

黄芪不同有效部位配伍干预糖尿病模型大鼠 的药效研究

李楠¹, 范颖^{1*}, 贾旭鸣¹, 马哲¹, 林庶茹²

(1. 辽宁中医药大学方剂学科, 沈阳 110032; 2. 辽宁中医药大学中医分子生物实验室, 沈阳 110032)

[摘要] 目的:探讨黄芪不同有效部位配伍对糖尿病大鼠血糖、血清胰岛素及脂联素的影响,筛选有效干预糖尿病的黄芪有效部位。方法:SD 大鼠 ip STZ 52 mg·kg⁻¹ 诱导糖尿病模型,分别 ig 给黄芪及其有效部位的不同配伍,同时设对照组;给药 30 d 后,以血糖仪测血糖,ELISA 法测血清胰岛素、脂联素。结果:糖尿病模型大鼠体重减轻,血糖升高,血清胰岛素、脂联素水平下降($P<0.05$);酮苷组大鼠体重增加明显($P<0.05$);黄芪组、酮糖组、酮苷组、酮糖苷组血糖降低($P<0.05$),酮苷组优于糖苷组($P<0.05$);黄芪组升高胰岛素作用显著($P<0.05$);各给药组对血清脂联素均有调节作用($P<0.05$),以黄芪、酮苷、酮糖苷组作用显著($P<0.05$)。结论:黄芪及其有效部位的不同配伍调节糖尿病大鼠血糖、血清胰岛素及脂联素水平的作用强度有差异,以黄芪黄酮配伍黄芪皂苷药效较优。

[关键词] 黄芪有效部位;配伍;血糖;胰岛素;脂联素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)06-0150-03

Pharmacodynamic Study on Compatibility of Astragalus Active Ingredients in Diabetes Rats

LI Nan¹, FAN Ying^{1*}, JIA Xu-ming¹, MA Zhe¹, LIN Shu-ru²

(1. Prescriptions Module, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China;
2. Molecular Biology Laboratory, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China)

[Abstract] **Objective:** This study was designed to screen different combination of astragalus active ingredients for blood sugar regulation in diabetes rats, and to find the influences on blood glucose, serum insulin and adiponectin. **Method:** Diabetes rats were induced by STZ (52 mg·kg⁻¹, peritoneal injection), some of which were administered by different combination of astragalus flavonoids, polysaccharides, and astragalosides for 30 days, the control group was parallelly established. After the treatment, detection of blood glucose and ELISA assay of serum insulin and adiponectin were carried out. **Result:** Body weight of diabetes rats was dropped, the blood glucose of diabetes was ascended, serum insulin and adiponectin descended ($P<0.05$). The blood glucose descended in astragalus flavonoid + astragalosides group (body weight gained for the group); astragalus group, astragalus flavonoid + polysaccharides group, astragalus flavonoid + astragalosides group and astragalus flavonoid + polysaccharides + astragalosides group. The best group was astragalus group for ascending serum insulin ($P<0.05$). The treatment groups showed regulative effect on serum adiponectin, the effect of astragalus group, astragalus flavonoid + astragalosides group and astragalus flavonoid + polysaccharides + astragalosides group were obvious ($P<0.05$). **Conclusion:** Astragalus and different combination of its active ingredients could influence the

[收稿日期] 20101008(010)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(30873232)
[第一作者] 李楠,博士在读,从事方剂配伍规律及其效用机制研究
[通讯作者] * 范颖,教授,博士生导师, E-mail:lnzyfy@126.com

content of blood glucose, serum insulin and adiponectin in diabetes rats, the best result came from astragalus flavonoid + astragalosides group.

[Key words] active ingredients of astragalus; compatibility; blood glucose; insulin; adiponectin

《名医别录》云黄芪“止渴”;《日华子本草》明确指出黄芪可以治疗消渴。有关黄芪的现代药理学研究表明,黄芪及其提取物均有降低糖尿病大鼠血糖水平的作用^[1-2]。本文旨在通过研究黄芪黄酮、黄芪多糖、黄芪皂苷等有效部位的不同配伍对糖尿病模型大鼠血糖及胰岛素、脂联素的影响,初步探讨黄芪有效部位的不同配伍调节血糖的作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF级SD大鼠100只,雌雄各半,6~7周龄,体重(200 ± 10)g,购于上海西普尔-必凯实验动物有限公司,许可证号码SCXK(沪)2008-0016。

1.2 药物 生药黄芪 *Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao,产地内蒙,一次性购于沈阳天益堂药店,由辽宁中医药大学中药鉴定教研室翟彦君教授鉴定;辽宁中医药大学药物分析代谢实验室提取黄芪多糖(得率4.45%,采用紫外分光光度法以葡萄糖计含量为53.23%)、黄芪黄酮(得率0.69%,采用紫外分光光度法以芦丁计含量为17.55%)、黄芪总皂苷(得率1.66%,采用紫外分光光度法以黄芪甲苷计含量为47.32%)。

