

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.10.001

盐知母醇提物对2型糖尿病模型大鼠血糖血脂的影响*

闫丽, 王晓婷, 高慧[△]

(辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600)

摘要:目的 优选盐知母醇提物降血糖调血脂的最佳体积分数。方法 腹腔注射链脲佐菌素(STZ, 40 mg/kg)合并喂饲高脂饲料, 以建立2型糖尿病大鼠模型, 随机分为模型组和不同体积分数醇提物组, 分别给予相应药物7, 14 d后测定大鼠空腹血糖(FBG), 并采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白(HDL)和低密度脂蛋白(LDL)等指标水平, 并计算胰岛素敏感指数(ISI)和胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。结果 与模型组比较, 不同体积分数醇提物组大鼠FBG、血清空腹胰岛素(FINS)、总胆固醇(TC)、TG、糖化血红蛋白(HbA_{1c})、LDL、ISI、HOMA-IR显著降低, HDL明显升高, 差异均有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 其中75%乙醇组上述指标均较优。结论 75%盐知母醇提物降血糖、调血脂效果最好。

关键词:盐知母; 醇提物; 2型糖尿病; 大鼠模型; 降血糖; 调血脂

中图分类号: R932; R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)10-0001-03

Effect of Ethanol Extract from Saline *Rhizoma Anemarrhenae* on Blood Glucose and Blood Lipid in Rat Models with Type 2 Diabetes Mellitus

YAN Li, WANG Xiaoting, GAO Hui

(School of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian, Liaoning, China 116600)

Abstract: Objective To optimize the optimum volume fraction of ethanol extract from saline *Rhizoma Anemarrhenae* for lowering blood glucose and regulating blood lipid. **Methods** The rat models with type 2 diabetes mellitus(T2DM) were established by intraperitoneal injection of streptozotocin(STZ, 40 mg/kg) and feeding with high-fat diet. The rats were randomly divided into the model group and ethanol extract groups with different volume fractions, 7 and 14 d after the corresponding drugs were given to each group, the levels of fasting blood glucose(FBG) of rats was determined, the triglyceride(TG), high-density lipoprotein(HDL) and low-density lipoprotein(LDL) of rats were determined by ELISA, the insulin sensitivity index(ISI) and insulin resistance index(HOMA-IR) of rats were calculated.

Results Compared with the model group, different volume fractions of ethanol extracts could significantly reduce the levels of serum FBG, serum fasting insulin(FINS), total cholesterol(TC), TG, glycosylated hemoglobin(HbA_{1c}), LDL, ISI and HOMA-IR were significantly lower, while the levels of HDL were significantly higher in the ethanol extract groups with different volume fractions, the difference was statistically significant ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), of which 75% ethanol group had the best indexes. **Conclusion** 75% ethanol extract from saline *Rhizoma Anemarrhenae* has the best effect in lowering blood glucose and regulating blood lipid.

Key words: saline *Rhizoma Anemarrhenae*; ethanol extract; type 2 diabetes mellitus; rat models; lowering blood glucose; regulating blood lipid

知母为百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的干燥根茎, 有清热泻火、滋阴润燥功效, 可用于治疗外感热病、高热烦渴、肺热燥咳、骨蒸潮热、内热消渴、肠燥便秘等症^[1]。盐知母是知母历代的主流炮制品种, 前期研究发现, 知母盐炙后降血糖作用显著增强, 且其醇提物作用优于水煎液^[2-3]。目前公认的2型糖尿病血脂异常是由于血液中游离脂肪酸增多引起三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白(LDL)增加, 高密度脂蛋白(HDL)减少, 导致糖尿病发病增多^[4]。本试验中以糖尿病模型大鼠的血糖血脂因子活性为指标进行研究, 观察不同体积分数盐知母醇提物对其的影响, 优选盐知母醇提物降血糖的最佳体积分数。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与动物

