

开郁清胃颗粒对链脲佐菌素诱发糖尿病大鼠降糖机理的实验研究

柳红芳¹, 仝小林², 王庆国¹

(1 北京中医药大学, 北京 100029; 2 北京中日友好医院, 北京 100029)

摘要: 目的: 探讨对 STZ 糖尿病大鼠模型降糖作用的机制。方法: 用血糖仪检测了开郁清胃颗粒对 STZ 糖尿病大鼠血糖的影响; 用放免分析法测定了中药治疗后胰岛素、胰高血糖素、皮质醇、胃动素、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)含量的变化; 用左旋木糖试验测定了药物对小肠吸收功能的影响。结果: 开郁清胃颗粒能降低糖尿病模型大鼠的血糖、皮质醇水平; 升高胃动素、胰岛素样生长因子-1水平; 对体重、胰岛素、胰高血糖素和小肠吸收功能无明显影响。结论: 开郁清胃颗粒能降低糖尿病模型大鼠的血糖, 其降糖机理不同于二甲双胍抑制葡萄糖在小肠的吸收; 也不同于磺脲类增加胰岛的分泌功能; 而是升高 IGF-1 和胃动素水平, 降低皮质醇水平。

关键词: 开郁清胃颗粒; 血糖; 降糖机理

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)05-0031-04

Experimental Study on Therapeutic Mechanism of Kaiyu Qingwei Granules in Reducing Blood Sugar

LIU Hongfang¹, TONG Xia-lin², WANG Qing-guo¹

(1 Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029;

2 Friendship Hospital of China and Japan, Beijing 100029)

Abstract: To study the mechanism of Kaiyu Qingwei Granules in reducing blood sugar in STZ diabetes rats, blood sugar in STZ diabetes rats was determined by one-touch II blood sugar instrument. The level variations of insulin, glucagons, cortisol, motilin, insulin-like growth factor-1(IGF-1) and the absorb function in small intestine were measured by radioimmunoassay (RIA) and dextroxylosetest, respectively. Results showed Kaiyu Qingwei Granules could reduce the level of blood sugar and cortisol in STZ diabetic rats, and increase the level of IGF-1 and motilin. It did not obvious effect on body weight, insulin, glucagons and the function of glucose absorb in small intestine.

Key words: Kaiyu Qingwei Granules; blood sugar; Mechanism in reducing Blood sugar

大柴胡汤是仲景书中的一张名方, 主治少阳病兼里实证。我们运用其加减方——开郁清胃颗粒治疗肝胃郁热型 II 型糖尿病收到了很好的临床降糖疗效^[1], 为探讨其作用机理, 我们观察了其链脲佐菌素(STZ)糖尿病模型大鼠血糖、体重、胰岛素、胰高血糖素、皮质醇、胃动素(MTL)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)和小肠吸收功能的影响。

1 材料

1.1 动物 选用雄性 Wistar 大鼠 50 只, 体重 180~220g, 周龄 6~8 周, 由中国医学科学院实验动物中心提供。

1.2 药物与仪器

1.2.1 药物 开郁清里颗粒: 由北柴胡(*Bupleurum chinense* D.C.)、黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)、黄连(*Coptis chinensis* Franch)、清半夏(*Pinaellia ternate* Breit.)、枳实(*Poncirus trifoliata* Raf.)、大黄(*Rheum Palmatum* L.)组成, 比例为 7.5: 4.5: 4.5: 4.5: 3: 1 经醇提水沉制成含生药 4g/ml 的溶液, 由中日友好医院药学部提供; 盐酸二甲双胍片: 北京双鹤药业股份有限公司产, 批号: 990825 用生理盐水配成 0.1% 的浓度; 链脲佐菌素(Streptozotocin STZ): 购自 Sigma 公司, 批号 202—263—7; 胰岛素、胰高血糖素、胰岛素样生长因子-1、胃动素和皮质醇放射免疫试剂盒: 北京海科锐生物技术中心产品, 批号分别为卫药准字 R-11、R-64 R-70 R-67 和 R-69。

1.2.2 仪器: one-touch II 血糖仪: 美国强生公司产

品; 721 分光光度仪: 上海光学仪器厂; F_T-630G 微机多道 r 测定仪: 北京二六二厂。

2 实验方法

2.1 糖尿病模型制备方法^[2] 将 Wistar 大鼠随机分为 4 组: 一组为正常对照组 (10 只), 另三组 (40 只) 先制备成糖尿病模型, 然后从中选用血糖大于 16.7mmol/l 的大鼠 30 只分为糖尿病模型组 (10 只)、中药组 (10 只) 和西药组 (10 只)。禁食 12h 后, 左下腹腹腔内注射 STZ (用 0.1mol/l 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液冰浴中配制成 1% 的溶液, pH 值 4.4) 65mg/kg 体重。3d 后测血糖在 16.7mmol/l 以上者确定为糖尿病; 正常对照组大鼠腹腔内注射等体积柠檬酸缓冲液。

