

【药效学评价】

糖复康宁提取物对2型糖尿病大鼠的降糖作用研究

魏滋鸿¹, 李亚卓¹, 李薇¹, 武卫党¹, 曾勇¹, 高晶¹, 司端运¹, 陈俊杰², 刘鸿生², 伊秀林^{1*}

1. 天津药物研究院新药评价有限公司, 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300301

2. 天津天中医药科技有限公司, 天津 300190

摘要: **目的** 研究中药复方糖复康宁提取物对2型糖尿病模型大鼠的降血糖作用。**方法** 分别以遗传性ZDF模型大鼠和链脲佐菌素(STZ)联合高糖高脂饲料诱导的SD大鼠为此次研究的2型糖尿病模型动物, ig给予低、高剂量(5.0、10.0 g生药/kg)的糖复康宁提取物, 金芪降糖片(455 mg/kg)作为阳性药, 连续给药42 d, 每周测定空腹血糖、给药第38天测定葡萄糖耐量。**结果** ZDF模型结果显示, 模型组大鼠血糖波动幅度保持在10%以内, 显著高于对照组($P < 0.01$); 给药42 d后, 与模型组比较, 各给药组血糖均显著下降($P < 0.01$), 金芪降糖片及糖复康宁提取物低、高剂量组血糖下降率分别为(35.9±8.4)%、(22.1±11.1)%、(50.0±9.1)%; STZ模型结果显示, 模型组大鼠血糖一直维持在较高水平(21.1~21.6 mmol/L), 变化幅度相对稳定, 显著高于对照组($P < 0.01$); 给药42 d后, 与模型组比较, 各给药组血糖均下降, 其中糖复康宁提取物低、高剂量组差异显著($P < 0.01$); 金芪降糖片及糖复康宁提取物低、高剂量组血糖下降率分别为(18.6±5.7)%、(21.6±7.2)%、(51.7±20.2)%。糖复康宁提取物低、高2个剂量组血糖曲线下面积(AUC)与模型组比较均显著下降($P < 0.05, 0.01$)。**结论** 中药复方糖复康宁对2种2型糖尿病模型均发挥显著降糖效果。

关键词: 糖复康宁; 糖尿病; ZDF模型; 链脲佐菌素; 葡萄糖耐量; 降糖

中图分类号: R962.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2018)07-1215-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.07.009

Hypoglycemic effect of Tangfukangning extracts on type 2 diabetes animal model

WEI Zihong¹, LI Yazhuo¹, LI Wei¹, WU Weidang¹, ZENG Yong¹, GAO Jing¹, SI Duanyun¹, CHEN Junjie², LIU Hongsheng², YI Xiulin¹

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Co., Ltd., State Key Laboratory of Drug Release Technology and Pharmacokinetics, Tianjin 300301, China

2. Tianjin Tianzhong Pharmaceutical Science and Technology Co., Ltd., Tianjin 300190, China

Abstract: Objective To study the hypoglycemic effect of Tangfukangning (TFKN) extracts on type 2 diabetes mellitus model. **Methods** Hereditary ZDF (Zucker diabetic fatty) model rats and SD model rats fed with streptozotocin (STZ) and high-sugar/high-lipid diet were applied as the type 2 diabetes animal model for the study. Two groups of model rats were treated with TFKN extracts at low and high doses (5 and 10 g raw medicine/kg) by ig administration and Jinqi Jiangtang Tablets (455 mg/kg) used as positive control drug, continuous administration for 42 d. The hypoglycemic effects of TFKN extracts on type 2 diabetes animal model were evaluated by determination of the fasting glucose for every week, and glucose tolerance was determined at the 38th day of administration. **Results** The results of ZDF model showed that the fluctuation range of blood glucose in model group was less than 10%, which was significantly higher than that in control group ($P < 0.01$). Compared with model group, the blood glucose level of each drug group was significantly decreased after 42 days' administration ($P < 0.01$). The decreasing percentage of blood glucose in Jinqi Jiangtang Tablets and low and high doses of TFKN extracts groups were (22.1±11.1)%, (35.9±8.4)%, and (50.0±9.1)%, respectively. The results of STZ model showed that the blood glucose of model group rats remained at a high level (21.1–21.6 mmol/L), the amplitude of the change was relatively stable and significantly higher than that of the control group ($P <$