仪器: Multiskan MK3 型酶标仪(美国赛默飞世尔科技有限公司); TGL-16C 型台式离心机(上海安亭科学仪器厂); 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); 摇摆式高速万能粉碎机(温岭市吉大机械有限公司); Milli-Q Integral 一体机纯水仪(大连烽木源科技有限公司); 血糖仪(上海健臻医疗科技有限责任公司); FSH-2 型可调高速电动匀浆机(江苏金坛市佳美仪器有限公司); H1650-W 型台式离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); SHA-C 型台式恒温振荡器(常州国华电器有限公司); pH 酸度计(上海鹏顺科学仪器有限公司)。

*基金项目: 国家自然科学基金[81102810]; 教育部高等学校博士学科点专项基金资助项目[20112133120009]。

第一作者: 闫丽, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制学, (电子信箱)13674186110@163.com。

[△]通信作者: 高慧, 女, 博士研究生, 教授, 研究方向为中药炮制原理, (电话)0411-85890146(电子信箱)gaohuitcm@163.com。

试剂:知母(四川新荷花中药饮片股份有限公司,批号为1702083);胰岛素(INS)试剂盒(批号为PE30620)、TG试剂盒(批号为BPE30046)、HDL试剂盒(批号为BPE30048)、LDL试剂盒(批号为BPE30047)、总胆固醇(TC)试剂盒(批号为BPE30045)、糖化血红蛋白(HbA_{1c})试剂盒(批号为BPE30395),均由上海朗顿生物科技有限公司提供;链脲佐菌素(STZ,北京博爱港商贸中心);其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

动物:SPF级SD大鼠60只,雄性,体质量180~220g,由辽宁长生生物技术有限公司提供,实验动物许可证号为SCXK(辽)2015-0001。于室温25℃、相对湿度50%的环境下适应性饲养7d。

1.2 方法

1.2.1 样品溶液制备

STZ缓冲液:取柠檬酸2.1g,柠檬酸钠2.94g,分别溶于100mL水中,测得pH介于4.2~4.5,经0.22μm微孔滤膜滤过,加入STZ适量,避光,充分混匀,备用。

脂肪乳:取20g猪油,加热至熔化,加入5g胆固醇,待胆固醇全溶后加入吐温-80、甘油各10mL,加水至100mL,加入蔗糖和果糖各5g^[5]。

盐知母醇提液:按前期工艺炮制盐知母^[6]。称适量盐知母,分别以65%,75%,85%,95%乙醇回流提取3次,每次1h,滤过,合并滤液,浓缩得醇浸膏。用水混悬浸膏,分别制备成质量浓度为0.25g/mL的溶液。

1.2.2 建模与给药

随机取10只SD大鼠作为空白组,其余大鼠用高脂饲料和脂肪乳交替喂养。当大鼠体质量在300g以上时,禁食12h,腹腔注射STZ缓冲液(40mg/kg),72h后测空腹血糖(FBG)≥11.7mmol为建模成功。将建模成功的50只大鼠,随机均分为65%乙醇组、75%乙醇组、85%乙醇组、95%乙醇组(分别予相应体积分数乙醇提取物)及模型组,各组大鼠均连续灌胃给药(2.5g/kg)2周,每天1次。试验期间,空白组与模型组大鼠根据体质量给予等体积的0.9%氯化钠溶液。定期测量大鼠体质量,以调整给药剂量。

1.2.3 指标检测

末次给药后,行腹主动脉取血,静置30min,

3800r/min离心15min,取上清液,严格按试剂盒说明检测大鼠血清空腹胰岛素(FINS),TG,TC,HbA_{1c}含量。

取部分肝组织,称定质量后放入10mLEP管中,按质量(g):体积(mL)为1:9的比例,用移液枪吸取磷酸盐缓冲液(PBS,pH介于7.2~7.4),加入EP管中并用高速匀浆机匀浆,匀浆后将其放入高速离心机中,3800r/min离心20min,取上清液检测大鼠肝组织HDL和LDL。并按公式计算胰岛素敏感指数(ISI)^[7]、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)^[8]。ISI=ln[1/(FBG×FINS)];HOMA-IR=FBG×FINS/22.5。

