并有良好的量效关系，而相同剂量的水煎醇提液比水煎液的抑制率效果更好。结果见表 2。

4 讨论

糖尿病是由遗传因素与后天环境因素联合作用而导致的一种慢性高血糖状态，主要表现为空腹及餐后血糖增高。餐后高血糖加重胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞分泌缺陷，直接损害终末器官，与心血管疾病发生、发展关系密切，是糖尿病慢性

表 2 自拟芪麦汤对 α -葡萄糖苷酶的抑制率

Tab 2 Inhibition rate of Qimai decoction on α -glucosidase *in vitro*

药物浓度/ mg·mL ⁻¹	抑制率/%	
	水煎醇提液	水煎液
80.0	99.9	98.0
40.0	92.2	58.1
20.0	93.9	44.4
10.0	48.2	39.3
5.0	42.5	28.4
2.5	26.3	25.9
1.25	14.1	17.3
0.625	12.7	14.2
0.313	2.9	7.1
0.156	1.9	2.0

并发症的独立危险因素^[6]。 α -葡萄糖苷酶抑制剂的作用机制为抑制碳水化合物在小肠上部的吸收,降低餐后血糖,并通过对餐后糖负荷的改善而改善空腹血糖,适用于以碳水化合物为主要食物成分和餐后血糖升高的患者^[7]。降低餐后血糖升高的幅度,可减轻对胰岛 β 细胞的刺激,从而使血浆胰岛素分泌减少,起到缓解胰岛 β 细胞负荷的作用^[8]。以中草药为来源的 α -葡萄糖苷酶抑制剂筛选研究表明,多种中药提取物具有 α -葡萄糖苷酶抑制作用,其中以滋阴药、清热药为多^[9-11]。

自拟芪麦汤由黄芪、麦冬、五味子、葛根、丹参及黄连组成,有实验研究证实处方中各味中药单药大多有降糖、保护胰岛 β 细胞、改善慢性并发症及抑制 α -葡萄糖苷酶的作用。本实验观察到自拟芪麦汤明显降低糖尿病模型小鼠的空腹血糖、餐后血糖,并提高动物的葡萄糖耐受量及增强二甲双胍的药效作用;同时本实验观察到自拟芪麦汤水煎液、水煎醇提液在体外对 α -糖苷酶均有较好的抑制作用,表现出良好的量效关系。说明芪麦汤对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用是糖耐量试验有效的原因,也是其临床疗效的基础。在糖代谢调节方面更深入的作用机理有待后续的进一步研究。

REFERENCES

[1] SHEN Y D, CHEN Y D. Clinical effects of Qi-mai tang in treating diabetic caused by NIDDM of 60 cases [J]. Gansu J

Tradit Chin Med(甘肃中医), 1999, 12(5): 25-26.

- [2] JI Y, ZHANG K R, WANG W J, et al. The establishment of alloxan diabetes model [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中医药学刊), 2003, 21(7): 1125-1126.
- [3] YANG M H, YANG S P, CHAI K F, et al. Optimization of experimental conditions for establishing a diabetes mice model induced by alloxan [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2007, 23(5): 213-216.
- [4] MAO C P, GU Z L, XU N Y, et al. Study of herbs Jiangtangpian for alpha-glucosidase inhibition [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2002, 33(10): 931-932.
- [5] YUAN A H, MA J, JIANG X F, et al. Screening of glucosidase inhibitors from various fractions of mulberry leaves [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2006, 31(3): 223-227.
- [6] MENG X, ZHANG J. The importance of control of postprandial hyperglycemia and its progress [J]. Liaoning J Pract Diabetol(辽宁实用糖尿病杂志), 2004, 12(2): 6-8.
- [7] Chinese Medical Association Diabetes Branch. Type 2 diabetes prevention and treatment guidelines(2007) [J]. Chin Med J(中华医学杂志), 2008, 88(18): 1227-1245.
- [8] JIA H Y, TIAN H M. Study and evaluation in the treatment of IGT of glucosidase inhibitor, evidence-based medicine [J]. Chin J Pract Intern Med(中国实用内科杂志), 2005, 25(4): 296-298.
- [9] ZHANG J P, HUANG L, SHI H. Effect of of hypoglycemic Dabuyin herbs on α -glucosidase[J]. J Fujian Coll Tradit Chin Med (福建中医学院学报), 2003, 13(5): 29-30.
- [10] GAO X P, ZHANG W Y, ZHOU W J, et al. Screening of α -glucosidase inhibitor in the extract of Chinese medicine [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2003, 15(6): 536-538.
- [11] KANG W Y, ZHANG L, ZHANG Q, et al. Study of α -glucosidase inhibitor in the extract of Chinese medicine Coptis [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2009, 21(6): 992-994.

收稿日期: 2011-12-13