收稿日期: 2018-03-30

第一作者: 魏滋鸿(1988—), 研究实习生。E-mail: weizh@tjpr.com Tel: (022)84845243

*通信作者: 伊秀林, 研究员。E-mail: yixl@tjpr.com Tel: (022)84845242

0.01). Compared with model group, the blood glucose level of each drug group was decreased after 42 days' administration, and the difference of the low and high dose group of TFKN extracts was significant ($P < 0.01$). The decreasing percentage of blood glucose in Jinqi Jiangtang Tablets and TFKN extracts low and high doses groups were (18.6±5.7)%, (21.6±7.2)%, and (51.7±20.2)%, respectively. The area under the curve (AUC) of blood glucose in the low and high dose group of TFKN extracts was significantly lower than that in model group ($P < 0.05$ and 0.01). **Conclusion** The hypoglycemic effect of TFKN extracts is significant effective in these two type 2 diabetes animal models.

Key words: Tangfukangning; type 2 diabetes; ZDF model; streptozotocin (STZ); glucose tolerance; hypoglycemic effect

2型糖尿病是由于遗传和环境因素相互作用, 胰岛素相对或绝对缺乏以及靶组织对胰岛素敏感性降低(胰岛素抵抗)引起的碳水化合物、脂肪及蛋白质代谢紊乱的综合征, 是一种以持续高血糖为特征的慢性、全身代谢性疾病^[1]。糖尿病在古代医书记载中又称消渴病, 其发病机制是燥热伤阴, 结果是阴津亏耗^[2]。本研究的复方糖复康宁提取物是经水煎提取喷雾干燥后所得, 由多味中药组成, 性温, 处方主要包括炙鸡内金、地骨皮、黄连、玉米须、葛根、金钱草、苍术、桑叶、人参叶、栀子、山茱萸、海金沙、知母、皂荚、焦白术、桑椹等, 其成分从中药药理学角度分析具有益气生津、清热利尿、消炎解毒、内热消渴等功效。复方糖复康宁作为民间医用方剂, 其药效作用已经过多年临床验证, 长期服用具有降血糖的功效, 提示其可作为糖尿病人的治疗药物进行开发利用。为进一步考察复方糖复康宁对2型糖尿病的治疗作用, 本实验使用遗传性ZDF大鼠和链脲佐菌素(STZ)联合高糖高脂饲料诱导的SD大鼠作为此次研究的模型动物, ig给予复方糖复康宁低、高2个剂量, 观察此复方药对不同类型2型糖尿病动物的降糖效果, 为研发有效的治疗糖尿病药物提供依据。

1 材料

1.1 主要试剂

糖复康宁提取物, 批号20141201, 由天津天中医药科技有限公司提供, 其中小檗碱质量分数为2.82 g/kg, 室温干燥保存; 金芪降糖片, 批号CD87039, 天津中新药业集团股份有限公司隆顺裕制药厂生产; STZ, 批号1126C0316, Solarbio公司生产; 羧甲基纤维素钠300-800(CMC), 化学纯, 批号F20051103, 国药集团化学试剂有限公司产品; 葡萄糖, 批号20140325, 潍坊盛泰药业有限公司生产, 北京市燕京药业有限公司分装。

1.2 主要仪器

艾科血糖测试系统, 艾科精益血糖仪, 批号

3362934, 艾科生物技术(杭州)有限公司生产; 血糖试纸, 艾科精益血糖测试条, 批号201311027, 艾科生物技术(杭州)有限公司生产; 电子天平, MODEL LD1100-1R, 沈阳龙腾电子有限公司产品; 电子天平, BS124S, 北京赛多利斯仪器系统有限公司产品。

1.3 实验动物及饲养

SD大鼠, SPF级, 雄雌各半; ZDF大鼠, SPF级, 雄性, 包括ZDF对照鼠(fa/+)和ZDF模型鼠(fa/fa), 统一购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号SCXK(京)2012-0001, 实验单位使用许可证号SYXK(津)2011-0005。SD大鼠饲料由北京科澳协力饲料有限公司提供; ZDF大鼠饲料由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。饮用水为北京恒茂翔科技发展有限公司1T/h型多孔微膜过滤系统制备的纯净水。设施环境: 温度维持在20~26℃, 相对湿度维持在40%~70%, 机械送风(万级), 昼夜明暗交替。

