

龙匙片降血糖作用的实验研究*

Experimental Study on Hypoglycemic Effect of Longchi Tablet

孙会静^{1,2}, 苏恒海^{1,2}, 李丽¹, 周静^{1**}

SUN Hui-jing^{1,2}, SU Heng-hai^{1,2}, LI Li¹, ZHOU Jing¹

(1. 广西壮族自治区人民医院, 广西南宁 530021; 2. 广西中医药大学, 广西南宁 530222)

(1. The People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, Guangxi, 530021, China; 2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530222, China)

摘要:【目的】龙匙方是广西壮族自治区人民医院俞祝全医生的临床经验方, 本文研究其对正常小鼠及几种糖尿病模型小鼠降血糖的作用。【方法】采用链脲佐菌素致糖尿病、肾上腺素致高血糖、大剂量口服葡萄糖致高血糖小鼠模型, 分别观察龙匙片对正常和糖尿病模型小鼠血糖的影响。【结果】高、中剂量组(11500 mg·kg⁻¹·d⁻¹、5750 mg·kg⁻¹·d⁻¹)龙匙片对链脲佐菌素致糖尿病、肾上腺素致高血糖、大剂量口服葡萄糖致高血糖小鼠的血糖具有明显的降低作用; 但高、低剂量(11500 mg·kg⁻¹·d⁻¹、3060 mg·kg⁻¹·d⁻¹)龙匙片对正常小鼠血糖水平均无明显影响($P > 0.05$)。【结论】龙匙片对糖尿病模型小鼠具有降低血糖的作用。

关键词: 龙匙片 降血糖 动物实验

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2015)06-0641-05

Abstract: 【Objective】Longchi Tablet (LC tablet) is a clinical prescription from Doctor Zhu-quan Yu in the People's Hospital of the Guangxi Zhuang Autonomous Region, and its hypoglycemic effects on normal mice and the mice from several diabetes models were studied. 【Methods】The diabetic hyperglycemia models of mice were induced by streptozotocin (STZ), adrenaline (AD) and glucose, respectively. The impacts of LC tablet on the level of blood sugar were observed in normal mice and the mice of diabetes models. 【Results】High and middle doses of LC tablet (11500 mg·kg⁻¹·d⁻¹ and 5750 mg·kg⁻¹·d⁻¹) significantly reduced the blood sugar levels in the diabetes mice induced by STZ and in the mice with hyperglycemia induced by AD and high-dose oral glucose; But high and low doses of LC tablet (11500 mg·kg⁻¹·d⁻¹ and 3060 mg·kg⁻¹·d⁻¹) had no significant effect on blood glucose levels of the normal mice ($P > 0.05$). 【Conclusion】LC tablet has the effect of lowering blood sugar in diabetic model mice.

Key words: Longchi tablets, hypoglycemic effect, animal experiment

0 引言

【研究意义】目前, 糖尿病尚未能完全治愈, 同时糖尿病患者长期处于异常高血糖状态, 极易诱发糖尿病并发症。据统计, 发病 10 年内有 30%~40% 的患者至少会发生一种慢性并发症; 发病超过 20 年, 几乎所有的患者都会发生一种慢性并发症。糖尿病并发症是伴随着糖尿病发生的一种慢性疾病, 因此糖尿病并发症也是一种终生不能治愈的顽疾。现在只能采

收稿日期: 2015-07-05

作者简介: 孙会静(1986-), 女, 硕士研究生, 主管药师, 主要从事临床药学研究。

* 广西自然科学基金项目(2012GXNSFAA053147), 广西中药质量标准研究重点实验室开放课题基金项目(桂中重开 201105)和广西“百人计划”项目(J13168)资助。

