

## 三清降糖方对实验性 2 型糖尿病大鼠血糖和血脂的影响

吴范武, 王雪, 李继安\*, 刘志霞, 赵翠

(河北联合大学中医学院, 河北 唐山 063000)

**[摘要]** **目的:**研究三清降糖方对 2 型糖尿病大鼠血糖和血脂的影响。**方法:**雄性 Wistar 大鼠 82 只, 随机选出 10 只做为正常对照组(C 组), 其余 72 只大鼠高糖高脂饮食喂养 4 周后, 以小剂量链脲佐菌素 2 次 ip 的方法诱发大鼠 2 型糖尿病模型, 以空腹血糖为依据, 采用区组随机的方法, 分为三清高、中、低剂量组(SG, SZ, SD 组)、模型对照组(M 组)、阿卡波糖组(A 组)、罗格列酮组(L 组)6 组, 三清高、中、低剂量组按 8.05, 4.03, 1.61 g·kg<sup>-1</sup>分别 ig 三清降糖方水提物, M 组 ig 生理盐水, A 组、L 组分别 ig 等效剂量的阿卡波糖和罗格列酮, 共 4 周, 分别在 ig 前、ig 后 2 周、4 周测空腹血糖及餐后 2 h 血糖, ig 4 周后主动脉采血测血脂、肝肾功能, 观察比较各组间血糖血脂的变化。**结果:**①ig 4 周后, SD 组空腹血糖水平为(5.0 ± 3.2) mmol·L<sup>-1</sup>与 M 组可见统计学显著差异( $P < 0.05$ ); ②ig 4 周后, SD 组餐后 2 h 血糖水平为(9.8 ± 3.3) mmol·L<sup>-1</sup>与 SG, M, A, L 组可见统计学显著差异( $P < 0.05$ ); ③ig 后 4 周, 各组间高密度脂蛋白(HDL-c), 低密度脂蛋白(LDL-c), 丙氨酸转氨酶(ALT), 天冬氨酸转氨酶(AST), 肌酐(Cr)水平未见统计学显著差异, SZ 组、SD 组、M 组总胆固醇(CHO)甘油三酯(TG)水平低于 C 组, 有统计学显著差异( $P < 0.05$ ), 但与模型组比较无统计学意义。C 组与其他组的血尿素氮(BUN)水平比较可见统计学显著差异( $P < 0.05$ ), 但各给药组与模型组比无显著差异。**结论:**三清降糖复方低剂量应用有较好的降低空腹血糖和餐后 2 h 血糖效果。

**[关键词]** 三清降糖方; 2 型糖尿病; 动物模型

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0164-04

## Effects of Three-clearing Hypoglycemic Formula on Blood Glucose and Blood Lipid in Experimental Rats with Type 2 Diabetes

WU Fan-wu, WANG Xue, LI Ji-an\*, LIU Zhi-xia, ZHAO Cui

(College of Traditional Chinese Medicine, Hebei United University, Tangshan 063000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of the Three-clearing Hypoglycemic Formula (Sanqing Jiangtang Fang) on the blood glucose and blood lipids in type 2 diabetic rats. **Method:** Ten rats were selected randomly from 82 male Wistar rats to form the normal group (group C). With high fat forage diet of four weeks, the rest 72 rats were injected of small dose of streptozotocin (STZ) intraperitoneally twice to establish rats model with type 2 diabetes. Based on fasting blood sugar levels, the model rats were randomly divided into group treated with high dose of Three-clearing Hypoglycemic Formula (group SG), group treated with middle dose of Three-clearing Hypoglycemic Formula (group SZ), group treated with low dose of Three-clearing Hypoglycemic Formula (group SD), model control group (group M), group treated with acarbose (group A) and group treated with rosiglitazone (group L). Group SG, group SZ and group SD were administrated with water extracts of Three-clearing Hypoglycemic Formula respectively. Group M was administrated with normal saline. Group A was administrated with acarbose. Compared with group A, group L was administrated with equivalent dosage of rosiglitazone. The

