

为复合体 I-辅酶 Q-复合体 III-细胞色素 C-复合体 IV; 另一条为复合体 II-辅酶 Q-复合体 III-细胞色素 C-复合体 IV^[7]。电子传递过程中释放的自由能在 ATP 合成酶的作用下合成 ATP。复合体 I、III、IV 被认为是呼吸链中电子传递与磷酸化偶联的 3 个位点, 同时, 这 3 个复合体也是质子泵出的部位。ATP 酶是一个多组分结构, 在分离状态下具有 ATP 水解酶的活性, 在结合状态下具有 ATP 合成酶的活性。Na⁺-K⁺-ATPase 和 Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase 可以分别调节线粒体膜的 Na⁺、K⁺ 和 Ca²⁺、Mg²⁺ 的平衡, 维持能量平衡。Na⁺-K⁺-ATPase 和 Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase 的活性在一定程度上可以反映 ATP 合成酶的活性。

本实验发现 ATR 能够抑制复合体 I、IV 的活性, 还可能协同 ROT 抑制复合体 I 的活性, 且与剂量相关; 而对复合体 II 和 III 的活性无明显影响。同时, ATR 还能抑制 Na⁺-K⁺-ATPase 和 Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase 的活性, 也与剂量相关。结果提示 ATR 抑制氧化磷酸化的机制, 除了早期发现的阻碍线粒体膜内外间的核苷酸移动外, 可能还与其抑制呼吸链电子传递的始端

复合体 I 和末端状态复合体 IV 以及 ATP 酶活性有关。

参考文献:

- [1] Calmes M, C respin F, Maillard C, et al. High performance liquid chromatographic determination of atractyloside and carboxy-atractyloside from *Atractylis gummifera*[J]. *Journal of Chromatography*, 1994, 663: 119-122.
- [2] Santi R. Potassium atractylate, a new inhibitor of the tricarboxylic acid [J]. *Nature*, 1958, 182: 257-258.
- [3] Vignais PV, Vignais PM, Stanislas E. Action of potassium atractylate on oxidative phosphorylation in mitochondria and submitochondrial particles[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1962, 60: 284-300.
- [4] 孙飞, 周强军, 孙吉, 等. 线粒体呼吸链膜蛋白复合体的结构[J]. *生命科学*, 2008, 20(4): 566-578.
- [5] 钟才高, 邓媛媛, 关岚, 等. 赤霉素对大鼠肝细胞线粒体呼吸功能的影响[J]. *卫生研究*, 2010, 39(6): 697-700.
- [6] 邓媛媛. Cr(IV)对大鼠离体肝细胞线粒体呼吸功能的影响[D]. 长沙: 中南大学公共卫生学院, 2010: 7-8.
- [7] 李森. 氧化磷酸化作用中 ATP 的产生数目释疑[J]. *生物学通报*, 2010, 45(2): 17-18.

(编辑: 梁进权)

玉壶汤对 db/db 小鼠糖尿病的药效学研究

丁勤霞¹, 陈婉姬², 杨明华³, 李晓东³, 朱芳芳³ (1. 浙江中医药大学附属第一医院, 浙江 杭州 310006; 2. 浙江省立同德医院, 浙江 杭州 310012; 3. 浙江省中药研究所糖尿病重点实验室, 浙江 杭州 310023)

摘要: **目的** 观察玉壶汤对 db/db 小鼠的降糖调脂作用, 并比较党参代替人参后新方与原方的药效。**方法** 取 12 周龄自发性 2 型糖尿病 db/db 小鼠, 将血糖值大于 16.7 mmol·L⁻¹ 的小鼠按血糖水平分层随机分为模型组、玉壶汤组、玉壶汤新方组、消渴丸组, 另设野生型雄性 db/db 小鼠为正常对照组。给药 8 周后, 以生化仪检测小鼠血糖、总胆固醇(CHOL)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C); 酶标仪检测小鼠血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、胰岛素、白介素-6(IL-6)含量。**结果** 与模型组比较, 玉壶汤组小鼠血清中血糖、CHOL、TG、MDA 和 IL-6 含量显著降低, SOD 活力、胰岛素水平显著升高 ($P<0.05$, $P<0.01$); 玉壶汤新方组小鼠血清中血糖、CHOL、TG 和 IL-6 含量显著降低, SOD 活力、胰岛素水平显著升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 玉壶汤对 2 型糖尿病有较好的降糖调脂作用, 以党参代替人参入方后的新方与原方的药效相当。