** 通讯作者: 周静(1975-), 女, 博士, 主要从事药理学研究, E-mail: gardenia_zhou@hotmail.com。

用药物控制糖尿病患者的病情,使之不能恶化^[1]。

【前人研究进展】龙匙片是广西壮族自治区人民医院俞祝全医生的临床经验方,由匙羹藤(*Gymnema sylvestre* (Retz.) schult)15 g,龙血竭 2 g,甘草 9 g 组成,匙羹藤降血糖药效显著^[2],甘草、龙血竭也有一定的降血糖药效^[3,4],龙血竭还具有活血化瘀的作用,因此 3 者合制成的龙匙片,能更好地发挥降血糖药效,超过 15 年的临床应用表明,龙匙片在治疗糖尿病以及控制糖尿病引发的关节囊肿、视力模糊、下肢肿胀等并发症有良好的疗效。**【本研究切入点】**目前,尚未见龙匙片降血糖作用的动物实验研究。**【拟解决的关键问题】**通过观察高、中、低剂量龙匙片对正常和几种糖尿病模型小鼠的血糖影响,证明无论是临床应用还是动物实验,龙匙片均能表现出显著的降血糖疗效,两者相互吻合、印证。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 药 物 及 试 剂

龙匙片:自制,批号:20140116。制备龙匙片的中药材,龙血竭、甘草两味购自广西壮族自治区人民医院中药房;匙羹藤购自广西玉林银丰中药港,经广西中医药研究院赖茂祥研究员鉴定为萝藦科植物匙羹藤的干燥根茎。按所需的量精密称取龙匙片,加入纯净水,研磨使之与水充分混合,最后加水制成所需浓度,作为受试药物溶液。

链脲佐菌素(STZ),Sigma 公司生产,批号:S013021G;盐酸二甲双胍片,辽宁鞍山九天制药有限公司生产,规格:250 mg/片,批号:20131106;血糖测定试剂盒(GOD-PAP 法),四川迈克科技有限公司生产,批号:20130522;纯净水,贵州天地药业有限责任公司生产,批号:H14021302;肾上腺素,武汉远大制药集团有限公司生产,批号:20130713;玉泉胶囊,河北华仁堂药业有限公司生产,规格:每粒 0.59 g,日服 4 次,每次 4 粒,批号:140124。

1.1.2 实 验 动 物

昆明种小鼠(KM),3~5 周龄,雌雄各半,体重:18~23 g,由广西医科大学实验动物中心提供。生产许可证号:SCXK 桂 2009-0002,质量合格证号:0006251。动物室温度:(25±2)℃,相对湿度:(60±2)%。

1.1.3 仪 器

酶标仪:SUNRISE 公司生产,型号:F039300;生化分析仪:瑞士罗氏公司生产,型号:cobas 8000 型。

1.2 方 法

1.2.1 龙匙片剂量设置

龙匙片的处方作为临床方剂使用时,成年人(体重按 60 kg 计)每日服用 1 副,其临床服用剂量为 425 mg·kg⁻¹。参考人临床用量,小鼠实验设低、中、高 3 个剂量组,日剂量分别为 3060 mg·kg⁻¹、5750 mg·kg⁻¹、11500 mg·kg⁻¹,相当于人临床日用量的 8 倍、15 倍、30 倍。

1.2.2 对链脲佐菌素所致糖尿病小鼠血糖的影响

糖尿病小鼠模型的制备^[5,6]:KM 小鼠禁食不禁水 12 h 后,腹腔注射 STZ 溶液,剂量为 150 mg·kg⁻¹(临用前用 0.1 mol·L⁻¹、pH 值为 4.2 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲溶液溶解,现配现用,置于冰上以保证低温),5 d 后将动物禁食不禁水 5 h,从尾静脉取血,按葡萄糖酶氧化法,用试剂盒测定每只小鼠的空腹血糖值。选取血糖值在 11~25 mmol·L⁻¹ 的小鼠作为糖尿病模型小鼠,供试验之用。

