

盐知母不同有效部位改善链脲佐菌素诱导 2 型糖尿病大鼠糖代谢的研究

吴莹¹, 高慧^{1,2,3*}, 宋泽璧¹

1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600

2. 国家中医药管理局中药炮制原理解析重点研究室, 辽宁 大连 116600

3. 辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁 大连 116600

摘要: 目的 探究盐知母不同溶剂萃取物对 2 型糖尿病大鼠糖代谢的影响, 旨在寻找盐知母降血糖作用的有效部位。方法 SD 雄性大鼠 ig 脂肪乳 10 g/kg, 1 次/d。4 周后, ip 链脲佐菌素 35 mg/kg, 建立 2 型糖尿病模型。造模成功的大鼠按血糖值随机分为模型组、阿卡波糖 (0.2 g/kg) 组以及石油醚萃取物、氯仿萃取物、醋酸乙酯萃取物、正丁醇萃取和萃余物组, 连续 ig 给药 14 d。于给药 7、14 d 后测定空腹血糖值 (FBG), 末次给药后测定口服葡萄糖耐量 (OGTT), 眼眶取血测定糖化血红蛋白 (HbA1c)、血清胰岛素 (FINS), 计算胰岛敏感指数 (ISI) 和 Homa 胰岛素抵抗 (HOMA-IR) 指数。结果 与模型组比较, 盐知母氯仿萃取物能够明显降低 FBG、HbA1c、FINS、HOMA-IR 指数, 升高 ISI, 改善 OGTT; 盐知母醋酸乙酯萃取物能够显著降低 HbA1c、HOMA-IR 指数, 改善 OGTT; 盐知母正丁醇萃取物能够显著降低 FINS; 盐知母萃余物能够显著降低 FBG、FINS、HOMA-IR 指数, 升高 ISI。结论 盐知母不同溶剂萃取物对 2 型糖尿病大鼠糖代谢具有较好的改善作用, 其中氯仿萃取物的作用最强。

关键词: 盐知母; 氯仿萃取物; 2 型糖尿病; 大鼠; 糖代谢

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2016)03-0280-04

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2016.03.003

Improvement of salt *Anemarrhenae Rhizoma* extracts on glucose metabolism in rats with type 2 diabetes mellitus induced by streptozotocin

WU Ying¹, GAO Hui^{1,2,3}, SONG Ze-bi¹

1. College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China

2. Key Laboratory of Processing Theory Analysis of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China

3. Engineering Technology Research Center of Traditional Chinese Medicine Processing of Liaoning Province, Dalian 116600, China

Abstract: Objective To explore the influence of various extracts from salt *Anemarrhenae Rhizoma* on glucose metabolism in rats with type 2 diabetes mellitus, and to find the effective part on the hypoglycemic effect. **Methods** Male SD rats were ig administered with fat milk 10 g/kg, once daily for 4 weeks, and established 2 type diabetic rat model by ip streptozotocin 35 mg/kg. Rats with type 2 diabetes mellitus were randomly divided into model group, acarbose (0.2 g/kg) group, and salt *Anemarrhenae Rhizoma* extracts groups of petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol, and raffinate. All animals were ig administered once daily for 14 d. Fasting blood glucose (FBG) was determined after treated for 7 and 14 d. After the last administration, the level of oral glucose tolerance test (OGTT) was determined. The blood samples were collected to measure the glycosylated hemoglobin (HbA1c) and fastings erum insulin (FINS), and insulin sensitivity index (ISI) and Homa insulin resistance (HOMA-IR) index were calculated. **Results** Compared with model group, chloroform extract group could significantly reduce the FBG, HbA1c, FINS, and HOMA IR index, increase ISI index and improve OGTT. Ethyl acetate extract could significantly reduce the HbA1c and HOMA IR index, and improve OGTT. *n*-Butanol extract could significantly reduce the content of FINS. Raffinate could significantly reduce the FBG, FINS, and HOMA IR index, and increase the ISI. **Conclusion** Various solvents extracts of salt *Anemarrhenae Rhizoma* can better improve glucose metabolism in rats with type 2 diabetes mellitus, and chloroform extract has stronger efficacy.