2 方法

2.1 大鼠STZ模型的制备

选用180~200g体质量的健康SD大鼠80只, 其中10只设为对照组, 饲以正常饲料; 另外70只饲以高糖高脂饲料, 连续60d。高糖高脂饲料成分: 脂肪10%(动物油脂为主)、蔗糖15%、胆固醇2%、胆酸盐0.2%、食盐1%、麻油2%、花生5%、鸡蛋10%、基础饲料54.8%^[3]。除对照组外, 其余大鼠第61天造模, 70只大鼠过夜禁食后1次性ip STZ溶液50 mg/kg。造模3d后, 尾静脉采血测定每只大鼠的空腹血糖值, 血糖≤15 mmol/L的大鼠, 再以25 mg/kg的剂量进行第2次补注STZ。

2.2 分组给药

STZ模型大鼠: 注射STZ造模后, 将模型大鼠过夜禁食, 连续2次尾尖部静脉针刺取血测定空腹血糖值, 取2次血糖平均值在15.0~30.0 mmol/L

范围内的大鼠 40 只。

ZDF 模型大鼠：将模型大鼠过夜禁食，连续 2 次尾尖部静脉针刺取血测定空腹血糖值，取 2 次血糖平均值在 15.0~30.0 mmol/L 范围内的 ZDF 大鼠 40 只。ZDF 对照鼠 (fa/+) 10 只作为对照组。

两种模型大鼠均按血糖随机分为 4 组，模型组、金芪降糖片 (455 mg/kg) 组和糖复康宁提取物低、高剂量 (5.0、10.0 g 生药/kg) 组，每组 10 只。每天 ig 给药 1 次，模型组和对照组 ig 等体积的 0.5% CMC，连续 42 d。

2.3 指标测定及方法

2.3.1 空腹血糖测定 给药期间每周 1 次大鼠尾尖部静脉针刺取血，用血糖仪测定 5 组动物的空腹血糖值 (测定前动物过夜禁食)。

2.3.2 糖耐量测定 大鼠连续给药第 38 天，过夜禁食后尾尖部静脉针刺取血测定大鼠 (0 h) 血糖后 ig 给药，给药后 0.5 h 按照 2 g/kg 剂量分别 ig 葡萄糖溶液，并于给药后 0.5、1.0、2.0、3.0 h 尾尖部静脉针刺取血测定大鼠血糖，观察血糖变化，计算血糖曲线下面积 (AUC) [4]。

2.3.3 计算公式及统计方法

血糖下降率 = 给药前后血糖差值 / 给药前血糖

$AUC (h \cdot mmol/L) = 1/2[(0 h \text{ 血糖值} + 0.5 h \text{ 血糖值}) \times 0.5 + (0.5 h \text{ 血糖值} + 1 h \text{ 血糖值}) \times 0.5 + (1 h \text{ 血糖值} + 2 h \text{ 血糖值}) \times 1 + (2 h \text{ 血糖值} + 3 h \text{ 血糖值}) \times 1]$

2.4 统计学分析

数据采用 SPSS 17.0 进行统计学处理，结果以

$\bar{x} \pm s$ 表示，组间差异用 *t* 检验法进行统计学分析。

3 结果

3.1 空腹血糖统计

ZDF 模型结果显示，模型组大鼠血糖值波动幅度保持在 10% 以内；与模型组比较，各给药组均显示出一定的降糖效果，见图 1。给药前，与对照组比较，ZDF 模型大鼠血糖均显著升高 ($P < 0.01$)；给药后第 42 天，模型组血糖显著高于对照组 ($P < 0.01$)；与模型组比较，各给药组血糖均显著下降 ($P < 0.01$)，金芪降糖片组血糖下降 (35.9 ± 8.4)%；糖复康宁提取物低、高剂量组血糖下降分别为 (22.1 ± 11.1)%、(50.0 ± 9.1)%，见表 1。