关键词: 玉壶汤; 2 型糖尿病; db/db 小鼠; 血糖; 血脂

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)06-0663-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.06.004

收稿日期: 2014-07-07

作者简介: 丁勤霞, 硕士研究生, 研究方向: 中药药理学。Email: sophiedqx@163.com。通讯作者: 杨明华, 博士, 教授, 研究方向: 中药药理与新药研究。Email: ymh702@126.com。

基金项目: 浙江省科技计划重点项目(2004F12016); 浙江省科技厅重点实验室建设项目(2012F10002)。

Pharmacodynamics Study of *Yuhu* Decoction on Diabetes in db/db Mice

DING Qinxia¹, CHEN Wanji², YANG Minghua³, LI Xiaodong³, ZHU Fangfang³ (1. The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310006 Zhejiang, China; 2. Tongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310012 Zhejiang, China; 3. The Key Laboratory of Diabetes, Zhejiang Institute of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310023 Zhejiang, China)

Abstract: Objective To study the pharmacodynamics effects of *Yuhu* Decoction(YD) on lowering the level of blood glucose and lipid in db/db mice, and to compare the pharmacodynamic actions of the original decoction with the decoction with Radix Ginseng replaced by Radix Codonopsis. **Methods** Spontaneous type 2 diabetes db/db mice aged 12 weeks with blood glucose level over 16.7 mmol·L⁻¹ were randomized into model group, YD group, modified YD group(YD with Radix Ginseng replaced by Radix Codonopsis), and Xiaoke Pills group according to the blood glucose level. Wild type male db/db mice served as the normal control. After medication with the corresponding drug for 8 weeks, blood glucose and total cholesterol(TC), triglyceride(TG), high-density lipoprotein cholesterol(HDL-C) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were detected by biochemical analyzer, Serum levels of superoxide dismutase(SOD), malondialdehyde(MDA), insulin and interleukin 6(IL-6) were detected by microplate reader according to kit method. **Results** Compared with the model group, the levels of glucose, TC, TG, MDA and IL-6 in blood were decreased, and SOD activities and insulin level were increased in YD group($P<0.05$, $P<0.01$); the observation indexes except the MDA showed the same changes in modified YD group($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion** *Yuhu* Decoction has the effects of lowering the level of blood glucose and lipid in type 2 diabetes db/db mice, and the effect keeps steady when Radix Ginseng in the decoction is replaced by Radix Codonopsis.

Keywords: *Yuhu* Decoction; Type 2 diabetes; db/db mice; Blood glucose; Blood lipid

糖尿病(DM)是一种常见的慢性终身性代谢性疾病。预计到 2025 年,全球将有 3.8 亿人受到糖尿病的困扰^[1]。近年来,我国糖尿病患病率显著增加,并以 2 型糖尿病为主。玉壶丸出自《仁斋直指》卷十七,原方为天花粉配伍人参,以麦冬煎汤送服。主治内热消渴、气阴两伤、引饮无度^[2]。高红艳等^[3]研究表明,麦冬、人参、天花粉是治疗中医消渴病高频药物中前 3 位的中药。临床上用玉壶丸加减方治疗糖尿病可取得较好疗效,但人参价格贵,故常用党参代替古方中的人参^[4]。故本实验以自发性肥胖型 2 型糖尿病小鼠(db/db 小鼠)为平台,观察玉壶汤治疗糖尿病的药效,并比较党参代替人参后玉壶汤新方与原方的药效。

1 材料与方法

1.1 动物及饲料 SPF 级雄性 db/db 小鼠(BKS-DB 品系),由南京大学国家遗传工程小鼠资源库提供,许可证号:SCXK(苏)2010-0001。高脂饲料由 10 %蔗糖、10 %蛋黄粉、10 %猪油、0.25 %胆固醇、2 %奶粉、67.75 %基础饲料组成(自制)。