**[收稿日期]** 20101030(003)

**[基金项目]** 科技部 2008 年度国际科技合作项目(2008DFA31050)

**[第一作者]** 吴范武, 硕士, 副教授, 从事中医药治疗代谢性疾病研究, Tel: 0315-3726334, E-mail: w\_f\_w@sina.com

**[通讯作者]** \*李继安, 医学博士, 教授, 硕士研究生导师, 从事中医药治疗代谢性疾病研究, Tel: 0315-3726292, E-mail: lnyy@vip.sina.com

sugar tolerances were measured 2 weeks and 4 weeks before and after treatment respectively. Four weeks after treatment, blood was obtained from aorta of rats. blood lipid and hepatic/renal function were tested for further comparisons. **Result:** ① Four weeks after medicine treatment, there was significant difference between group SD and group M regarding fasting blood glucose levels ( $P=0.011$ ); ② Four weeks after medicine treatment, there was significant difference in SD group regarding 2 hours-postprandial glucose levels, compared with group SG, group M, group A and group L ( $P<0.05$ ); ③ Four weeks after medicine treatment, there were no significant difference between each group regarding HDL-c, LDL-c, ALT, AST and cretine levels. Comparing group SZ, group SD, group M and group C, there was significant statistics regarding CHO level ( $P<0.05$ ). Comparing group SZ, group SD, group A and group C, there was significant difference regarding TG level ( $P<0.05$ ). Comparing group C with other groups, there was significant difference regarding BUN level ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Low dose of Three-clearing Hypoglycemic Formula has better hypoglycemic effect regarding fasting blood glucose and 2 hours-postprandial glucose.

[**Key words**] Three-clearing Hypoglycemic Formula (Sanqing Jiangtang Fang); type 2 diabetes; animal model

随着人们生活水平的提高和社会人口老龄化的发展,近年来糖尿病(DM)的发病率呈快速上升的趋势,据国际糖尿病联盟统计,2007年全球糖尿病患者约为2.46亿人,预计到2025年将上升到3.80亿<sup>[1]</sup>。目前,我国糖尿病患病人数近4000万,仅次于印度,成为DM第二大国。其中2型糖尿病(T2DM)约占95%<sup>[2]</sup>。在糖尿病的药物治疗中,中药因其为多组分的天然药物,具有多渠道、多途径的降糖效应,且长期服用副作用较小,与西药相比有着不可替代的特点。因此研发疗效确切的治疗糖尿病中药,是目前国内新药开发的重点内容。我们根据糖尿病的中医辨治规律,结合现代中药药理学研究的最新进展,组成了治疗糖尿病的一系列方剂,本文观察了三清降糖方对糖尿病大鼠血糖、血脂的影响。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF级Wistar雄性大鼠82只,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,许可证SLXK(京)2009-0004,饲养于华北煤炭医学院10000级屏障环境动物实验室,使用证明MY10DXK07,室温20℃,相对湿度45%,光暗周期(12h/12h)。

**1.2 药物** 三清降糖方由黄芩、黄连、知母等7味中药组成,购于北京同仁堂唐山连锁药店有限公司,经河北联合大学药系韩刚教授鉴定为正品。按5:5:5:5:5:3:3的比例混合共5580g,加8倍量水煎煮2h,共2次,将药液合溶,加热浓缩,得药膏2694.58g(收膏率:48.29%),密封后置于冰箱内冷藏备用,临用时加入纯净水配成不同浓度的混悬

液灌胃。阿卡波糖,拜耳医药保健有限公司生产(批号117954,)、罗格列酮,葛兰素史克(天津)有限公司生产(批号09050012)。

**1.3 试剂** 链脲佐菌素(STZ),美国Sigma公司,批号B56981;柠檬酸三钠,北京市博爱科贸有限责任公司;柠檬酸,北京市博爱科贸有限责任公司。柠檬酸三钠-柠檬酸缓冲液组成如下:A柠檬酸三钠母液( $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ );B柠檬酸母液( $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ );C工作液,为A和B按1:1.32的体积比配制的混合液;链脲佐菌素溶液的配制:将链脲佐菌素(STZ)溶于工作液C中,终浓度: $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (冰浴条件下,临用前配制,5min内注射完毕);于中生北控生物科技股份有限公司购入下列试剂盒,胆固醇(CHO)(批号090901)、甘油三酯(TG)(批号093471)、低密度脂蛋白(LDL-c)(批号090204)、高密度脂蛋白(HDL-c)(批号090182)、谷丙转氨酶(ALT)(批号091241)、谷草转氨酶(AST)(批号091241)、尿素氮(BUN)(批号090621)、肌酐(Cr)(批号091541);血糖试纸购自韩国糖博士公司(GlucoDr.),批号S09C19202。