Key words: salt *Anemarrhenae Rhizoma*; chloroform extract; type 2 diabetes mellitus; rat; glucose metabolism

收稿日期: 2015-12-14

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目 (81102810); 辽宁省自然科学基金资助项目 (2013020165)

作者简介: 吴莹 (1987—), 女, 硕士, 助理实验师, 从事中药炮制原理研究。E-mail: 823209547@qq.com

*通信作者 高慧, 教授, 博士, 从事中药炮制原理研究。Tel: (0411) 87586011 E-mail: gaohutcm@163.com

知母为百合科知母属植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的干燥根茎, 味苦、甘, 性寒, 归肺、胃、肾经, 具有清热泻火、滋阴润燥的功效^[1]。盐知母是知母的主流炮制品种, 最早见于宋代《扁鹊心书》。传统理论认为知母盐炙后, 引药下行, 专入肾经, 增强滋阴降火的作用。本课题组前期研究发现^[2], 知母盐炙前后均能抑制 α -葡萄糖苷酶活性, 对 2 型糖尿病大鼠糖代谢有改善作用, 且盐炙后作用显著增强。因此本实验从糖代谢方面比较盐知母不同极性部位对 2 型糖尿病大鼠糖代谢的影响, 寻找盐知母降血糖作用的有效部位。

1 材料

1.1 药材与试剂

知母购自河北省易县太行植物开发有限公司, 经辽宁中医药大学药学院翟延君教授鉴定为百合科知母属植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的干燥根茎。

阿卡波糖片 (规格 50 mg/片, 拜耳医药保健有限公司, 批号 BJ09769); 链脲佐菌素 (规格 1 g/瓶, 美国 Sigma 公司, 批号 S0130); 口服葡萄糖 (规格 500 g/瓶, 沈阳市试剂厂, 批号 711101); 糖化血红蛋白 (HbA1c) 试剂盒 (批号 20120112)、胰岛素放射免疫分析试剂盒 (批号 20120104) 均购自南京建成生物工程研究所; 胆固醇 (规格 200 g/瓶, 北京索莱宝科技有限公司, 批号 2011052); 血糖试纸条 (拜耳医药保健有限公司)。其余试剂均为分析纯; 实验用水为蒸馏水。

1.2 动物

SD 雄性大鼠 80 只, SPF 级, 体质量 180~220 g, 由辽宁长生生物技术有限公司提供, 许可证号 SCXK (辽) 2010-0001。

1.3 仪器

RE-52C 系列旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); TGL-16C 型高速台式离心机 (上海安亭科学仪器厂); 酶标仪 (美国赛默飞世尔科技有限公司); 血糖仪 (拜耳医药保健有限公司)。

2 方法

2.1 不同部位萃取物的制备

按前期优选的炮制工艺炮制^[3]。100 g 知母饮片加入 30 mL 盐水 (含 3 g 食盐) 拌匀润透, 150~160 °C 下炒制 8 min, 得盐知母, 得率为 98%。取盐知母 100 g, 粉碎成粗粉, 70%乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 滤过, 合并滤液, 减压回收乙醇至无醇味,

得乙醇浸膏。乙醇浸膏以适量水分散, 依次用等体积的石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 回收溶剂, 分别得到石油醚萃取物、氯仿萃取物、醋酸乙酯萃取物、正丁醇萃取以及萃余物。

2.2 2 型糖尿病大鼠模型的建立^[2]

将 20 g 猪油加热至融化, 加入 5 g 胆固醇, 待胆固醇全部溶解后加入 10 mL 聚山梨酯 80、10 mL 甘油, 加水至 100 mL, 加入 10 g 果糖、10 g 蔗糖, 即得脂肪乳。SD 大鼠适应性喂养 7 d 后, 随机取 8 只作为对照组, 余下大鼠 ig 脂肪乳 10 g/kg, 1 次/d。4 周后, 禁食 12 h, ip 链脲佐菌素 35 mg/kg。72 h 后测定空腹血糖值, 选择空腹血糖值 ≥ 12.1 mmol/L 的大鼠作为 2 型糖尿病模型。