2.2 给药方法 各组均为灌胃给药四周, 每日一次, 剂是为 ①中药组: 4g/ml 的开郁清胃颗粒 36g/kg ②西药组: 0.1% 的二甲双胍 0.5g/kg ③模型组: 生理盐水 3ml/只 ④正常对照组: 生理盐水 3ml/只。

2.3 血糖 动物非禁食状态下, 晨 9 时尾静脉取血, 给药前及给药第二、四周时各测一次。第二、四周检测血糖时间均为给药 (水) 1h 后。

2.4 血清胰岛素、胰高血糖素、皮质醇、胰岛素样生长因子-1 测定 动物 35mg/kg 的戊巴比妥钠麻醉后, 颈动脉插管取血; 静置 1h 后, 离心血清 (3500rpm) 10min; 用放免分析法 (按药盒说明书步骤操作)。

2.5 血浆胃动素测定 动物麻醉后, 颈动脉插管取血放入抗凝管 (抑肽酶 30μl/支, 10% EDTA40μl/支) 中, 离心血浆 (3500rpm) 10min; 用放免分析法 (按药盒说明书步骤操作)。

2.6 小肠吸收功能测定 用右旋木糖吸收实验法^[3]。同批动物末次给药 1h 后, 先尾静脉取血测血糖, 然后各组灌服 4% D-木糖溶液 0.3g/kg, 1h 后麻醉取血 (方法同上), 制备血清, 然后按以下步骤进行实验。(1) 在 50ml 三角烧瓶内放大鼠血清 1 份, 加蒸馏水 8 份, 再加 0.3mol/L 硫酸 0.5 份, 再加 10% 钨酸钠 0.5 份, 均随加随摇。离心沉淀除去蛋白质, 即得无蛋白滤液。(2) 取试管 4 只, 第 1 管为空白管, 放蒸馏水 2ml, 第 2、3 管分别放低浓度 (0.05mg/ml) 和高浓度 (0.1mg/ml) 木糖标准液, 第 4 管放无蛋白滤液各 2ml。(3) 在以上各管内均各加 1% 二羟基甲苯试剂 2ml, 混匀。(4) 置沸水中 1h, 冷却后各管加蒸馏水稀释至 25ml, 混匀。(5) 用 630nm 测光密度, 校正空白管光密度到零点, 读取各管光密度值。(6) 先算

K 值: $K = \frac{\text{低浓度标准管光密度}}{0.025} + \frac{\text{高浓度标准管光密度}}{0.05}$ 。(7) 血清内木糖含量 (mg/l) = (测定管光密度/K) × 500

2.7 统计学处理 实验数据均数 ± 标准差表示, 组间显著性差异采用 *t* 检验。

3 实验结果

3.1 对 STZ 大鼠非空腹血糖的影响 见表 1。结果表明: 模型组血糖较正常组明显升高 ($P < 0.001$), 治疗 2 周后, 中药和二甲双胍均可使血糖下降 ($P < 0.05$), 且第 4 周时血糖下降更明显 ($P < 0.01$)。

表 1 各组非空腹血糖比较 ($\bar{x} \pm s$; mmol/l; $n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	疗前	疗后 2 周	疗后 4 周
正常	-	4.17 ± 0.28	3.87 ± 0.21	4.37 ± 0.68
模型	-	19.93 ± 1.98 ^{###}	20.07 ± 5.18 ^{###}	18.83 ± 1.63 ^{###}
二甲双胍	0.5	20.41 ± 1.71	15.06 ± 1.58 [*]	14.68 ± 2.2 [*]
中药	36	19.64 ± 1.77	15.52 ± 1.50 [*]	15.05 ± 1.23 [*]

注: 与正常组比^{###} $P < 0.001$, 与模型组比^{*} $P < 0.05$; ^{**} $P < 0.01$ 。

3.2 对 STZ 大鼠体重的影响 见表 2。结果表明: 模型组体重较正常组明显减轻 ($P < 0.001$)。治疗后中药组和二甲双胍组体重与模型组比无统计学差异。