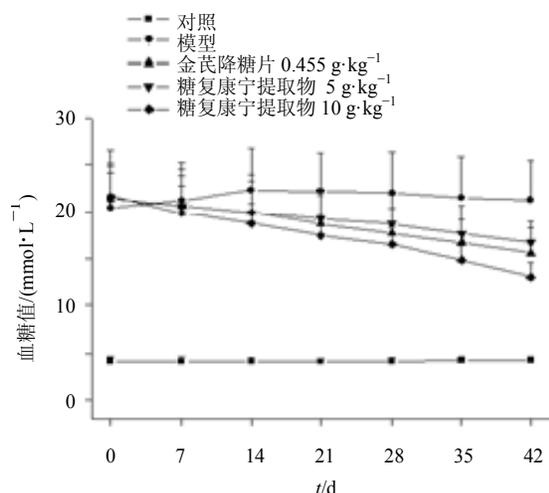


图 1 ZDF 模型大鼠给药 42 d 期间血糖 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Fig. 1 Blood glucose of ZDF model rats during 42 days' administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

表 1 ZDF 模型大鼠给药前后血糖变化 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Changes of blood glucose of ZDF model rats before and after administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	血糖值/(mmol·L ⁻¹)		血糖下降率/%
		给药前	给药 42 d	
对照	—	4.2±0.4	4.1±0.4	3.1±8.8
模型	—	20.4±3.7 ^{##}	21.4±4.1 ^{##}	— (4.8±20.2)
金芪降糖片	0.455	21.2±3.7 ^{##}	13.6±1.8 ^{##}	35.9±8.4
糖复康宁提取物	5.0	21.4±3.4 ^{##}	16.7±2.4 ^{##**}	22.1±11.1
	10.0	21.7±3.4 ^{##}	10.9±2.0 ^{##**△}	50.0±9.1

与对照组比较：^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较：^{**} $P < 0.01$ ；与金芪降糖片组比较：[△] $P < 0.05$

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group; [△] $P < Jinqi Jiangtang Tablets group$

STZ 模型结果显示，使用 STZ 诱导的模型组大鼠血糖一直维持在较高水平 (21.1~21.6 mmol/L)，变化幅度相对稳定，说明化学制剂诱导同时饲喂高糖高脂饲料造模成功；与模型组比较，各给药组均显示出一定的降糖效果，见图 1。给药前，与对照

组比较，STZ 模型大鼠血糖均显著升高 ($P < 0.01$)；给药后第 42 天，模型组血糖显著高于对照组 ($P < 0.01$)；与模型组比较，各给药组血糖均下降，其中糖复康宁提取物低、高剂量组差异显著 ($P < 0.01$)；金芪降糖片组血糖下降率为 (18.6 ± 5.7)%；糖复

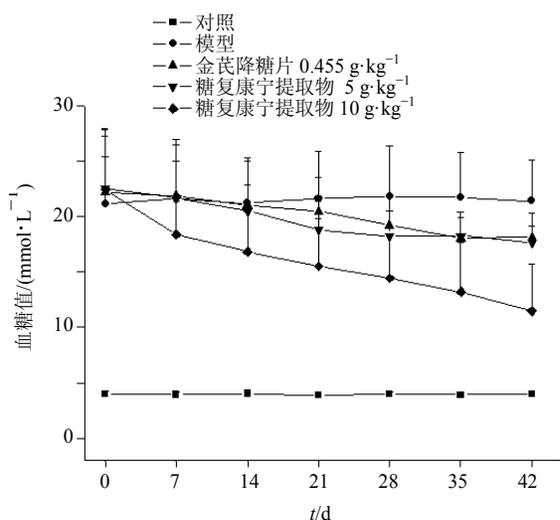


图 2 STZ 模型大鼠给药 42 d 期间血糖 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 2 Blood glucose of STZ model rats during 42 days' administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

表 2 STZ 模型大鼠给药 42 d 期间血糖变化 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Blood glucose of STZ model rats during 42 days' administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	血糖值/(mmol·L ⁻¹)		血糖下降率/%
		给药前	给药 42 d	
对照	—	4.0±0.3	4.0±0.2	-0.2±5.2
模型	—	21.1±4.3 ^{##}	21.6±4.0 ^{##}	-2.2±18.8
金芪降糖片	0.455	22.2±5.0 ^{##}	18.1±1.3 ^{##}	18.6±5.7
糖复康宁	5.0	22.5±5.3 ^{##}	17.6±1.6 ^{##*}	21.6±7.2
	10.0	22.4±5.5 ^{##}	11.8±4.5 ^{##**△△}	51.7±20.2