分组给药:选取雄性 KM 小鼠 80 只,适应性饲养 1 周后,选取 60 只,随机分为 6 组,每组 10 只,即正常对照组、模型组、盐酸二甲双胍阳性药对照组(100 mg·kg⁻¹·d⁻¹)、龙匙片高、中、低剂量组。灌胃(i.g)给药,1 次·d⁻¹,给药容积为 0.2 mL/10 g 体重,正常对照组和模型组灌胃给予等体积的纯净水,连续 14 d。

空腹血浆血糖值的测定^[7]:给药前第 1 天,各小鼠禁食不禁水 8 h 后,从尾静脉取血,测定每个小鼠的空腹血浆血糖值(FPG₁)。第 14 天,同样禁食不禁水 8 h 后,颈椎脱臼处死小鼠,测定每个小鼠的空腹血浆血糖值(FPG₁₄),将每只小鼠的 FPG₁ 和 FPG₁₄ 一一对应,计算血糖下降百分率 R,计算公式为 R = (FPG₁ - FPG₁₄)/FPG₁ × 100%。

1.2.3 对盐酸肾上腺素所致高血糖小鼠血糖的影响^[8,9]

糖尿病小鼠的制备方法同 1.2.2 节。

分组给药:小鼠 80 只,雌雄各半,随机分为 7 组,每组 10 只,即正常对照组(雌雄各半)、模型组、盐酸二甲双胍阳性药对照组(100 mg·kg⁻¹·d⁻¹)、玉泉胶囊对照组(1040 mg·kg⁻¹·d⁻¹)、龙匙片高、中、低剂量组。灌胃(i.g)给药,1 次·d⁻¹,给药容积为 0.2 mL/10 g 体重,正常对照组和模型组灌胃 25 mL·kg⁻¹·d⁻¹ 纯净水,连续 12 d。

生化检测:给药前第 1 天各小鼠禁食不禁水 8 h,从尾静脉取血,测定每个小鼠的空腹血浆血糖值。末次给药 3 h 后,除正常对照组腹腔注射纯净水外,其它 6 组小鼠腹腔注射盐酸肾上腺素,剂量为 0.2

mg · kg⁻¹, 注射 30 min 和 60 min 后, 分别从眼眶静脉采血, 离心, 取血清测定血糖值。

1.2.4 对口服葡萄糖耐量的影响^[8,9]

分组给药: 选取 KM 小鼠 50 只, 雌雄各半, 随机分为 5 组, 每组 10 只(雌雄各半), 即正常组、盐酸二甲双胍阳性药对照组(100 mg · kg⁻¹ · d⁻¹)、龙匙片高、中、低剂量组。灌胃(i. g)给药, 1 次 · d⁻¹, 给药容积为 0.2 mL/10 g 体重, 正常对照组灌胃给予等体积的纯净水, 连续 14 d。

生化检测: 末次给药后禁食不禁水 3 h, 从尾静脉取血, 测定其空腹血糖值; 随后各组小鼠均口服葡萄糖, 剂量为 2 g · kg⁻¹。灌服葡萄糖后, 分别于 0.5 h、1 h、2 h, 从小鼠眼眶静脉取血, 用试剂盒测定血糖值。

1.2.5 对正常小鼠血糖的影响^[8,9]

分组给药: 选取 KM 小鼠 30 只, 雌雄兼用, 随机分为 3 组, 每组 10 只(雌雄各半), 即正常对照组、龙匙片高、低剂量组。灌胃(i. g)给药, 给药容积为 0.2 mL/10 g 体重, 正常对照组灌胃给予等体积的纯净水。

生化检测: 各组分别于给药 24 h、72 h、120 h、240 h 后, 由小鼠眼眶静脉取血, 离心取血清测定其血糖值。

1.2.6 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS19.0 统计软件进行单因素方差分析, 如 $P < 0.05$ 则认为有统计学显著性差异。