表 2 各组体重比较 ($\bar{x} \pm s$; g; $n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	疗前	疗后 2 周	疗后 4 周
正常	-	280.6 ± 8.4	319.3 ± 11.3	340.1 ± 13.48
模型	-	198 ± 10.88 ^{###}	218.5 ± 15.8 ^{###}	225.2 ± 16.44 ^{###}
二甲双胍	0.5	202.1 ± 12.9	214.5 ± 16.9	225.7 ± 12.42
中药	36	194.2 ± 9.24	199.6 ± 13.2	212 ± 10.8

3.3 对 STZ 大鼠胰岛素、胰高血糖素和皮质醇的影响 见表 3。结果表明: STZ 模型组胰高血糖素和皮质醇血清含量均升高 ($P < 0.001$ 和 $P < 0.05$); 胰岛素含量降低 ($P < 0.001$)。治疗后与模型组比: 中药组能降低皮质醇含量 ($P < 0.05$); 但对胰岛素和胰高血糖素含量无明显影响。二甲双胍对胰岛素、胰高血糖素和皮质醇的含量均无影响。

3.4 对 STZ 大鼠胰岛素样生长因子-1 和胃动素的影响 见表 4。结果表明: 模型组与正常组比: 胰岛素样生长因子-1 和胃动素含量均降低 ($P < 0.001$ 和 $P < 0.05$); 治疗后与模型组比: 中药组能升高胰岛素样生长因子-1 和胃动素含量 ($P < 0.001$ 和 $P < 0.05$); 但二甲双胍对它们无明显影响。

表 3 治疗 4 周后胰岛素、胰高血糖素、皮质醇和胃动素变化的比较($\bar{x} \pm s$; $n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	胰岛素 (IU/ml)	胰高血糖素 (pg/ml)	皮质醇 (ng/ml)
正常	-	21.52 $\pm$ 4.24	175.91 $\pm$ 53.61	16.45 $\pm$ 3.40
模型	-	10.70 $\pm$ 2.08 ^{# # #}	362.88 $\pm$ 64.37 ^{# # #}	23.56 $\pm$ 6.37 [#]
二甲双胍	0.5	9.41 $\pm$ 3.35	281.84 $\pm$ 94.91	19.19 $\pm$ 6.08
中药	36	9.73 $\pm$ 2.24	69.23 $\pm$ 48.06	16.27 $\pm$ 4.17 [*]

表 4 治疗 4 周后胰岛素样生长因子-1 和胃动素变化的比较($\bar{x} \pm s$; $n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	IGF-1 (ng/ml)	MTL (pg/ml)
正常	-	1456.85 $\pm$ 183.64	233.46 $\pm$ 25.99
模型	-	387.28 $\pm$ 90.60 ^{# # #}	202.65 $\pm$ 20.60 [#]
二甲双胍	0.5	348.99 $\pm$ 102.32	209.01 $\pm$ 7.13
中药	36	582.14 $\pm$ 78.93 ^{* * *}	237.27 $\pm$ 25.61 [*]

3.5 对 STZ 大鼠小肠吸收功能的影响 见表 5。结果表明:模型组与正常组比血清右旋木糖含量明显增加 ($P < 0.001$),即小肠吸收功能增强。治疗后与模型组比:二甲双胍能明显降低血清右旋木糖含量 ($P < 0.001$),即抑制了小肠的吸收功能。但中药对小肠吸收功能无明显的影响作用。

表 5 治疗 4 周后小肠吸收功能的比较($\bar{x} \pm s$; $n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	血清右旋木糖含量 (mg/l)
正常	-	22.34 $\pm$ 9.78
模型	-	164.45 $\pm$ 38.75 ^{# # #}
二甲双胍	0.5	68.36 $\pm$ 31.09 ^{* * *}
中药	36	166.80 $\pm$ 147.19

4 讨论

中医学认为,消渴病的发生由于长期情志不舒或暴怒导致肝失条达,气机郁滞,生热化燥,或因长期过食甘美厚味,使脾运化功能损伤,胃中积滞,蕴热化燥,燥热复必伤阴,阴津不足又能化生燥热,如此恶性循环使病情逐渐加重。开郁清胃颗粒由大柴胡汤加减而成,主要药物组成是柴胡、黄芩、黄连、清半夏、枳实、大黄等。大柴胡汤出自《伤寒论》,本证由少阳邪气内陷,邪入阳明之腑化热成实而成。开郁清胃颗粒方中以柴胡、黄芩疏泄少阳郁滞,宣透邪热;枳实、黄连、大黄疏泄胃肠,清泻阳明邪热;清半夏与枳实配伍,辛开苦降,开畅中焦。全方配伍可疏泻肝胃郁热,使邪热不再灼伤人体气阴从而消除诱发或加重糖尿病的基本病理因素。打破恶性循环中“燥热”这一环节。现代研究表明:开郁清胃颗粒中柴胡皂甙有增加肝糖元生成,促进肝细胞再生等作