1.2 药品及试剂 人参(生晒参),绍兴中药饮片厂,批号:131020;党参,杭州凯仑医药有限公司中药饮片厂,批号:140217;麦冬,杭州华东中药饮片有限

公司,批号:140120;天花粉,浙江中医药大学中药饮片有限公司,批号:140201;消渴丸,广州白云山中一药业有限公司,批号:20130715。

葡萄糖测试盒(批号:07064/00000706)、甘油三酯(TG)测试盒(批号:07046/00000691)、总胆固醇(CHOL)测试盒(批号:07045/00000639)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测试盒(批号:18499/00000807)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)测试盒(批号:17411/00000152),德赛诊断公司;超氧化物歧化酶(SOD)测试盒(批号:20140321)、丙二醛(MDA)测试盒(批号:20140323)、白介素-6(IL-6)ELISA 测试盒(批号:M20140330)、胰岛素 ELISA 测试盒(批号:M20140330),南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器 501S 型超级恒温水槽(上海跃进医疗器械厂);L-550 台式低速大容量离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);INFINITE M200 型酶标仪(TECAN 公司);Model-680 型酶标仪(BIO-RAD 公司);HX103T 型电子天平(慈溪市天东衡器厂);1455 型拜安捷血糖仪(德国拜耳公司);日立 7020 全自动生化分析仪(日本日立株式会社)。

1.4 药物制备 玉壶汤:取天花粉、人参、麦冬等量,10 倍量蒸馏水回流提取 2 次,每次 60 min,合并滤液,浓缩,制得含生药量为 0.6 g·mL⁻¹ 的药液。

玉壶汤新方：以党参替代人参，提取方法同玉壶汤。消渴丸：研磨后用蒸馏水配成含生药量 $0.4 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 药液。

1.5 分组及给药 40 只 12 周龄雄性 db/db 小鼠剪尾取血，血糖仪检测血糖，结果各小鼠血糖值均大于 $16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，按血糖值分层随机均分为模型组、玉壶汤组 ($6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、玉壶汤新方组 ($6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、消渴丸组 ($4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)，每组 10 只，另设 10 只野生型雄性 db/db 小鼠为正常对照组。玉壶汤组和玉壶汤新方组给药剂量据预试结果制定，阳性药消渴丸组剂量由临床等效剂量换算而得。灌胃给药，给药容积为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，正常对照组、模型组给予等量蒸馏水，连续给药 8 周。实验过程中，模型组及各给药组 db/db 小鼠以高脂饲料饲养，正常对照组小鼠以普通饲料饲养。

1.6 指标检测 在给药 4 周末，剪尾取血，血糖仪检测各组小鼠血糖值；给药 8 周时，末次给药 1 h 后，眼眶后静脉丛采血， 37°C 水浴 40 min 后， $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min，分离血清，7020 生化仪检测血糖、血脂 4 项 (CHOL、TG、HDL-C、LDL-C)，按试剂盒说明书方法，酶标仪检测血清 SOD、MDA、胰岛素和 IL-6 含量。

1.7 统计学处理方法 采用 SPSS17.0 统计软件进行处理，数据用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 方法；两组间比较，满足方差齐性时用 LSD 检验，不满足方差齐性时用 T_2 检验； $P < 0.05$ 表示有显著性差异， $P < 0.01$ 表示有极显著性差异。

2 结果

2.1 对血糖的影响 与正常对照组比较，给药前、给药 4 周末和 8 周末，模型组 db/db 小鼠血糖显著升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，给药 4 周末和 8 周末，各给药组血糖均显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见表 1。

表1 各组血糖值比较 ($\bar{x} \pm s$, $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $n=10$)

Table 1 The comparison of the blood glucose in each group

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药前	给药 4 周末	给药 8 周末
正常对照组	—	$5.91 \pm 0.87^{**}$	$6.04 \pm 0.99^{**}$	$5.48 \pm 0.66^{**}$
模型组	—	26.25 ± 3.93	31.71 ± 3.30	33.76 ± 5.08
玉壶汤组	6	26.77 ± 3.65	$26.83 \pm 3.33^*$	$27.07 \pm 3.40^{**}$
玉壶汤新方组	6	26.12 ± 4.22	$27.95 \pm 3.61^*$	$28.36 \pm 4.29^*$
消渴丸组	4	26.33 ± 3.09	$26.65 \pm 3.39^*$	$26.19 \pm 3.30^{**}$

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

2.2 对血脂的影响 与正常对照组比较，模型组血脂

4 项均显著升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，各给药组血清 CHOL 显著降低 ($P < 0.05$)，玉壶汤组、玉壶汤新方组血清 TG 显著降低 ($P < 0.05$)，见表 2。

表2 各组血脂 4 项比较 ($\bar{x} \pm s$, $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $n=10$)