2 结果与分析

2.1 对链脲佐菌素所致糖尿病小鼠血糖的影响

由表 1 显示, 连续 14 d 灌胃给药后, 与糖尿病模

表 1 糖尿病模型小鼠的血糖值及血糖下降率($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Blood glucose value and blood sugar drop rate in diabetes model mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	日剂量 Daily dose (mg · kg ⁻¹)	FPG ₁ (mmol · L ⁻¹)	FPG ₁₄ (mmol · L ⁻¹)	R (%)
正常对照组 Normal control group		7.73 ± 0.88	7.21 ± 0.92	6.06 ± 13.09
模型组 Model group		18.02 ± 4.95	16.75 ± 5.15	4.38 ± 26.06
盐酸二甲双胍阳性药组 Positive medicine group of metformin hydrochloride	100	18.38 ± 5.25	7.64 ± 1.57***	56.03 ± 11.94
龙匙片高剂量组 High dose group of LC tablet	11500	18.44 ± 5.32	10.31 ± 4.80**	42.21 ± 23.46
龙匙片中剂量组 Middle dose group of LC tablet	5750	18.89 ± 4.70	12.37 ± 3.60*	32.48 ± 19.10
龙匙片低剂量组 Low dose group of LC tablet	3060	17.88 ± 3.26	13.61 ± 3.66	23.40 ± 16.01

注: 经组间 *t* 检验, 与糖尿病模型组比较, * 在 $P < 0.05$ 水平上显著; ** 在 $P < 0.01$ 水平上显著; *** 在 P 水平上显著 < 0.001 。

Note: *, ** and *** indicate statistical significance at $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$ level, respectively, compared with diabetic model group (*t*-test).

型组的血糖值比较, 盐酸二甲双胍阳性药组、龙匙片高、中剂量组均有明显的降血糖效果 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 龙匙片低剂量组有降血糖的作用趋势, 但无统计学显著性差异 ($P > 0.05$)。结果表明龙匙片对链脲佐菌素(STZ)所致糖尿病小鼠的血糖具有非常明显的抑制作用, 对实验性糖尿病小鼠有良好地治疗效果。

2.2 对盐酸肾上腺素所致高血糖小鼠血糖的影响

由表 2 显示, 与正常对照组比较, 糖尿病模型组小鼠注射肾上腺素 30 min 和 60 min 后血糖均明显升高, 有显著性差异 ($P < 0.001$)。与糖尿病模型组比较, 盐酸二甲双胍阳性药组、龙匙片高、中剂量组的血糖值均有明显的降低, 有统计学显著性差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 龙匙片低剂量组也有降低的趋势, 但没有表现出统计学显著性差异 ($P > 0.05$)。结果表明长期服用龙匙片能预防和抑制血糖的异常升高。

2.3 对口服葡萄糖耐量的影响

由表 3 显示, 经口大量灌服葡萄糖后, 各组所有小鼠的血糖值均急剧升高。在口服葡萄糖后 0.5~2 h, 盐酸二甲双胍阳性药组、龙匙片高、中剂量组均有明显抑制血糖升高的作用 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 龙匙片低剂量组也有抑制血糖升高的作用趋势, 但数据未表现出统计学显著意义。结果表明龙匙片对餐后高血糖有抑制作用。

2.4 对正常小鼠血糖的影响

由表 4 显示, 龙匙片高、低剂量经口灌胃后, 在 0~240 h 内, 所有小鼠的血糖值均没有明显波动和变化(各组之间进行组间 *t* 检验, 均为 $P > 0.05$), 结果表明龙匙片对正常小鼠的血糖水平无明显影响。