**1.4 仪器** 血糖仪AGM-2300, Microlab300半自动生化分析仪, Vital Scientific N.V。

## 2 方法

**2.1 大鼠2型糖尿病模型制备与分组** 所有动物适应性喂养1周后,于82只大鼠中随机抽取10只为正常对照组(C组),实验过程中始终给予普通饲料喂养。其余72只大鼠给予高脂饲料(脂肪41%,

蛋白 17%, 碳水化合物 42%, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司) 喂养 4 周后, 予 STZ 溶液 40 mg·kg<sup>-1</sup> ip, 正常组予同剂量的缓冲液 ip。隔日再次予 STZ 溶液 30 mg·kg<sup>-1</sup> ip, 每次注射 STZ 前禁食水 12 h, 继续喂以高脂饲料, 第 2 次注射后 1 周, 所有动物测空腹血糖。除正常对照组外的 72 只大鼠空腹血糖为 (17.43 ± 5.24) mmol·L<sup>-1</sup>, 以空腹血糖 ≥ 11.1 mmol·L<sup>-1</sup> 为成模标准, 选择 60 只造模成功大鼠, 以空腹血糖值为依据, 采用区组随机的方法分为: 三清高、中、低剂量组 (SG, SZ, SD 组)、阿卡波糖组 (A 组)、罗格列酮组 (L 组)、模型对照组 (M 组) 6 组, 每组 10 只。各组间空腹血糖值经方差分析未见统计学显著差异, 具有齐同可比性。

分组后, 各组分别 ig 相应的药物, 大鼠与人之间药物剂量的换算按照文献所载公式计算<sup>[3]</sup>。三清降糖方高、中、低剂量组按 7.5 mL·kg<sup>-1</sup> ig 三清降糖方混悬液, 剂量分别为 8.05, 4.03, 1.61 g·kg<sup>-1</sup>, 相当于人用药量的 10, 5, 2 倍; A 组 ig 10.79 mg·g<sup>-1</sup> 阿卡波糖混悬液, L 组 ig 0.29 mg·g<sup>-1</sup> 的罗格列酮混悬液, 模型对照组及正常对照组按 7.5 g·kg<sup>-1</sup> ig 纯净水。共给药 4 周。

**2.2 检测指标** ①于给药前及给药后 2, 4 周检测空腹及餐后 2 h 血糖。②于给药后第 4 周, ip 10% 水合氯醛麻醉动物, 腹主动脉取血, 测血清 TC, TG, LDL-c, HDL-c, ALT, AST, BUN, Cr 水平。

**2.3 统计学处理** 测定数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 应用 SPSS 13.0 软件进行分析, 多组间比较采用成组设计方差分析, 两两比较采用 LSD 法。P < 0.05 有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 一般情况** 正常对照组大鼠实验过程中情况良好, 毛色光滑, 大便正常; 糖尿病大鼠出现明显多饮多尿现象。实验第 1~2 周, SG 组死亡 3 只, SZ 组死亡 2 只, SD 组死亡 1 只, M 组死亡 1 只, L 组死亡 1 只, 死亡原因为灌胃操作不当引起的即时死亡; 实验第 3~4 周 SZ 组死亡 2 只, SD 组死亡 1 只, M 组死亡 4 只, A 组死亡 2 只, L 组死亡 1 只, 死亡动物大体解剖观察, 模型组死亡动物有 1 只出现脓尾、1 只出现烂眼、1 只出现肠胀气, SZ 组 1 只出现肠胀气, 其他死亡动物未见明显异常。实验第 4 周腹主动脉取血时, 因麻醉过量动物死亡或操作不当共有 4 只动物未采集到标本, 包括: SD 组 1 只、A 组 2 只、M