Table 2 The comparison of TC, TG, HDL-C and LDL-C in each group

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	CHOL	TG	HDL-C	LDL-C
正常对照组	—	$2.21 \pm 0.29^{**}$	$0.94 \pm 0.22^{**}$	$1.64 \pm 0.15^{**}$	$0.35 \pm 0.13^{**}$
模型组	—	13.47 ± 1.93	1.37 ± 0.21	4.45 ± 0.13	4.40 ± 0.80
玉壶汤组	6	$11.15 \pm 1.32^*$	$1.15 \pm 0.22^*$	4.32 ± 0.21	3.95 ± 0.46
玉壶汤新方组	6	$11.79 \pm 0.83^*$	$1.16 \pm 0.12^*$	4.49 ± 0.16	3.87 ± 0.39
消渴丸组	4	$11.57 \pm 1.71^*$	1.27 ± 0.16	4.33 ± 0.26	4.28 ± 0.52

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

2.3 对 SOD 活力、MDA 含量的影响 与正常对照组比较，模型组小鼠血清 SOD 活力显著降低，MDA 含量显著增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；与模型组比较，各给药组 SOD 活力均显著提高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，玉壶汤组血清 MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$)，见表 3。

表3 各组SOD活力和MDA含量比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 The comparison of SOD and MDA in each group

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	SOD / $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$	MDA / $\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$
正常对照组	—	$197.64 \pm 14.19^{**}$	$2.39 \pm 0.74^*$
模型组	—	150.59 ± 17.67	4.86 ± 2.48
玉壶汤组	6	$190.18 \pm 15.42^{**}$	$3.03 \pm 1.12^*$
玉壶汤新方组	6	$172.69 \pm 11.95^*$	4.48 ± 1.16
消渴丸组	4	$167.74 \pm 12.39^*$	4.97 ± 1.44

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

2.4 对胰岛素、IL-6 的影响 与正常对照组比较，模型组血清胰岛素含量显著降低 ($P < 0.01$)，IL-6 含量显著升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，各给药组血清胰岛素含量均显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，IL-6 含量显著降低 ($P < 0.05$)，见表 4。

表4 各组血清胰岛素和IL-6含量比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 4 The comparison of insulin and IL-6 in blood in each group

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	胰岛素 / $\text{mIU} \cdot \text{L}^{-1}$	IL-6 / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$
正常对照组	—	$2.77 \pm 1.52^{**}$	$44.70 \pm 12.71^*$
模型组	—	0.86 ± 0.20	62.97 ± 11.63
玉壶汤	6	$1.20 \pm 0.27^{**}$	$47.05 \pm 8.15^*$
玉壶汤新方	6	$1.09 \pm 0.27^*$	$52.04 \pm 8.94^*$
消渴丸	4	$1.30 \pm 0.26^{**}$	$50.00 \pm 6.23^*$

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

3 讨论

糖尿病是以慢性高血糖为主要特征的代谢性疾

病,由胰岛素分泌缺陷或胰岛素作用缺陷所引起,常伴有碳水化合物、脂肪和蛋白质的代谢障碍。在糖尿病的分类中,全球90%以上的糖尿病为2型糖尿病。因此,建立理想的2型糖尿病动物模型至关重要。db/db小鼠是由近交系C57BL/KS小鼠4号染色体单基因隐性遗传突变产生,其瘦素(Leptin)受体基因缺陷,在出生3~4周出现肥胖,8周后逐渐发展为严重的高血糖症,并伴有胰岛素抵抗, β 细胞功能衰竭等症状和病理变化^[9],目前db/db小鼠已广泛用于2型糖尿病研究。

玉壶丸由人参、天花粉、麦冬3味中药组成。取人参补脾益肺生津之功,天花粉清热泻火、生津止渴之效,两者炼蜜为丸,达到益气养阴的功效,以治疗内热消渴,气阴两伤者。而用味甘柔润,微苦微寒,入胃经的麦冬煎汤送服,取其长于益胃清热,可以缓解消渴病人的舌干口渴之症。玉壶丸虽然组方简单,但3药合用清热润燥、养阴生津,治疗消渴之阴虚为本,燥热为标,达到标本并治。人参用于消渴症治疗由来已久,人参皂苷中的Re、Rc和Rb₁等有一定降低血糖、改善并发症的功效^[6]。天花粉经超声所得提取物具有良好的降血糖功效及改善糖尿病“三多一少”症状^[7]。麦冬具有降血糖、抗氧化、抗衰老及抗心肌缺血等作用,特别是麦冬中多糖成分具有降糖作用,已引起学者们的重视^[8]。

本实验结果表明,玉壶汤原方与新方均可显著降低db/db小鼠血糖、CHOL、TG和血清IL-6含量,并且二者均能显著提高db/db小鼠血清SOD活性和胰岛素水平;玉壶汤原方还能显著降低血清MDA含量,但新方对MDA的作用不明显。

