

甘露消渴茶によるアロキサン糖尿病マウスの血糖下降作用

陳 福君*, 盧 軍, 張 毅

沈陽薬学院中薬系 中薬方剂教研室

Hypoglycemic effects of Ganlu-Xiaokeca in alloxan-diabetic mice

Fujun CHEN, Jun LU, Yi ZHANG

Department of Chinese Pharmacy & Pharmacology, Shenyang College of Pharmacy

(Received June 8, 1994. Accepted October 1, 1994.)

Abstract

Ganlu-Xiaokeca (G.X), a kind of health-keeping prescription, was prepared on the basis of traditional Chinese medicine theory to reduce the blood glucose level in diabetic patients. G.X. consists of crude drugs: Souyou, Ninjin, Kakkon, Kikka, Ryokucha and Stevia. Water extract of G.X. (3.5 g/kg, p.o.) acutely and chronically exhibited hypoglycemic effects and increased the glucose tolerance ability and content of liver glycogen in alloxan-induced diabetic mice. These results suggest that G.X. may prevent the development of diabetes and diabetic complications.

Key words blood glucose, diabetes, Ganlu-Xiaokeca, alloxan.

Abbreviation G.X., Ganlu-Xiaokeca.

緒 言

甘露消渴茶 (Ganlu-Xiaokeca, G.X.) は近年、沈陽薬学院で開発された漢方保健薬である。これは糖尿病の予防と治療を目的とした伝統的な古典中医方剤である清熱養陰代茶飲を基にして考案された新しい漢方薬製剤である。その配合は桑葉3、人參2、葛根3、菊花1、緑茶1.5、ステビア葉0.4で構成されている¹⁾。この構成生薬の桑葉、人參、葛根は昔から漢方薬として消渴症 (糖尿病に相当) によく用いられ、その血糖下降作用もそれぞれ報告されている^{2, 5)}。漢方医学理論から見ると、この新しい方剤には“清熱養陰、生津止渴”の効能が認められるが、糖尿病態における薬理作用については全く検討されていない。

本研究は正常及びアロキサン糖尿病マウスを用い、血糖下降作用を詳しく検証することが目的である。

材料と方法

甘露消渴茶 (G.X.) の構成生薬は桑葉 (Souyou), *Morus*

alba L. (中国江蘇省産)；人參 (Ninjin), *Panax ginseng* C.A. MEY. (中国吉林省産)；葛根 (Kakkon), *Pueraria lobata* (WILLD.) OHWI. (中国河南省産)；菊花 (Kikka), *Chrysanthemum morifolium* RAMAT. (中国安徽省産)；緑茶 (Ryokucha), *Camellia sinensis* O. KTZE. (中国江蘇省産)；ステビア葉 *Stevia rebaudiana* bent. (中国遼寧省栽培品) である。材料はティーバックタイプの剤形にした G.X. (東北第六製薬廠, 沈陽市, 中国) の 100 g を用い、1.5 l 蒸留水で 90°C, 2 時間 2 回抽出した。その濾液を 500 ml まで減圧濃縮し、エチルアルコール (95 %) 500 ml を加えた。それを 4°C, 24 時間放置し減圧濃縮した後、凍結乾燥して 38.5 g のエキスを得た (収率 38.5 %)。それを蒸留水に溶解し、10 g 体重 0.2 ml を経口投与した。

正常マウス (6 週齢の昆明系マウス, 24.0-26.0 g, 雄性) は中国医科大学動物センターから購入し 3 日後、実験に用いた。アロキサン糖尿病マウスは 6 週齢の正常昆明系マウスに alloxan monohydrate (Sigma, USA) 85 mg/kg を尾静脈内に投与して 3 日後、12 時間絶食し、血糖値が 200 mg/dl 以上のマウスを用いた。

血糖値の測定法は単回投与の場合には投与直前と投与

著者現在の連絡先：*〒 930-01 富山市杉谷 2630
富山医科薬科大学薬学部薬品作用学教室
2630 Sugitani, Toyama 930-01, Japan

後の所定時間 (2, 4, 6 時間目) に, 長期連続投与の場合には投与直前と投与後一週間毎に, マウス眼底静脈叢よりガラス毛細管で 20 μ l ずつ採血しグルコースオキシダーゼ法によって血糖値を測定した。血糖値測定のための採血は長期投与の場合を除いて, 12 時間絶食後に行った。血糖下降率は次式に従って算出し, その変化量を求めた。

$$\text{血糖下降率 (\%)} = (a-b) / a \times 100$$

a : 投与前の血糖値

b : 投与後の血糖値

肝グリコーゲンの定量は, 長期連続投与の実験後屠殺したマウスの肝臓を摘出し, Kemp らの方法⁶⁾に従って行った。

有意差検定には Student's *t*-test を用いた。

対照薬として, 経口血糖下降剤 Tolbutamide (常州製薬廠, 常州市, 中国) を Handy Sonicator で蒸留水に均一に懸濁 (15 mg/ml) して用いた。