组 1 只。

**3.2 三清降糖方对模型大鼠空腹血糖的影响** ig 前与 ig 后 2 周, 正常组与其他各组间比较可见统计学显著差异, 正常组外的其他各组空腹血糖未见统计学显著差异, ig 后 4 周, 各组间空腹血糖可见统计学显著差异 (P < 0.05), 不包括正常组的两两比较显示, SD 组与 M 组, A 组与 SZ, SD, L 组可见统计学显著差异 (P < 0.05)。见表 1。

表 1 三清降糖方对模型大鼠空腹血糖的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	血糖 mmol·L <sup>-1</sup>		
		ig 前	ig 后 2 周	ig 后 4 周
正常	-	4.0 ± 0.6	4.0 ± 0.3	3.8 ± 0.3
模型	-	17.2 ± 2.3	12.6 ± 7.2	13.2 ± 6.6
三清降糖方	8.05	18.3 ± 1.8	14.0 ± 4.2	11.6 ± 8.0
	4.03	17.3 ± 2.5	11.6 ± 9.4	9.3 ± 6.2 <sup>2)</sup>
	1.61	17.6 ± 2.6	13.4 ± 7.2	5.0 ± 3.2 <sup>1,3)</sup>
阿卡波糖	10.79 × 10 <sup>-3</sup>	17.1 ± 2.4	15.8 ± 4.7	16.7 ± 9.0
罗格列酮	0.29 × 10 <sup>-3</sup>	18.1 ± 3.3	14.5 ± 6.0	6.3 ± 4.3 <sup>3)</sup>

注: 与模型组比较<sup>1)</sup> P < 0.01; 与阿卡波糖组比较<sup>2)</sup> P < 0.05, <sup>3)</sup> P < 0.01; 与罗格列酮组比较<sup>4)</sup> P < 0.05 (表 2 同)。

**3.3 三清降糖方对模型大鼠餐后 2 h 血糖的影响** ig 前与 ig 后 2 周, 正常组与其他各组间比较可见统计学显著差异, 正常组外的其他各组餐后 2 h 血糖未见统计学显著差异, ig 后 4 周, 各组间餐后 2 h 血糖可见统计学显著差异 (P = 0.014), 不包括正常组的两两比较显示, SD 组与 SG, M, A, L 组可见统计学显著差异 (P < 0.05)。见表 2。

表 2 三清降糖方对模型大鼠餐后 2 h 血糖的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	血糖 mmol·L <sup>-1</sup>		
		ig 前	ig 后 2 周	ig 后 4 周
正常	-	6.7 ± 2.7	5.8 ± 0.8	5.8 ± 0.6
模型	-	21.1 ± 6.7	19.4 ± 5.0	20.6 ± 6.7
三清降糖方	8.05	22.2 ± 7.3	24.6 ± 6.3	16.6 ± 5.0
	4.03	20.9 ± 6.4	21.4 ± 8.9	15.4 ± 6.4
	1.61	20.9 ± 6.7	20.6 ± 7.0	9.8 ± 3.3 <sup>1,2,3)</sup>
阿卡波糖	10.79 × 10 <sup>-3</sup>	20.5 ± 6.3	21.7 ± 1.7	19.8 ± 7.8
罗格列酮	0.29 × 10 <sup>-3</sup>	21.6 ± 7.3	20.2 ± 7.4	15.6 ± 4.3

**3.4 三清降糖方对模型大鼠血脂及肝、肾功能的影响** ig 后 4 周, 各组间 HDL-c, LDL-c, ALT, AST, Cr

水平未见统计学显著差异, SZ组、SD组、M组与C组CHO水平比较可见统计学显著差异( $P < 0.05$ ), SZ组、SD组、A组与C组TG水平比较可见统计学显著差异( $P < 0.05$ ), C组与其他组的BUN水平比较可见统计学显著差异( $P < 0.01$ )。见表3。