氧化应激与糖尿病及并发症的发生发展关系密切,Haskins K等^[9]发现糖尿病小鼠存在明显的氧化应激,导致胰岛和血管组织损伤。本实验结果表明,玉壶汤能提高db/db小鼠SOD活性,提示该药可能通过增强机体抗氧化、清除自由基的能力,进而保护胰岛和血管组织。

胰岛素是机体内唯一能降低血糖的蛋白质激素,db/db小鼠出生后10d血胰岛素水平已明显升高,第8周达最高峰,后突然迅速下降并维持在较低水平,其原因可能是db/db小鼠伴有严重胰岛素抵抗,胰腺代偿性分泌较多的胰岛素,之后随着病情加重, β 细胞功能衰竭,胰岛素分泌不足^[10]。本研究结果表明,在db/db小鼠18周时,模型组血清胰岛素含量明显低于正常对照组,原因可能是模型组小鼠部分 β 细胞发生了功能障碍。IL-6是一种具有多种生物

活性的细胞因子,可调节免疫应答,并作为炎症因子参与炎症反应,细胞因子介导的炎症反应在2型糖尿病的发病机制中起重要作用^[11]。有研究^[12]证实,IL-6通过干扰胰岛素信号传导通路,减弱胰岛素的生理作用,导致胰岛素抵抗的发生。本实验结果发现,玉壶汤可使db/db小鼠血清IL-6含量降低、胰岛素含量升高,提示这可能是玉壶汤治疗糖尿病的机制之一。

糖尿病治疗过程漫长,很多人需要终身用药。人参药性偏温偏烈,不适合长期使用,民间甚至有夏月不宜食用人参的说法^[13],相对而言党参药性较为平和,《本草正义》中记载:党参力能补脾养胃,润肺生津,健运中气,本与人参不甚相远,其尤可贵者,则健脾运而不燥,滋胃阴而不湿,润肺而不犯寒凉,养血而不偏滋腻,鼓舞清阳,振动中气,而无刚燥之弊。早在清代《本经逢源》、《本草从新》、《本草求真》等著作中就有用党参代替人参入药的记载。本实验结果表明,玉壶汤对2型糖尿病有较好的治疗作用,且玉壶汤原方与玉壶汤新方的疗效无明显差异。本研究为党参代替人参入方进行糖尿病治疗与新药开发提供了参考,值得进一步研究探讨。

参考文献:

- [1] 张雪,陈秋. 糖尿病前期的中西医结合干预概况[J]. 湖南中医杂志, 2014, 30(3): 151-152.
- [2] 钟赣生. 中药学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 92.
- [3] 高红艳,车立娟,张昌林,等. 基于古代文献的消渴方剂数据库分析[J]. 数理医药学杂志, 2010, 13(6): 693-694.
- [4] 钟赣生. 中药学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 369.
- [5] 田婷,马向华,沈捷. 2型糖尿病动物模型研究概况[J]. 医学综述, 2011, 17(6): 905-908.
- [6] 陈斌,钱骅,赵伯涛. 人参和西洋参对糖尿病作用的研究进展[J]. 人参研究, 2011, 23(1): 33-36.
- [7] 李晓芳,叶小利,李平,等. 天花粉降血糖活性成分的分离和活性观察[J]. 中成药, 2011, 33(12): 2175-2178.
- [8] 岳珊珊,苏颖. 麦冬抗肿瘤作用的研究进展[J]. 海峡药学, 2014, 26(1): 11-13.
- [9] Haskins K, Bradley B, Powers K, et al. Oxidative stress in type1 diabetes[J]. Ann NY Acad Sci, 2003, 1005: 43-54.
- [10] 朱加明,刘志红,黄燕飞. 大黄酸对db/db小鼠糖尿病肾病疗效的观察[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2002, 11(1): 3-11.
- [11] 侯春兰,李步荣,刘静,等. 2型糖尿病及胰岛素抵抗与细胞因子的相关性研究[J]. 第四军医大学学报, 2006, 27(11): 997-998.
- [12] 崔思远,李芳. IL-6与2型糖尿病关系的研究进展[J]. 中国微生物学杂志, 2012, 24(11): 1051-1054.
- [13] 周光珍. 人参治疗气虚欲脱证功效研究简况[J]. 实用中医内科杂志, 2014, 28(2): 177-178.

(编辑: 梁进权)