表 2 龙匙片对肾上腺素所致小鼠高血糖的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Influence of Longchi tablet on hyperglycemia in mice induced by adrenaline($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	日剂量 Daily dose (mg · kg ⁻¹)	用药前血糖 Blood sugar before using the drug (mmol · L ⁻¹)	注射 AD 后 30 min 血糖 AD 30 min after injection of blood sugar (mmol · L ⁻¹)	注射 AD 后 60 min 血糖 AD 60 min after injection of blood sugar (mmol · L ⁻¹)
正常对照组 Normal control group		6.41 ± 0.92	6.39 ± 1.13	6.37 ± 1.27
模型组 Model group		6.32 ± 1.05	11.78 ± 2.82 [△]	11.51 ± 3.01 [△]
盐酸二甲双胍阳性药组 Positive medicine group of metformin hydrochloride	100	6.46 ± 1.17	8.39 ± 1.96 ^{**}	7.62 ± 2.08 ^{**}
玉泉胶囊对照组 Control group of yuquan capsule	1040	6.60 ± 0.75	8.55 ± 1.58 ^{**}	8.17 ± 1.60 ^{**}
龙匙片高剂量组 High dose group of LC tablet	11500	6.31 ± 1.21	8.94 ± 1.66 [*]	8.21 ± 2.14 [*]
龙匙片中剂量组 Middle dose group of LC tablet	5750	6.07 ± 0.95	9.18 ± 2.38 [*]	8.87 ± 2.16 [*]
龙匙片低剂量组 Low dose group of LC tablet	3060	6.30 ± 1.08	10.65 ± 2.37	9.88 ± 1.99

注:经组间 *t* 检验,与正常对照组比较,△在 $P < 0.001$ 水平上显著;与糖尿病模型组比较,* 在 $P < 0.05$ 水平上显著,** 在 $P < 0.01$ 水平上显著。

Note:△indicates statistical significance at $P < 0.001$ level compared with normal control group (*t* - test); * and ** indicate statistical significance at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ level compared with diabetic model group (*t* - test).

表 3 龙匙片对小鼠口服糖耐量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effects of Longchi tablet on oral glucose tolerance of mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	日剂量 Daily dose (mg · kg ⁻¹)	血糖值 Blood sugar levels(mmol · L ⁻¹)			
		0 h	0.5 h	1 h	2 h
正常对照组 Normal control group		5.73 ± 1.32	11.8 ± 2.42	7.67 ± 1.91	6.56 ± 1.49
盐酸二甲双胍阳性药组 Positive medicine group of metformin hydrochloride	100	5.59 ± 1.25	8.22 ± 1.70 ^{**}	5.23 ± 1.35 ^{**}	4.67 ± 1.14 ^{**}
龙匙片高剂量组 High dose group of LC tablet	11500	5.47 ± 1.14	9.06 ± 1.69 ^{**}	5.89 ± 1.39 [*]	4.73 ± 1.11 ^{**}
龙匙片中剂量组 Middle dose group of LC tablet	5750	5.54 ± 1.58	9.59 ± 1.71 [*]	6.02 ± 1.48 [*]	5.04 ± 1.17 [*]
龙匙片低剂量组 Low dose group of LC tablet	3060	5.61 ± 1.48	10.86 ± 2.48	7.15 ± 1.89	5.52 ± 1.38

注:经组间 *t* 检验,与正常对照组比较,* 在 $P < 0.05$ 水平上显著,** 在 $P < 0.01$ 水平上显著。

Note: * and ** indicate statistical significance at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ level compared with normal control group (*t* - test).

表 4 龙匙片对正常小鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Impact of Longchi tablet on blood glucose of normal mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	日剂量 Daily dose (mg · kg ⁻¹)	血糖 Blood sugar levels(mmol · L ⁻¹)				
		0 h	24 h	72 h	120 h	240 h
正常对照组 Normal control group		5.80 ± 1.20	5.62 ± 1.46	5.75 ± 1.53	5.92 ± 1.31	5.46 ± 1.02
龙匙片低剂量组 Low dose group of LC tablet	3060	5.91 ± 1.23	5.79 ± 0.90	5.82 ± 1.09	5.73 ± 1.29	6.00 ± 1.50
龙匙片高剂量组 High dose group of LC tablet	11500	5.50 ± 1.44	5.81 ± 1.74	5.97 ± 1.37	5.70 ± 1.02	5.87 ± 1.38

注:经组间 *t* 检验,所有各组之间均无显著性差异 ($P > 0.05$)。

Note: There is no significant difference between any groups ($P > 0.05$, *t* - test).