表3 三清降糖方对模型大鼠CHO, TG, BUN的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$		
		CHO	TG	BUN
正常	-	$1.4 \pm 0.6$	$0.8 \pm 0.2$	$5.3 \pm 2.4$
模型	-	$0.8 \pm 0.5^{1)}$	$0.5 \pm 0.1$	$19.5 \pm 7.6^{2)}$
三清降糖方	8.05	$1.1 \pm 0.3$	$0.6 \pm 0.3$	$14.1 \pm 9.1^{2)}$
	4.03	$0.8 \pm 0.2^{1)}$	$0.5 \pm 0.1^{1)}$	$15.1 \pm 3.5^{2)}$
	1.61	$0.8 \pm 0.3^{1)}$	$0.4 \pm 0.1^{1)}$	$19.3 \pm 7.6^{2)}$
阿卡波糖	$10.79 \times 10^{-3}$	$1.0 \pm 0.2$	$0.5 \pm 0.2^{1)}$	$17.6 \pm 6.5^{2)}$
罗格列酮	$0.29 \times 10^{-3}$	$1.0 \pm 0.3$	$0.6 \pm 0.3$	$18.7 \pm 6.1^{2)}$

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ , <sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

#### 4 讨论

糖尿病属中医学“消渴”范畴。传统理论认为消渴的中医病机是“阴虚为本,燥热为标”,治疗以益气养阴为大法;近年来的临床研究表明,热毒在糖尿病的发病机制中占有重要地位,有学者提出“糖尿病从毒论治”的观点<sup>[4,5]</sup>。实际上,实际上早在唐代的名医孙思邈就创立了黄连丸、猪肚丸治疗消渴,尤其是黄连这味苦寒药,为历代治疗消渴病的医家所推崇。后世医家陈士铎认为“消渴非火不成”,重用熟地、山萸肉、麦冬养阴,反对用桂附辛热之品。我们在临床实践中发现确有部分糖尿病及糖尿病酮症酸中毒患者表现为明显的热象,并且以虚实夹杂的证候常见,据此按照中医的辨证组方原则拟定三清降糖复方,意在肺、胃、肾同治,实热与虚热并清,经临床试用取得了较好的疗效。

本次实验结果显示, ig后4周,三清低剂量组空腹血糖水平与模型组,阿卡波糖组比较可见统计学显著差异( $P < 0.05$ ),其餐后2h血糖水平与三清高剂量组、模型组、阿卡波糖组、罗格列酮组比较可见统计学显著差异( $P < 0.05$ ),表明三清降糖复方低

剂量应用具有较好的降低模型大鼠空腹血糖和餐后2h血糖的作用,其降餐后2h血糖的作用甚至优于阿卡波糖和罗格列酮。表3结果显示三清低剂量组与三清中剂量组血清CHO与TG水平与正常组比较有下降趋势,但因模型组也显示出与正常组的差异,因此三清降糖复方的降脂作用尚不能肯定。模型组因死亡动物过多(60%),其血脂水平偏低的原因尚不能合理解释。表3结果还显示,所有造模动物与正常组比较均出现了血清BUN升高,表明造模动物出现了肾功能损害,但ig4周后,造模各组间BUN水平未见显著差异,中药与西药组都未显示出对糖尿病肾损害的保护作用,可能与模型组例数过少,检验效能下降有关。

总之,本实验研究表明,低剂量的三清降糖复方对链脲佐菌素诱发的大鼠2型糖尿病模型有较好的降低空腹血糖和餐后2h血糖效果。今后进一步的研究方向,一是做临床对照研究明确三清降糖复方的临床效果,二是进一步研究三清降糖复方的作用机制。

#### [参考文献]

- [1] People's Daily Online. China has annual increase of 1.2 million diabetes patients [EB/OL]. [http://English.peopledaily.com.cn/200011/14/eng\\_200011-/14-55-162.html](http://English.peopledaily.com.cn/200011/14/eng_200011-/14-55-162.html), 2008-02-29.
- [2] Betteridge D J. The inter play off cardiovascular risk factors in the metabolic syndorme and type 2 diabetes [J]. Eur Heart J Suppl, 2004, 6 (suppl. 7): G3.
- [3] 孙敬方. 动物实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005: 357.
- [4] 张永忠, 匡黎明, 周杰, 等. 清热解毒法治疗2型糖尿病30例[J]. 光明中医, 2008, 23(5): 632.
- [5] 冯兴中. 解毒法在糖尿病治疗中的意义[J]. 山东中医药大学学报, 2010, 34(1): 23.

[责任编辑 聂淑琴]