1.3 统计学处理

采用SPSS17.0统计学软件分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,行t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

结果见表1和表2。与模型组比较,各给药组大鼠给药7,14d后FBG均明显降低,其中75%乙醇组FBG降低作用最显著;各给药组大鼠血糖、血脂水平不同程度改善,其中75%乙醇组降血糖、调血脂效果最显著。

3 讨论

糖尿病属中医“消渴”范畴,与素体肥胖、饮食失节、过食肥甘厚味等密切相关^[9],从而导致阴津亏耗、燥热偏盛、痰浊湿热、肝失疏泄等现象^[10]。本研究中通过高脂饲料及脂肪乳灌胃轮流喂养,从而使大鼠饮食过度,进而导致肥胖,然后腹腔注射STZ的方法建立2型糖尿病模型。建模后大鼠出现尿多、尿液黏腻、饮水量增加、精神萎靡、活动松散、体质量减轻等现象;给药后大鼠饮水量及尿量减少,体质量有所控制,精神有所好转。

表1 不同体积分数盐知母醇提物对糖尿病模型大鼠FBG的影响($\bar{x} \pm s$,mmol/L,n=10)

组别	剂量(g/kg)	给药前	给药7d	给药14d
空白组		3.91±0.48	3.98±0.65	3.93±0.60
模型组		20.20±2.56 ^a	21.03±2.51 ^a	22.23±2.92 ^a
65%乙醇组	2.5	20.82±0.65	11.86±1.46 ^b	7.24±1.00 ^b
75%乙醇组	2.5	20.86±0.56	10.29±1.70 ^b	6.30±1.81 ^b
85%乙醇组	2.5	20.66±0.94	13.46±1.34 ^b	9.66±1.75 ^b
95%乙醇组	2.5	20.65±0.87	15.27±1.09 ^b	11.33±1.34 ^b

注:与空白组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

表2 不同体积分数盐知母醇提物对糖尿病模型大鼠FINS、HbA_{1c}及血脂的影响($\bar{x} \pm s$,n=10)

组别	剂量(g/kg)	FINS(mU/L)	HOMA-IR	ISI	HbA _{1c} (%)	TC(mmol/L)	TG(μmol/L)	HDL(ng/mL)	LDL(ng/mL)
空白组		26.19±8.88	5.03±2.89	-1.49±0.51	8.87±1.54	3.20±0.25	1088.33±263.57	62.55±3.60	164.18±23.98
模型组		71.49±3.65 ^a	70.87±11.99 ^a	-4.27±0.15 ^a	17.75±0.61 ^a	4.95±0.23 ^a	2147.33±165.27 ^a	50.76±5.27 ^a	271.32±37.77 ^a
65%乙醇组	2.5	30.88±6.46 ^b	12.67±9.50 ^b	-2.37±0.56 ^b	9.09±1.12 ^b	3.62±0.73 ^b	1367.37±371.14 ^b	56.27±2.75 ^b	207.16±25.48 ^b
75%乙醇组	2.5	28.04±8.39 ^b	7.84±4.63 ^b	-1.90±0.60 ^b	8.46±0.71 ^b	3.21±0.86 ^b	1157.67±445.14 ^b	57.91±2.06 ^b	184.27±18.17 ^b
85%乙醇组	2.5	43.81±11.82 ^b	19.43±6.99 ^b	-2.87±0.55 ^b	9.23±0.76 ^b	4.12±0.48 ^b	1554.00±365.04 ^b	56.60±1.02 ^b	217.00±10.93 ^b
95%乙醇组	2.5	45.43±8.66 ^b	23.30±7.69 ^b	-3.11±0.28 ^b	9.74±0.51 ^b	4.42±0.40 ^b	1931.50±427.79 ^b	50.76±5.28 ^c	217.88±18.90 ^b

注:与空白组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$,^c $P < 0.05$ 。