3 结论

龙匙片高、中剂量组能显著降低链菌佐菌素所致的糖尿病性小鼠的血糖值,且能显著抑制肾上腺素导致的小鼠血糖异常升高,还能压制大量灌服葡萄糖引起的小鼠异常餐后高血糖,说明龙匙片具有良好的降血糖药理作用;低剂量组虽然有降血糖的作用趋势,但数据没有表现出统计学意义,说明龙匙片在低剂量时也能发挥降血糖作用,只是作用不甚明显。

参考文献:

- [1] 李学坚,董明姣,张雯艳,等. 芳竭丸活血化瘀作用的实验研究[J]. 中国现代应用药学,2009,26(11):906-909.
Li X J, Dong M J, Zhang W Y, et al. Experimental study on Huoxuehuayu effects of Fangjiewan [J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2009, 26(11): 906-909.
- [2] 江海燕. 匙羹藤降血糖成分研究进展[J]. 中药材, 2003, 26(4):305-307.
Jiang H Y. Research progress in hypoglycemic constituents of gymnema[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2003, 26(4): 305-307.
- [3] 董恩双. 龙血竭化学研究及降血糖有效部位的筛选[D]. 北京:北京中医药大学,2008:48-69.
Dong E S. Chemical Research and Screening of Effective Hypoglycemic Component of *Resina draconis* [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2008: 48-69.
- [4] 孙佳明,张林林,宗颖,等. 甘草降血糖和抗氧化的有效部位筛选研究[J]. 时珍国医国药,2013,24(12):2879-2880.
Sun J M, Zhang L L, Zong Y, et al. Screening effective components of glycyrrhiza on hypoglycemic and anti-oxidative activities [J]. Lishizhen Medicine and Materia

Medica Research, 2013, 24(12): 2879-2880.

- [5] 向雪松,王竹,祝宇铭,等. 链脲佐菌素注射剂量对建立2型糖尿病大鼠模型的影响[J]. 卫生研究,2010,39(2):138-142.
Xiang X S, Wang Z, Zhu Y M, et al. Dosage of streptozocin in inducing rat model of type 2 diabetes mellitus [J]. Journal of Hygiene Research, 2010, 39(2): 138-142.
- [6] 陈建国,步文磊,来伟旗,等. 桑叶多糖降血糖作用及其机制研究[J]. 中草药,2011,42(3):515-520.
Chen J G, Bu W L, Lai W Q, et al. Hypoglycemic effects and mechanism of Mulberry leaves polysaccharide [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2011, 42(3): 515-520.
- [7] 宋冰,刘学政. 大黄素对2型糖尿病小鼠血糖、胰岛素水平的影响及机制探讨[J]. 山东医药,2011,51(38):32-33.
Song B, Liu X Z. Effects of emodin on blood glucose and insulin in type II diabetic mice and its mechanisms [J]. Shandong Medical Journal, 2011, 51(38): 32-33.
- [8] 公惠玲,李卫平,尹艳艳,等. 黄精多糖对链脲菌素糖尿病大鼠降血糖作用及其机制探讨[J]. 中国中药杂志,2009,34(9):1149-1154.
Gong H L, Li W P, Yin Y Y, et al. Hypoglycemic activity and mechanism of polygona-polysaccharose on diabetic rat model [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2009, 34(9): 1149-1154.
- [9] 董明姣,李学坚,张雯艳,等. 壮药芳竭丸降血糖作用的实验研究[J]. 中国民族医药杂志,2009(7):56-58.
Dong M J, Li X J, Zhang W Y, et al. Experimental study on hypoglycemic effect of Zhuang medication Fangjie Pill [J]. Journal of Medicine & Pharmacy of Chinese Minorities, 2009(7): 56-58.

(责任编辑:竺利波)