2.3 分组和给药

将造模成功的 2 型糖尿病模型大鼠按血糖值随机分为模型组、阿卡波糖 (0.2 g/kg) 组以及石油醚萃取物、氯仿萃取物、醋酸乙酯萃取物、正丁醇萃取和萃余物 (均折合生药 1.4 g/kg) 组。阿卡波糖的剂量依据用药说明书确定, 各萃取物剂量均按照《中国药典》2015 年版一部知母饮片的用量进行确定。给药组每天 ig 给药 10 mL/kg, 对照组和模型组均 ig 等体积蒸馏水。所有动物均连续给药 14 d。

2.4 一般生理指标观察

观察大鼠一般生理状况, 包括摄食量、饮水量及活动状态等。

2.5 空腹血糖值 (FBG) 和葡萄糖耐量 (OGTT) 的测定^[4]

于给药 7、14 d 后, 采用剪尾取血法检测各组大鼠 FBG。末次给药后禁食 4 h, 按照 2 g/kg 用量 ig 20%葡萄糖溶液, 分别测定 0、0.5、1、2 h 血糖水平即为 OGTT, 梯形法计算曲线下面积 (AUC)。

2.6 糖化血红蛋白 (HbA1c) 和血清胰岛素 (FINS) 的测定^[5]

末次给药后, 禁食 12 h, 眼眶取血, 取 EDTA 抗凝全血按试剂盒按操作说明测定 HbA1c; 放射免疫法测定血清 FINS, 计算胰岛敏感指数 (ISI)^[6] 和 Homa 胰岛素抵抗指数 (Homa-IR)^[6]。

$$ISI = \ln[1 / (FBG \times FINS)]$$

$$HOMA-IR = FBG \times FINS / 22.5$$

2.7 统计学方法

实验数据应用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析, 结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 一般生理指标观察

对照组大鼠摄食量和饮水量均衡,体质量增长,反应灵敏,皮毛有光泽;模型组大鼠反应迟钝、皮毛枯萎,体质量增长缓慢;给药组大鼠的状态有不同程度的好转,活动量增加。

3.2 对糖尿病大鼠 FBG 的影响

与模型组比较,给药 7 d 后,各给药组大鼠的 FBG 均显著降低 ($P<0.01$ 、 0.05);14 d 后,盐知母氯仿萃取物、其他萃取物组大鼠的 FBG 显著降低 ($P<0.01$)。提示盐知母氯仿萃取物、萃余物具有明显降低糖尿病大鼠空腹血糖的作用,且较其他萃取物的作用持久。结果见表 1。

3.3 对糖尿病大鼠 OGTT 的影响

与模型组比较,盐知母氯仿萃取物组糖负荷后 0.5、1、2 h 后血糖和糖耐量 AUC 明显下降 ($P<$

0.01);盐知母醋酸乙酯萃取物组糖负荷后 1、2 h 血糖和 AUC 显著下降 ($P<0.01$ 、 0.05)。提示盐知母氯仿和醋酸乙酯萃取物具有明显改善糖尿病大鼠糖耐量的作用。结果见表 2。

3.4 对糖尿病大鼠 HbA1c 和 FINS 的影响

与模型组比较,盐知母氯仿、醋酸乙酯萃取物组对 HbA1c 有明显的改善作用 ($P<0.01$);盐知母氯仿、正丁醇和萃余物组对 FINS 有明显的改善作用 ($P<0.05$);氯仿萃取物、醋酸乙酯萃取物、正丁醇萃取以及萃余物组可显著改善 Homa-IR 作用 ($P<0.05$ 、 0.01);氯仿、正丁醇以及其他萃取物组可改善 ISI 作用 ($P<0.05$ 、 0.01)。提示盐知母氯仿、正丁醇以及其他萃取物具有降低胰岛素抵抗,增加组织对胰岛素敏感性的作用;盐知母氯仿和其他萃取物可减轻长期高血糖对胰岛组织的破坏。结果见表 3。