与对照组比较: ^{##}*P*<0.01; 与模型组比较: ^{**}*P*<0.01; 与金芪降糖片组比较: [△]*P*<0.05

^{##}*P*<0.01 vs control group; ^{**}*P*<0.01 vs model group; [△]*P*<Jinqi Jiangtang Tablets group

表 3 2 种模型大鼠糖耐量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Determination of glucose tolerance of rats in two models ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	AUC/(h·mmol·L ⁻¹)	
		ZDF 模型	STZ 模型
对照	—	14.5±0.9	14.5±0.6
模型	—	81.3±6.9 ^{##}	75.2±7.8 ^{##}
金芪降糖片	0.455	81.4±4.7 ^{##}	66.7±7.4 ^{##*}
糖复康宁提取物	5.0	67.4±7.1 ^{##**△△}	66.8±7.6 ^{##*}
	10.0	63.9±4.6 ^{##**△△}	66.9±5.2 ^{##*}

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

与金芪降糖片组比较: [△]*P*<0.05

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

[△]*P*<Jinqi Jiangtang Tablets group

从天然产物中发现治疗糖尿病的药物受到了更多的关注, 部分中药成分明确, 有较好的降糖效果, 毒

康宁提取物低、高剂量组均优于金芪降糖片组, 血糖下降率分别为 (21.6±7.2)% 和 (51.7±20.2)%。

3.2 糖耐量测定

给药 6 周后, 与对照组比较, ZDF 和 STZ 模型大鼠 AUC 均显著升高 (*P*<0.01); 在 ZDF 模型中, 糖复康宁提取物 2 个剂量组 AUC 与模型组、阳性对照金芪降糖片组比较均显著下降 (*P*<0.01); 在 STZ 模型中, 糖复康宁提取物低、高 2 个剂量组与模型组比较均显著下降 (*P*<0.01)。见表 3。

4 讨论

随着我国人民生活水平的提高, 糖尿病的发病率呈现迅速上升趋势, 其中 2 型糖尿病是主体, 占糖尿病发病率的 90% 以上^[5]。因此研究与开发对 2 型糖尿病安全有效的药物已经成为国内外研究的重点^[6]。临床常用的口服降糖西药, 具有一定的毒副作用且医疗费用昂贵; 而中药作用相对温和, 因此

副作用小, 更易于被患者接受, 具有广阔的市场前景^[7-8]。

建立理想的 2 型糖尿病模型对于研究其病因、发病机制、临床治疗及预防至关重要。到目前为止, 建立糖尿病动物模型的方法大致分为以下几种: 转基因型、自发型、饮食联合化学药物诱发型及外科手术所致^[9]。选择合适的糖尿病动物模型在糖尿病的发病机制研究及其并发症的治疗、药物的开发过程中都发挥着极其重要的作用^[10]。在动物种属上, 大鼠有其独特的优势, 生命周期短, 环境条件及遗传因素容易控制, 而且来源广泛, 是比较理想的实验动物模型^[11]。本研究应用的 ZDF 大鼠是目前应用于人类 2 型糖尿病研究的动物模型之一, 是 Richard Peterson 于 1985 年建立的近交系 ZDF 大鼠品系^[12]。Zuker 大鼠出生 5 周后逐渐出现糖尿病, 是受到常

染色体隐性遗传基因影响造成的^[13]。研究表明,雄性 ZDF 大鼠随着年龄增长会表现出与人类 2 型糖尿病相类似的临床特征^[14]。本研究中的另一模型为高糖高脂饲料联合 STZ 注射诱导的 2 型糖尿病动物模型,此模型病理、生理改变都接近于人类 2 型糖尿病,因此是适合用于评价研究的较为理想的 2 型糖尿病动物模型。本实验高糖高脂饲料配方,系查有关文献进行比较并经过预实验而做出选择^[15]。目前多数研究认为在 2 型糖尿病的发生发展过程中会产生胰岛素抵抗,胰岛素抵抗是糖耐量低减的最危险因素,提示胰岛素抵抗是 2 型糖尿病的始动因素^[16]。本模型把改变饲料配方与药物干预结合,此时胰岛组织损害程度轻,胰岛素仅表现为相对缺乏,符合 2 型糖尿病病人的发病过程。