結 果

1. G.X. によるアロキサン糖尿病マウスにおける血糖下降作用

約 12 時間絶食させたアロキサン糖尿病マウスに 0.2 ml/10 g の液量でそれぞれ G.X. エキス 0.8, 1.7, 3.5 g/kg を経口投与すると, 用量依存的な血糖下降作用がみられた (Table I)。その内, 蒸留水投与した対照群と比べれば 3.5 g/kg の投与群は 4, 6 時間値ともに有意な血糖下降作用がみられたが 1.7 g/kg 投与群は 6 時間値だけが有意であった。対照薬の Tolbutamide は 4 時間値に強い効果がみられたが, 6 時間値では効果が弱くなり有意差はみられなかった。

2. G.X. による正常マウスにおける血糖下降作用

正常マウスを用い, 非絶食下で, 0.2 ml/10 g の液量で G.X. エキス 0.8, 1.7, 3.5 g/kg をそれぞれ経口投与した。対照群には同液量の蒸留水を投与した。G.X. は正常マウスに対して血糖下降作用を示した (Table II)。その作用パターンは糖尿病マウスとほぼ同じであったが, 効果は減少した。一方, Tolbutamide は糖尿病マウスに対する作用パターンと異なり, 投与後 4, 6 時間にいずれも強い効果が見られた。この結果から, G.X. は正常マウスよりもアロキサン糖尿病マウスに対して強い効果を示すことが明らかになった。

3. G.X. の長期連続投与による糖尿病マウスの血糖下降作用

Table I Acute hypoglycemic effects of Ganlu-Xiaokeca in alloxan-diabetic mice.

Groups	Dose (g/kg)	Blood glucose level before p.o. (mg/dl)	Fall of blood glucose level (%)			n
			2	4	6 (hours)	
Control	0	213.3 $\pm$ 29.4	4.5 $\pm$ 3.4	-1.04 $\pm$ 5.0	4.4 $\pm$ 1.5	20
Ganlu-Xiaokeca	0.8	237.4 $\pm$ 22.4	5.6 $\pm$ 3.0	6.2 $\pm$ 4.9	0.9 $\pm$ 4.2	20
	1.7	200.4 $\pm$ 24.7	8.3 $\pm$ 5.4	11.8 $\pm$ 3.3	25.4 $\pm$ 5.6*	19
	3.5	227.0 $\pm$ 36.4	11.2 $\pm$ 4.3	23.6 $\pm$ 7.2**	36.5 $\pm$ 7.6**	20
Tolbutamide	0.3	213.9 $\pm$ 23.1	15.2 $\pm$ 6.3	26.6 $\pm$ 9.1**	12.4 $\pm$ 7.8	19

Drugs were administered per os (p.o.). n : The number of observation. All data are means $\pm$ S.E.M..

p* < 0.05, *p* < 0.01 : vs. control group by Student's *t*-test.

Table II Acute hypoglycemic effects of Ganlu-Xiaokeca in normal mice.

Groups	Dose (g/kg)	Blood glucose level before p.o. (mg/dl)	Fall of blood glucose level (%)			n
			2	4	6 (hours)	
Control	0	138.3 $\pm$ 6.5	3.4 $\pm$ 1.2	-4.8 $\pm$ 4.2	1.7 $\pm$ 4.2	20
Ganlu-Xiaokeca	0.8	139.6 $\pm$ 6.9	-1.3 $\pm$ 2.1	7.9 $\pm$ 3.8	-2.4 $\pm$ 3.2	18
	1.7	147.5 $\pm$ 8.4	7.6 $\pm$ 4.4	14.8 $\pm$ 4.1	16.9 $\pm$ 3.4*	20
	3.5	141.4 $\pm$ 9.5	6.9 $\pm$ 2.9	16.8 $\pm$ 6.5*	19.7 $\pm$ 6.6**	19
Tolbutamide	0.3	156.1 $\pm$ 4.4	11.7 $\pm$ 2.4	21.7 $\pm$ 5.2*	27.2 $\pm$ 2.5**	20

Drugs were administered per os (p.o.). n : The number of observation. All data are means $\pm$ S.E.M..

p* < 0.05, *p* < 0.01 : vs. control group by Student's *t*-test.

Table III Hypoglycemic effects of Ganlu-Xiaokeca in alloxan-diabetic mice.