表 1 盐知母不同萃取物对糖尿病大鼠 FBG 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 1 Effects of various extracts of salt *Anemarrhenae Rhizoma* on FBG of diabetic rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	FBG/(mmol·L ⁻¹)		
		给药前	给药 7 d	给药 14 d
对照	—	4.29±0.70	3.26±0.53	3.14±0.46
模型	—	20.60±1.07	20.38±2.62 ^{##}	20.00±2.11 ^{##}
阿卡波糖	0.2	20.64±0.95	8.14±2.40 ^{**}	3.04±0.34 ^{**}
石油醚萃取物	1.4	21.34±0.88	14.50±5.02 ^{**}	19.25±2.14
氯仿萃取物	1.4	19.89±0.60	4.65±1.14 ^{**}	2.85±0.62 ^{**}
醋酸乙酯萃取物	1.4	21.61±1.26	15.59±5.41 [*]	17.63±3.60
正丁醇萃取物	1.4	21.05±0.88	14.38±7.69 ^{**}	17.44±4.71
萃余物	1.4	20.40±0.96	14.99±6.93 [*]	15.28±4.44 ^{**}

与对照组比较: ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$

^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group

表 2 盐知母不同萃取物对糖尿病大鼠 OGTT 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 2 Effects of various extracts of salt *Anemarrhenae Rhizoma* on OGTT of diabetic rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	OGTT/(mmol·L ⁻¹)				AUC/(mmol·L ⁻¹) ²
		0 h	0.5 h	1 h	2 h	
对照	—	3.25±0.50	12.25±1.63	10.46±2.61	5.83±1.09	20.72±3.66
模型	—	19.76±2.63 ^{##}	25.70±1.03 ^{##}	21.86±2.85 ^{##}	18.64±1.80 ^{##}	52.83±4.22 ^{##}
阿卡波糖	0.2	3.45±1.15 ^{**}	19.10±2.76 ^{**}	8.96±1.68 ^{**}	6.34±1.16 ^{**}	23.47±2.78 ^{**}
石油醚萃取物	1.4	18.87±1.74	25.60±4.02	22.30±2.09	18.86±1.24	53.11±2.81
氯仿萃取物	1.4	4.73±1.52 ^{**}	16.51±3.86 ^{**}	14.31±2.72 ^{**}	8.46±3.25 ^{**}	28.63±6.83 ^{**}
醋酸乙酯萃取物	1.4	16.35±3.26	23.09±5.57	17.88±5.86 [*]	11.59±3.74 ^{**}	40.63±7.87 ^{**}
正丁醇萃取物	1.4	20.73±1.74	26.34±3.49	24.11±3.30	20.20±2.83	56.63±5.55
萃余物	1.4	20.11±3.04	21.89±6.07	20.24±3.13	18.89±1.88	52.38±5.28

与对照组比较: ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$

^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group

表3 盐知母不同萃取物对糖尿病大鼠 HbA1c 和 FINS 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 3 Effects of various extracts of salt *Anemarrhenae Rhizoma* on HbA1c and FINS of diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	HbA1c/(ng·mL ⁻¹)	FINS/(mU·L ⁻¹)	Homa-IR	ISI
对照	—	107.99±0.53	14.15±0.33	1.98±0.32	-3.78±0.16
模型	—	135.50±0.84 ^{##}	17.02±1.01 ^{##}	15.18±2.26 ^{##}	-5.82±0.15 ^{##}
阿卡波糖	0.2	116.31±0.96 ^{**}	15.19±0.31 ^{**}	2.05±0.20 ^{**}	-3.83±0.96 ^{**}
石油醚萃取物	1.4	136.83±5.81	16.97±1.16	14.50±1.73	-5.78±0.13
氯仿萃取物	1.4	113.15±0.72 ^{**}	15.93±0.73 [*]	2.02±0.48 ^{**}	-3.79±0.23 ^{**}
醋酸乙酯萃取物	1.4	125.95±9.06 ^{**}	16.18±1.18	12.78±3.20 [*]	-5.63±0.29
正丁醇萃取物	1.4	133.64±14.47	15.93±0.97 [*]	12.26±3.09 [*]	-5.59±0.27 [*]
萃取物	1.4	134.49±9.02	16.14±1.11 [*]	11.08±3.69 ^{**}	-5.46±0.39 ^{**}