持续高血糖是 2 型糖尿病发病过程中的主要表现,本实验研究了糖复康宁提取物对 2 种 2 型糖尿病大鼠模型的药理作用。研究结果显示,糖复康宁提取物 5.0、10.0 g 生药/kg 2 个剂量均有助于改善 2 种 2 型糖尿病模型大鼠的空腹血糖值,且呈明显的量效关系,高剂量在连续给药 42 d 后,可使 2 型糖尿病模型大鼠空腹血糖维持在 10.0~12.0 mmol/L 之间,与模型组比较差异显著。葡萄糖耐量是糖尿病最早期的临床特点之一,有效的改善糖尿病人对糖的耐受,有效控制餐后血糖,是治疗糖尿病及其并发症的重要指标。本研究葡萄糖耐量结果显示,糖复康宁提取物能够有效地提高机体对糖的耐受能力,在 2 种 2 型糖尿病大鼠葡萄糖负荷后的数小时内有效地控制血糖水平,在 ZDF 模型中,效果显著强于与阳性药。表明糖复康宁提取物加速糖的代谢和利用,提高机体对糖的耐受能力,对于改善餐后高血糖具有一定的意义。

复方糖复康宁提取物可以有效的改善遗传自发型和高糖高脂饲料联合化学制剂诱导的 2 型糖尿病模型大鼠的空腹血糖、葡萄糖耐量,为复方糖复康宁提取物的进一步开发利用提供了相应的研究基础。由于复方中药的作用机制比较复杂,有待更深的研究。

参考文献

- [1] 安丽萍,王英平,刘晓梅,等. 五味子油对链脲佐菌素诱导的 2 型糖尿病大鼠的影响 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 552-556.
- [2] 武燕,袁红,田环环,等. 链脲佐菌素诱导 2 型糖尿病大鼠模型的探索 [J]. 中医学报, 2014, 29(1): 25-27.
- [3] 孙海峰,常虹,杨婷,等. 翻白草总黄酮降血糖作用的药效学研究 [J]. 中医药信息, 2010, 27(3): 20-24.
- [4] 李燕,陈素红,吉星,等. 白术多糖对自发性 2 型糖尿病小鼠血糖及相关指标的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(10): 162-165.
- [5] 燕娟,郭巍伟,梁执群,等. 2 型糖尿病大鼠模型的建立及其验证 [J]. 临床和实验医学杂志, 2009, 8(4): 5-6.
- [6] 赵保胜,董淑云,霍海如,等. 2 型糖尿病动物模型的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(5): 62-66.
- [7] 饶子亮,赵士海,刘盛来,等. 2 型糖尿病伴随高脂血症大鼠模型的建立及二甲双胍的干预 [J]. 实验动物科学, 2009, 26(1): 15-18.
- [8] 岳佳音,苏光悦,赵余庆. 作用于 2 型糖尿病新靶点的天然产物研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(21): 3272-3278.
- [9] 罗雄,凌湘力. 2 型糖尿病动物模型研究及其进展 [C]. 贵州省中西医结合学会内分泌代谢学术会议, 2006.
- [10] 王春田,王莉,石岩. 2 型糖尿病动物模型制备方法探讨 [J]. 实用中医内科杂志, 2011, 25(4): 27-30.
- [11] 王桂红,吴勇,谭永霞. 消渴胶囊对 2 型糖尿病模型大鼠血糖和血脂的作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(17): 171-174.
- [12] Ali D, Kunzel C. Diabetes mellitus: update and relevance for dentistry [J]. Dentistry Today, 2011, 30(12): 45.
- [13] Zucker L M, Zucker T F. Fatty, a new mutation in the rat [J]. Heredity, 1961, 52(6): 275-278.
- [14] 陈文培. 丹红化瘀口服液联合二甲双胍对 ZDF 大鼠 DR 的作用及机制研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2016.
- [15] 金智生,潘宇清. 金匮肾气丸对实验性 2 型糖尿病胰岛素抵抗大鼠血清 TNF- α 、Leptin 的影响 [J]. 现代中医药, 2008, 28(3): 66-68.
- [16] 李桂云,吴正治. STZ 建立 2 型糖尿病大鼠模型的剂量探讨 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2007, 17(2): 74-77.