1.3 试剂 链脲佐菌素(streptozocin, STZ)(Sigma公司,exp12/2012); $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 4.2 柠檬酸钠缓冲液;胰岛素、脂联素ELISA试剂盒(美国GBD公司,201004)。

1.4 仪器设备 稳豪型血糖检测仪(强生公司);电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司,型号BL610、BL1500);电热恒温水浴箱(北京长安科学仪器厂,型号HHW21. Cr600);微孔板酶标仪(美国伯乐公司,型号550);微量加样器等。

2 方法

2.1 STZ糖尿病动物模型复制方法 按 $52 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重对大鼠进行1次性ip STZ,注射前禁食、不禁水12~16 h。用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 4.2的柠檬酸钠缓冲液(冷藏)配制成2%的STZ溶液(新鲜配制)。于造模7 d检测血糖,随机血糖 $>16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为模型成功,统计处理时剔除未成模的样本。造模后观测30 d,麻醉大鼠,腹主动脉取血,制备血清备用。

2.2 分组处理 以体重、血糖作为分层因素,采用

分层随机法,对所有大鼠进行分组处理,试分配为7组:即正常组、模型组、黄芪组、黄芪黄酮+多糖组(酮糖组)、黄芪黄酮+皂苷组(酮苷组)、黄芪多糖+皂苷组(糖苷组)、黄芪黄酮+多糖+皂苷组(酮糖苷组)。各组大鼠体重、血糖水平无统计学差异。分组后除正常组外,其他各种均给予造模处理。

2.3 给药剂量及方法 造模同日ig给药,按成人日服黄芪生药量 $60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重(成人按 60 kg 体重)计算,根据体表面积换算大鼠的等效剂量为成人6.3倍。黄芪组给予黄芪水煎液;各有效部位配伍组分别给予相应黄芪有效部位的配伍,各组给药剂量均相当于黄芪生药量 $6.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,即酮糖组 $0.323 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,酮苷组 $0.143 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,糖苷组 $0.384 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,酮糖苷组 $0.427 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$;模型空白组给予等量蒸馏水 $6.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。连续ig 30 d。

2.4 观测指标及检测方法 观测30 d结束后用血糖仪(强生稳豪型)检测随机血糖;ELISA法检测血清胰岛素、血清脂联素,按照试剂盒说明书操作步骤进行。

2.5 统计学方法 应用统计学软件SPSS10.0进行数据分析,多样本差别性比较方法采用方差分析,两两比较采用LSD法,数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对糖尿病模型大鼠体重和血糖的影响 结果见表1。与正常组比较,模型组体重减轻,血糖升高,有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,酮苷组体重明显升高,有统计学意义($P < 0.05$),除糖苷组外,其他各给药组血糖明显下降,有统计学意义($P < 0.05$);各给药组之间体重变化无统计学意义,在下调血糖方面,酮苷组、酮糖苷组优于糖苷组,有统计学意义($P < 0.05$)。

3.2 对糖尿病模型大鼠血清胰岛素和脂联素的影响 结果见表2。与正常组比较,模型组大鼠血清胰岛素、血清脂联素含量均显著降低,有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,各给药组血清脂联素含量均升高,有统计学意义($P < 0.05$);各给药组之间比较,黄芪组提高血清胰岛素最为显著,酮糖苷组次

之,有统计学意义($P < 0.05$),而黄芪组、酮苷组、酮糖苷组血清脂联素水平升高明显,有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 黄芪有效部位不同配伍对糖尿病模型大鼠体重、血糖的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	体重/g	血糖/mmol·L ⁻¹
正常	14	—	308.71 ± 74.34 ¹⁾	6.74 ± 0.77 ¹⁾
模型	12	—	222.92 ± 18.03	28.47 ± 2.28
黄芪	12	6.3	255.17 ± 35.28	25.18 ± 2.31 ¹⁾
酮糖	14	0.323	246.43 ± 35.90	25.58 ± 3.66 ¹⁾
酮苷	13	0.143	258.85 ± 26.55 ¹⁾	24.26 ± 2.64 ^{1,2)}
糖苷	13	0.384	241.46 ± 44.63	26.72 ± 3.16
酮糖苷	12	0.427	252.83 ± 41.57	24.90 ± 3.60 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$;与糖苷组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