与对照组比较: ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group

4 讨论

糖尿病是一组常见的有遗传倾向的内分泌系统疾病,是由多种原因引起糖、脂肪、蛋白质代谢紊乱,导致多个系统、多个脏器损害的综合症。临床上主要分为1型糖尿病和2型糖尿病,其中后者占糖尿病患者总数的90%以上^[8]。目前市场上的降血糖化学药作用强,起效快,但是有较多的不良反应,且往往缺乏整体的协调性。而中药能弥补化学药的这些不足,为糖尿病患者提供更多的选择,并为临床上治疗2型糖尿病提供了广阔前景。

知母的降血糖作用早在《神农本草经》中就有记载“主消渴,热中...”。中医的消渴症是指以多饮、多尿、多食及消瘦、疲乏、尿甜为主要特征的综合病证,其基本病机为阴津亏耗、燥热偏盛。知母滋阴降火,且盐炙后作用增强^[9],与消渴症病机相吻合。本实验研究了盐知母的石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇、萃取物对2型糖尿病大鼠模型的药理作用。FBG是糖尿病最常用的检测指标,反映胰岛β细胞功能;HbA1c是血红蛋白在高血糖作用下发生的缓慢连续的非酶促糖化反应的产物,反映的是一段时间内平均的血糖水平。盐知母通过降低2型糖尿病大鼠FBG和HbA1c,从而减轻糖毒性对胰岛组织的破坏,保护胰岛细胞。FINS、ISI、Homa-IR指标反映的是胰岛素的抵抗及敏感程度,盐知母可降低FINS、改善ISI和Homa-IR作用,进而改善胰岛素抵抗,增加靶组织对胰岛素的敏感性,并促进

肝脏及周围组织对胰岛素的利用。此研究结果显示,盐知母不同萃取部位能明显降低FBG、HbA1c、FINS、HOMA-IR指数,升高ISI,改善糖耐量,其中氯仿萃取物的作用最强。此结果提示氯仿层可能是盐知母降血糖的活性部位。

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2015:212-213.
- [2] 吴莹,宋泽璧,高慧,等.知母盐制前后降血糖作用及其机制[J].中国医院药学杂志,2014,34(23):1977-1980.
- [3] 高慧.盐知母炮制原理研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2010.
- [4] 杜佳林,顾晓颖,包玉龙,等.刺玫果不同提取物对II型糖尿病大鼠影响实验研究[J].中成药,2010,32(11):1967-1969.
- [5] 金晓艳,陈育尧,胡晨,等.梅连消渴胶囊对实验性II型糖尿病大鼠糖代谢的影响[J].中药新药与临床药理,2011,22(2):167-171.
- [6] 郑琳颖,潘竞镨,吕俊华.白芍总苷对脂肪肝大鼠增强胰岛素敏感性及其抗脂肪肝作用[J].中国中药杂志,2008,33(20):2385-2390.
- [7] 叶蓉绍,盛开妍,张黎明,等.2型糖尿病人高血压与胰岛素抵抗的关系[J].中国糖尿病杂志,2001,9(3):135-138.
- [8] 左华,赵宝祥,王大威.抗2型糖尿病合成药物的研究进展[J].中国新药杂志,2005,14(6):672-678.
- [9] 吴莹,宋泽璧,徐月,等.知母盐炙前后滋阴作用比较[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(24):211-214.