Groups	Dose (g/kg/day)	Blood glucose level before p.o. (mg/dl)	Fall of blood glucose level (%)				after p.o. 5 (week)	n
			1	2	3	4		
Control	0	384.7±26.8	5.7±3.0	4.2±5.9	2.5±5.4	1.7±4.5	2.9±3.2	20
Ganlu-	0.8	400.1±31.6	4.4±3.4	1.7±3.6	15.4±8.1	13.2±8.0	11.9±7.3	17
Xiaokeca	1.7	389.2±25.8	15.9±5.4	16.6±6.6	28.6±5.3*	31.5±6.5*	26.7±6.2	20
	3.5	367.5±12.8	18.1±7.8	26.7±8.2*	27.7±7.4*	30.2±7.1*	33.6±8.5*	18
Tolbutamide	0.3	397.0±20.7	14.1±9.2	19.8±7.2	18.9±9.5	31.2±7.8*	40.8±6.0*	19

Drugs were administered per os (p.o.) once a day for 4 weeks.

* $p < 0.05$: vs. control group by Student's t -test. n: The number of observation. All data are means±S.E.M..

Table IV Effect of Ganlu-Xiaokeca on body weight changes in alloxan-diabetic mice.

Groups	Dose (g/kg/day)	before p.o.	Body weight (g)				after p.o. 5 (week)	n
			1	2	3	4		
Control	0	24.0±0.8	24.9±1.0	27.8±1.2	28.2±1.1	28.5±0.9	27.9±1.0	20
Ganlu-	0.8	24.5±0.9	24.2±1.6	27.0±2.0	28.4±1.3	30.7±1.5	31.9±2.0*	17
Xiaokeca	1.7	24.3±0.7	24.9±1.9	27.2±2.1	30.0±1.8	30.8±1.9	32.4±1.2**	20
	3.5	23.9±1.0	24.5±1.7	25.5±1.8	29.7±1.7	30.2±1.2	32.1±1.8*	18
Tolbutamide	0.3	24.1±0.8	24.4±0.9	26.9±1.3	28.0±0.9	30.0±0.7	29.1±0.9	19

Drugs were administered per os (p.o.) once a day for 4 weeks to the same mice in Table III.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$: vs. control group by Student's t -test. n: The number of observation. All data are means±S.E.M..

アロキサン糖尿病マウスを用い、G.X. エキス 0.8, 1.7, 3.5 g/kg 及び Tolbutamide 0.3 g/kg を 1 日 1 回、中断せずに 4 週間連続投与し、さらに 1 週間経過をみた。血糖値は薬物投与前と投与後 1, 2, 3, 4 週目及び、投与終了 1 週後に非絶食下で測定し、その血糖下降率を蒸留水投与した対照群と比較した。その効果は投与 2 週後から観察され、投与期間が経過するに従って作用が強く発現した。特に、3.5 g/kg 投与群の効果は投与終了後 1 週間も持続したが、1.7 g/kg 投与群では 3, 4 週後に有意であった効果は、投与を終了すると消失した。0.8 g/kg 投与群に有意な作用は見られなかった。一方、Tolbutamide の作用は 4 週後に発現し、投与終了後も持続した (Table III)。

4. 長期連続投与による糖尿病マウスの体重増加作用

実験 3 と同じマウスを用い、薬物投与前と投与 1, 2, 3, 4, 5 週間後にそれぞれ体重を測定し、その増減を観察した。Table IV に示すように、G.X. の 4 週間連続投与後の残余効果として、G.X. 投与群の体重はいずれも対照群より増大した。このことは G.X. には糖尿病マウスの体重の減少を防止する効果があることを示している。しかし、Tolbutamide にはこの作用はみられなかった。

5. 長期連続投与による肝グリコーゲン量の増加作用

Table V Liver glycogen levels in alloxan-diabetic mice for 1 week after 4 week-application of Ganlu-Xiaokeca.

Groups	Dose (g/kg/day p.o.)	Glycogen (mg/100 mg liver)	n
Control	0	2.78±0.25	20
Ganlu-	0.8	3.31±0.27	17
Xiaokeca	1.7	3.69±0.26*	20
	3.5	4.09±0.35*	18
Tolbutamide	0.3	2.11±0.33	19

* $p < 0.05$: vs. control group by Student's t -test. n: The number of observation. All data are means±S.E.M.. The same mice in Table III were used.