表 2 黄芪有效部位不同配伍对糖尿病模型大鼠血清胰岛素、脂联素的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	胰岛素/μg·L ⁻¹	脂联素/ng·L ⁻¹
正常	—	3.97 ± 0.39 ¹⁾	69.19 ± 3.47 ¹⁾
模型	—	1.27 ± 0.22	41.55 ± 4.35
黄芪	6.3	1.99 ± 0.29 ¹⁾	60.71 ± 4.82 ¹⁾
酮糖	0.324	1.39 ± 0.23 ²⁾	50.12 ± 3.97 ^{1,2)}
酮苷	0.143	1.13 ± 0.06 ²⁾	60.40 ± 4.57 ^{1,3)}
糖苷	0.384	1.39 ± 0.39 ²⁾	49.66 ± 4.96 ^{1,2,4)}
酮糖苷	0.427	1.46 ± 0.36 ^{2,4)}	60.94 ± 5.37 ^{1,2,3,5)}

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$;与黄芪组比较²⁾ $P < 0.05$;与酮糖组比较³⁾ $P < 0.05$;与酮苷组比较⁴⁾ $P < 0.05$;与糖苷组比较⁵⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

古代医书中已有关于黄芪“止渴”、“助气,壮筋骨、长肉”的记载,现代研究也表明黄芪具有降低糖尿病大鼠血糖的功效^[1,3]。有关黄芪成分的研究表明黄芪含有皂苷类^[4-5]、多糖^[5]、黄酮类^[6-7]类等成分,黄芪有效部位黄芪多糖具有调节糖尿病鼠血糖的作用^[8-9]。

本实验研究结果显示,模型组大鼠体重减轻,血糖水平升高,而黄芪及其有效部位配伍增加糖尿病大鼠体重,降低血糖,其效应强度不一,其中黄芪黄酮与黄芪皂苷的配伍能够明显增加体重,有效控制血糖的升高,二者配伍在调节糖尿病大鼠体重、血糖水平具有优势。

STZ 诱导糖尿病是通过破坏胰岛 B 细胞,使分泌胰岛素减少,血糖升高。体外研究表明胰岛素抑制脂联素的基因表达,其抑制程度与剂量及作用时间有关^[10];此外有研究表明胰岛素通过 Foxo 通路下调骨骼肌和肝脏脂联素受体(AdipoR1/R2)的表达,从而使脂联素结合能力降低^[11]。本实验研究提示糖尿病模型大鼠血清胰岛素、脂联素水平均明显

下降,黄芪不同有效部位配伍干预,使血清脂联素水平升高,其中黄芪组、黄芪黄酮与黄芪皂苷配伍,黄芪黄酮多糖皂苷配伍效果显著。从糖尿病大鼠体重、血糖、血清胰岛素及脂联素水平的变化,可以看出黄芪黄酮与黄芪皂苷配伍在改善上述变化方面具有优势,但其作用靶点与作用机制有待于今后进一步深入研究。

[参考文献]

[1] 熊迎春,洪小平,陈泽斌,等. 黄芪对实验性糖尿病大鼠血管内皮细胞形态的影响[J]. 中医学药,2004,22(10):1859.

[2] 王光浩,张敬芳. 黄芪提取物对糖尿病大鼠骨骼肌组织胰岛素信号转导的影响[J]. 中国医院药学杂志,2008,28(13):1058.

[3] 郝玉美,刘洪琪. 苦瓜、黄芪、黄芩苷对 2 型糖尿病模型大鼠胰岛素抵抗的影响[J]. 中药药理与临床,2007,23(5):145.

[4] 王金山. 黄芪中有效成分环黄芪醇皂苷和黄芪甲苷的含量测定[J]. 海峡药学,2009,21(2):39.

[5] 于海瑶,肖秋生,洪建飞,等. 黄芪有效部位不同提取分离方法的比较[J]. 药学实践杂志,2008,26(1):20.

[6] 田圣志,杨玉涛,张振凌,等. 黄芪药材主、侧根中黄酮类成分含量比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(9):92.

[7] Xin-Gang Du, Yan-Jing Bai, Bin Wang, et al. Analysis of principal isoflavone glycosides and aglycones in radix astragali[J]. J Chin Pharm Sci,2008,17(3):230.

[8] 刘筠,毛淑梅,康白. 黄芪多糖对糖尿病大鼠血糖、胰岛素和 C 肽含量的影响[J]. 中医药临床杂志,2010,22(3):201.

[9] 毛先晴,欧阳静萍,吴柯,等. 黄芪多糖对糖尿病 KKAY 小鼠肝脏脂肪变性的影响[J]. 中国糖尿病杂志,2008,16(4):233.

[10] Fasshauer M, Klein J, Neumann S, et al. Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes[J]. Biochem Biophys Res Commun. 2002,290(3):1084.

[11] Tsuchida A, Yamauchi I, Ito Y, et al. Insulin/Foxo pathway regulates expression levels of adiponectin receptors and adiponectin sensitivity[J]. J Biol Chem, 2004,279(29):30817.

[责任编辑 聂淑琴]