用,从而使肝糖元分解相对减少,使血糖趋于降低或稳定^[4]。大黄可改善红细胞胰岛素受体结合力^[5];黄连中小檗碱能抑制肝脏的糖异生和糖酵解^[6]

本实验结果表明(1)中药在给药 2 周开始就具有明显的降血糖作用;但是对胰岛素浓度无提高的作用,说明其降糖作用不通过胰岛素介导,不同于磺脉突。(2)该药同时降低血清中皮质的浓度,增加胰岛素样生长因子的浓度。但对胰高血糖素无明显增加作用。胰岛素是降低血糖的激素,胰高血糖素和皮质醇为胰岛素的拮抗激素,说明本药的胰外作用途径与抑制皮质醇的合成有关。(3)该药治疗 2、4 周时,对大鼠体重无明显影响。本实验模型类似 I 型糖尿病,模型大鼠体重偏瘦;用此模型尚不足以说明对 II 型糖尿病体重的影响。若观察对 II 型糖尿病体型偏胖类型体重的影响,还需再用 II 型糖尿病模型大鼠进一步研究。(4)该药能提高胃动素水平,但小肠吸收功能与模型组比无明显改变。胃动素由 22 个氨基酸组成,它促进胃肠道平滑肌收缩,与消化过程密切相关。糖尿病患者的血糖与胃排空率呈负相关,胃排空功能异常可使血糖难于控制^[7-8],本实验结果表明开郁清胃颗粒能增加胃动素的分泌即可使胃肠蠕动增快,有利于降糖。但不能抑制小肠的吸收功能。说明本药物作用机理与双胍类药物不同。是否与调整了餐后血糖高峰值的时间,使之与胰岛素分泌高峰时间一致,从而有利于降血糖,还有待于进一步研究。(5)该药物能提高 IGF-1 的水平。IGF-1 与胰岛素结构相似,由肝脏和多个其它组织分泌,它具有胰岛素样代谢作用,有实验表明 2 型糖尿病患者血清 IGF-1 降低是由于胰岛素抵抗引起^[9]。虽然 IGF-1 的降糖能力仅是胰岛素的 1/13,但它可改善糖尿病患者一过性胰岛素抵抗的高血糖状态,且能抑制肝糖释出,增加葡萄糖转化^[10]。我们的临床观察已证实本药物能增加胰岛素敏感性^[1],其机理可能与本药物能提高 IGF-1 水平有关。

参考文献:

- [1] 全小林,柳红芳,朴信映,等.开郁清胃颗粒治疗 II 型糖尿病胰岛素抵抗的临床研究[J].实用中医内科杂志,2001,15(2):10-11.
- [2] 于德民,吴锐,尹淮,等.实验性链脲佐菌素糖尿病动物模型的研究[J].中国糖尿病杂志,1995,3(2):105-109.
- [3] 李仪奎.中药药理实验方法学[M].上海:上海科学技术出版社,1991.248.

(下转第 37 页)

(上接第 33 页)

- [4] 根本幸一. 糖尿病的汉方治疗[M]. 日本医学介绍 1999, 20(3): 141-142.
- [5] 刘永玉, 毛良, 莫启忠, 等. 实验性 NIDDM 大鼠的胰岛素抗性[J]. 中国病理生理杂志, 1991, 7(4): 422.
- [6] 陈其明, 谢明智. 小蘖碱对正常小鼠血糖调节的影响[J]. 药学学报, 1987, 22(3): 161.
- [7] 王乃尊, 张桂福, 陈青云. 糖尿病患者胃轻瘫及胃动素浓度的检测分析[J]. 广西医科大学学报, 1997, 14(4): 76-78.
- [8] Fraser RJ, Horowitz M, Maddox AF, et al. Hyperglycaemia slows gastric emptying in type I (insulin dependent) diabetes mellitus[J]. Diabetologia, 1990, 33, 675.
- [9] Hopkins K. D, Holdaway I M. insulin secretion and insulin like growth factor-1 levels in active and controlled acromegaly [J]. Clin Endocrinol, 1992, 36(1): 53-57.
- [10] Cotterill A M. The therapeutic potential of recombinant human insulin like growth factor-1[J]. Clin Endocrinol, 1992, 37(1): 11-16.