この実験でも実験 3, 4 と同じマウスを用い、実験終了時にすべての動物を屠殺して肝臓を摘出しグリコーゲン量を測定した。G.X. を長期投与すると、肝グリコーゲン量は対照群と比べ有意に増加した (Table V)。その効果は 3.5 g/kg 投与群が最も強く、Tolbutamide 投与群には全くみられなかった。

6. 糖尿病マウスの耐糖能に対する増強作用

アロキサン糖尿病マウス 20 匹を 2 群に分け、それぞれ G.X. 3.5 g/kg 及び蒸留水を 1 日 1 回 2 週間連続して、経口投与した。最後の投与から 12 時間後にマウスを 12 時

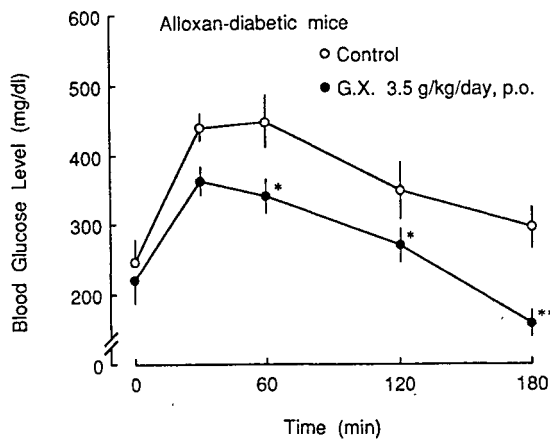


Fig. 1 Effect of Ganlu-Xiaokeca (G.X.) on the glucose tolerance in alloxan-diabetic mice. G.X. (closed) was administered to the diabetic mice at a dose of 3.5 g/kg/day (p.o.) during 2 weeks. The mice were fasted for 12 hours and injected with a glucose solution (i.p., 2 g/kg) for a glucose tolerance test.

間絶食させて眼底静脈叢より採血し、血糖値を測定した。この血糖値をコントロールとして、さらにマウスの腹腔内に Glucose 2.0 g/kg を投与し 30, 60, 120, 180 分後毎に血糖値を測定し、対照群と比較検討した。

投与群の血糖値は 60, 120, 180 分目にいずれも対照群より低く、有意差が見られた。この結果は、糖尿病マウスに G.X. を長期投与することにより、血糖上昇を抑制し、耐糖能を増強することを示している (Fig. 1)。

考 察

G.X. は糖尿病 (漢方の消渴症に相当) の患者によく見られる喉の渇き、多飲、多尿など症状の改善を目的に、古典方剤を基礎として研究開発された漢方保健用薬剤である。本研究結果により、G.X. は糖尿病マウスに対して単回及び 4 週間連続投与すると顕著な血糖下降作用を示すことが明かにされた。正常マウスに対しては単回投与しても弱い血糖下降作用しか現れないことが確認できた。

G.X. の長期連続投与によって、糖尿病マウスの体重は

対照群より増大し、糖尿病による体重の減少を抑制することが示唆できた。さらに、G.X. の長期連続投与により、糖尿病マウスの肝グリコーゲンの増加及び耐糖能の改善も明らかにできた。特に、耐糖能を改善することは血糖上昇の予防的効果も期待できることを示す。この結果により、G.X. が糖尿病マウスにおける糖代謝を改善するものと推測することができた。

以上をまとめると、G.X. は長期的に服用させることにより、糖尿病の治療だけでなく予防にも有効であると結論できる。

謝 辞

本研究の契機は、富山医科薬科大学薬学部薬品作用学研究室に留学中、木村正康教授から修得した実験方法を帰国後、応用したことにある。また、本論文を丁寧校閲された同研究室の木村郁子助教授に深く感謝致します。

References

- 1) Chen Keji: "Jisi-kousyo-ihou-sengi", Chuuka-syokyoku, Beijing, p 118, 1956.
陳可翼, "慈禧光緒医方選議", 中華書局, 北京, p 118, 1956.
- 2) Ming · Li Jisin: "Honzo-koumoku", Jinmin-eisei-syuppansya, Beijing, 1976.
明 · 李時珍, "本草綱目", 人民衛生出版社, 北京, 1976.
- 3) Chen, F., Nakasima, N., Kimura, I., Kimura, M.: Souhakuhi oyobi souyou niyoru Streptozotocin tounyoubyou mausu no, zessyoku · sessyokuji niokeru kettou kakoukouka. *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN-YAKU* 6(3), 374-375, 1989.
陳福君, 中島登, 木村郁子, 木村正康: 桑白皮及び桑葉によるストレプトゾトシン糖尿病マウスの、絶食・摂食時における血糖下降効果. 和漢医薬学会誌 6(3), 374-375, 1989.
- 4) Kimura, M., Waki, I.: "Yakuyou ninjin", Kyouritsu syuppan, Tokyo, p.170, 1981.
木村正康, 脇功己: "薬用人参", 共立出版, 東京, p.170, 1981.
- 5) Jiangsu sin igakuin: "Chuuyaku daijiten", Shanghai kagaku gijyutu syuppansya, p. 2308, 1977.
江蘇新医学院: "中藥大辞典", 上海科学技術出版社, p.2308, 1977.
- 6) Kemp, A., Kits van Heijningen, A. J. M.: A colorimetric micro-method for the determination of glycogen in tissues. *Biochem. J.* 56, 646-648, 1954.